

ABB. 1 Blütenepidermis von *Viola tricolor*. Die roten Farbstoffe, die Anthocyane, sind exklusiv in den Vakuolen lokalisiert. Die Papillenstruktur der Oberfläche verleiht der Farbe durch die verstärkte Lichtstreuung den „samtigen“ Effekt.

Die Zentralvakuole übernimmt in der pflanzlichen Zelle zahlreiche Funktionen. Insbesondere leistet sie Zwischenspeicherung und Endlagerung pflanzeigener wie -fremder Stoffe. Die vakuoläre Begrenzungsmembran, der Tonoplast, ist mit Transportproteinen (Carriern) ausgestattet. Sie bewerkstelligen eine effiziente Beladung der Vakuole und können sich oftmals den Außenbedingungen der Pflanze anpassen.

Die Vakuole

Recycling und Entsorgung in der Pflanzenzelle

GUDRUN HOFFMANN-THOMA

Die Zentralvakuole ist strukturell wie auch funktionell ein Hauptcharakteristikum fast aller Zellen höherer Pflanzen. In einer ausgereiften Zelle kann sie über 90 Prozent des Volumens einnehmen, sodass das Cytoplasma mit den eigentlichen Stoffwechselkompartimenten auf einen dünnen Zellwandbelag reduziert ist. Der Aufbau und die Aufrechterhaltung der Vakuole als intrazelluläres Wasser- und Stoffreservoir ist energie- und materialaufwendig – ein Hinweis auf ihre elementare Bedeutung für das Überleben von Zelle und Gesamtorganismus. Die biochemischen Fähigkeiten der Vakuole bilden die Grundlage für den Einsatz vieler Pflanzen zu ökologischen wie ökonomischen Zwecken. Dieser Beitrag beleuchtet die zahlreichen Funktionen der pflanzlichen Vakuole und die ihnen zugrunde-

liegenden Vorgänge der Beladung mit einer Vielzahl chemischer Verbindungen. Im Vordergrund stehen die Aufnahme- und Abgabevorgänge, die zu einer Nettostoffeinlagerung führen.

Strukturgebung für die gesamte Pflanze

Die pflanzliche Vakuole ist in der Lage, eine Vielzahl an Substanzen aufzunehmen. Da diese Stoffe zu einem großen Teil gelöst und osmotisch aktiv sind, fließt zwangsläufig Wasser nach. Das Volumen der Vakuole und damit auch der Gesamtzelle vergrößert sich. Die reine Volumenausdehnung der Zellen stellt – im Vergleich zum Wachstum über Zellteilung und -vermehrung – eine effiziente und kostengünstige Form pflanzlichen Wachstums dar. Gleichzeitig wird durch den vakuolären Sog eine weitere wichtige

Eigenschaft der pflanzlichen Zelle etabliert: der Zellinnen- druck. Dieser sorgt – in mechanischer Wechselwirkung mit dem Gegendruck der Zellwand – für die Aufrechterhaltung der allgemeinen Spannkraft des Pflanzenkörpers (Turges- zenz). Insbesondere spielt dies bei krautigen Gewächsen eine Rolle.

Intrazelluläre Verdauung

Eine weitere wichtige Funktion der Vakuole besteht im Ent- zug von Stoffen, die in der Restzelle als Abfall anfallen und zum Teil giftig wirken könnten. Zu diesem Zweck verfügt die Vakuole über eine breite Palette an Abbauenzymen. So findet man je nach Gewebeherkunft verschiedene Glycosi- dasen, RNAsen, DNAsen, Phosphatasen sowie proteinab- bauende Enzyme. Interessant ist, dass diese katalytisch wirksamen Verbindungen oftmals ausschließlich vakuolär vorkommen, wogegen ihre Substrate überwiegend *extra-* vakuolär, im Cytoplasma der Zelle, vorliegen. Dieses Phä- nomen gibt einen Hinweis auf die Art und Weise, wie die je- weiligen Stoffe entsorgt werden können: Entweder werden sie über den intakten Tonoplasten importiert und im Va- kuoleninneren umgesetzt, oder die komplette Vakuole zer- fällt und gibt ihren (Enzym-)Inhalt an die Restzelle ab. Die Verdauungsenzyme kommen dadurch automatisch in Kon- takt mit ihren Substraten und bauen diese ab.

Diese beiden Prozesse können natürlich auch ineinan- dergreifen, wofür die Vorgänge während der Blattsenes- zenz ein schönes Beispiel liefern [10]: Beim herbstlichen „Alterungsprozess“ findet in den Blättern vor deren Abster- ben eine Remobilisierung von noch nutzbaren Nährstoffen statt (vor allem Magnesium, Phosphor, Schwefel, Kalium sowie reduzierte Stickstoffverbindungen). Diese gelangen vor dem endgültigen Blattfall über die Stoffleitungsbahnen des Phloems zu den winterüberdauernden Teilen der Pflanze, wie Wurzeln, Sprossknollen oder Stamm. Damit diese Stoffumleitung vonstatten gehen kann, muss die Vita- lität der grünen Gewebe (Mesophyll) bis zum Blattfall ge- währleistet sein. Da viele Abbauprodukte potentiell giftig sind, müssen sie aus dem stoffwechselaktiven Zellbereich, dem Cytoplasma, entfernt werden. Hierzu stehen sowohl

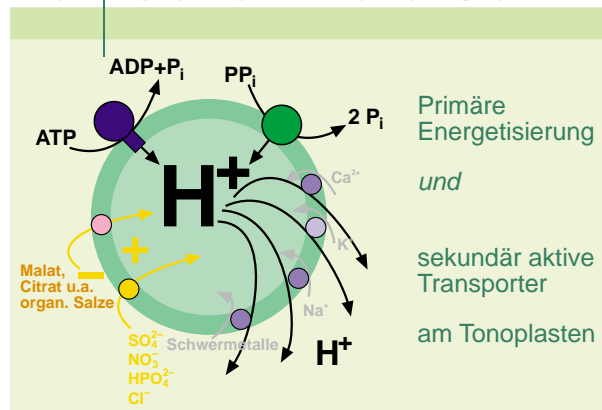
die Zellwand als auch die Vakuole zur Verfügung, wobei letztere aufgrund ihres größeren Volumens eine deutlich höhere Aufnahmekapazität für gelöste Verbindungen hat. Ein Beispiel für die Stoffumleitung sind die beim Chloro- phyllabbau in den Plastiden entstehenden wasserlöslichen Produkte, die – nach Veränderung ihrer chemischen Struk- tur – über den Tonoplasten in die noch intakte Vakuole ver- lagert werden. Hier erfolgt ihre Enddeponierung; diese Pro- dukte werden also nicht in die Restpflanze transportiert. Ihre chemische Energie wird erst nach dem Blattfall nutz- bar, indem sie in die Nahrungskette der Bodenorganismen einmünden. Die vakuoläre Speicherung stellt wohl vor al- lem eine Entgiftungsreaktion dar: Die Produkte des Chloro- phyllabbaus sind potentiell toxisch. Ihre Anwesenheit im Cytoplasma der alternden Zelle könnte den streng geregel- ten Ablauf der Stoffwechselprozesse während der Senes- zenz empfindlich stören. Möglicherweise erfolgt aus die- sem Grund ihre Einlagerung in die Vakuole. Membranen wie Plasmalemma und Tonoplast – und damit die zelluläre Kompartimentierung – sind deshalb noch über eine lange Zeit intakt, erkennbar an der fortbestehenden Blattturges- zenz. Insbesondere die Zerstörung des Tonoplasten mar- kiert das Ende des Seneszenzprozesses. Dadurch vermisch- t sich Cytoplasma- und Vakuoleninhalt und bewirkt einen – eher unspezifischen – Abbau weiterer zellulärer Bestand- teile. Der Zellstoffwechsel kommt nach und nach zum Er- liegen, wozu auch die Aktivität ursprünglich vakuolärer Phosphatasen beiträgt, welche die empfindlichen Phos- phatesterbindungen im Cytoplasma zerstören. Äußerlich erkennbar ist die Aufhebung der Kompartimentierung auch an der Braunfärbung der Blätter. Sie geht auf den Kon- takt zwischen cytoplasmatischen Phenoloxidasen und zu- vor vakuolär abgekapselten Phenolen zurück, wobei braun- gefärbte Oxidationsprodukte entstehen. Zusammenge- nommen führen all diese Prozesse zum Zelltod.

Stofflagerung auf Halde

Es gibt sowohl eine irreversible als auch eine reversible va- kuoläre Stoffeinlagerung:

- Eine „Einbahnstraßen-Ablagerung“ lässt sich vor allem für zelleigene Abfallprodukte, Umweltgifte und sekundäre Naturstoffe (wie zum Beispiel viele wasserlösliche Farb- stoffe; Abbildung 1) beobachten. Auf die hierbei zugrunde- liegenden Prozesse wird in den späteren Abschnitten näher eingegangen.
- Andere Substanzen dagegen werden in der Vakuole nur vorübergehend „abgelegt“. Dazu zählt beispielsweise die kurzfristige Zwischenlagerung von im Überschuss gebil- deten Photosyntheseprodukten in den grünen Blattgeweben. Eine Einlagerung kann sich jedoch auch langfristig, aber dennoch reversibel vollziehen. Dies lässt sich zum Beispiel bei der Saccharoseeinspeicherung in Zuckerrüben oder Zuckerrohrstängeln beobachten, die über die gesamte ve- getative Wachstumsphase hinweg erfolgt. Erst bei der Blü- tenbildung findet dann die Remobilisierung der Speicher- zucker statt.

ABB. 2 | TONOPLASTENERGETISIERUNG



Darstellung der Tonoplastenergetisierung durch die beiden Protonenpumpen, ATPase und Pyrophosphatase, sowie der Carrier-systeme für Kationen und Anionen.

EXPERIMENTE ZUR VAKUOLÄREN BELADUNG

Neue Einblicke in Vakuoleninhalt und Transportprozesse

In den letzten zwei Jahrzehnten wurden verschiedene experimentelle Ansätze entwickelt, um tiefer gehende Einblicke in die Zusammensetzung des Vakuoleninhalts und die zugrunde liegenden Transportprozesse zu gewinnen.

Röntgenstrahlmikroanalyse

Dazu gehört die Röntgenstrahlmikroanalyse, die eine zelluläre Stofflokalisierung mit hoher räumlicher Auflösung ermöglicht. Die vorherige Gefrierbehandlung des Gewebes unterbindet unerwünschte Umverteilungen zwischen Vakuole und Umgebung. Diese Methode ist apparativ aufwendig. Sie ist halb-quantitativ und auf anorganische Verbindungen anwendbar. Ihre Nachweischwelle ist relativ hoch, sodass niedrigkonzentrierte Elemente nicht aufgespürt werden können.

Ionensensitive Elektroden

Eine andere Methode besteht im Einsatz von ionensensitiven Elektroden. Sie haben den großen Vorteil, dass sie die gleichzeitige Erfassung von vakuolärem Gehalt und Transport der entsprechenden Verbindung erlauben.

Druckmess-Sonden

In den letzten Jahren wurde als weiteres Verfahren die Einzelzellsaft-Entnahme über „Druckmess-Son-

den“ etabliert. Dieses nutzt aus, dass bei der Einführung einer Feinstkapillare eine Entladung des Zellinnendrucks zurück in die Kapillare erfolgt. Dieser „backshot“ liefert Picoliter-Mengen an Zellsaft. Die letztgenannten Verfahren ermöglichen die Erfassung von Einzelzellen und tragen damit der Heterogenität von Vakuolen auch innerhalb des selben Gewebes (zum Beispiel einer Blattepidermis) Rechnung. Sie stellen besonders hohe Anforderungen an die Empfindlichkeit der sich anschließenden Analytik, da die so erhaltenen Probenvolumina extrem niedrig sind und eine mögliche Kontamination mit Inhaltsstoffen anderer Zellkompartimente gleichzeitig erfasst werden muss.

Gewinnung von isolierten Vakuolen

Die noch immer gängigste Methode, mit der man parallel Inhaltsstoffe und ihren Transport am Tonoplasten bestimmen kann, besteht in der Gewinnung großer Mengen an isolierten Vakuolen aus entsprechend vorbehandeltem Pflanzengewebe. Dies kann auch ohne allzu großen apparativen und finanziellen Aufwand durchgeführt werden. Die Abbildung unten zeigt den Prozess am Beispiel der Vakuolen-

isolation aus dem Blattmesophyll von Feldsalat (*Valerianella locusta*). Ziel ist es, eine intakte Organellenpopulation zu erhalten, die nicht mit anderen zellulären Bestandteilen verunreinigt ist.

A, Mesophyllzellen noch im Gewebeverband. Der Protoplast ist bereits leicht abgerundet und von der Zellwand zurückgezogen, infolge der Zugabe von Isolationsmedium, das im Vergleich zum Blattsaftgehalt leicht höher konzentriert ist und zu Plasmolyse führt. B, Mikroskopisches Bild nach etwa zwei Stunden im Isolationsmedium. Durch die Einwirkung von zellwandabbauenden Pektinasen, Hemicellulasen und Cellulasen verschwindet der Zellwandanteil zunehmend, ist nur noch erkennbar an der „Unrundheit“ einiger Protoplasten (C). D, Fertige Protoplasten, im Vergleich zu B in vollständig abgerundeter Form. Exemplare, bei denen die Chloroplasten nicht ganz homogen verteilt vorliegen, lassen die beiden Zellmembranen Plasmalemma und Tonoplast nebeneinander erkennen (E). F, Protoplastensuspension unmittelbar nach Zugabe von Lysemedium. Dieses ist so zusammengesetzt, dass durch eine pH-Veränderung, den Zusatz von Calciumchelatoren sowie eine deutlich erniedrigte Osmolalität das Plasmalemma destabilisiert wird und die Vakuole langsam aus dem Protoplasten „schlüpft“ (Pfeile). G, fertige Vakuolenfraktion.

Die so gewonnenen Vakuolen kann man – sofern sie in genügender Ausbeute vorliegen – relativ problemlos auf nicht vakuoläre Kontaminationen überprüfen. Dies geschieht, indem man zum Beispiel die Anwesenheit extravakuolärer „Marker“ bestimmt (die Aktivität der Cytochromoxidase als mitochondriales Enzym, Chlorophyll als Plastidenmarker). Nur eine hohe Qualität der Vakuolenfraktion erlaubt ihren Einsatz für Kompartimentierungs- und Membrantransportstudien. Um letztere durchzuführen, werden in den meisten Fällen radioaktiv markierte Verbindungen (zum Beispiel Zucker, Aminosäuren, Ionen, Produkte des sekundären Pflanzenstoffwechsels) angeboten, da sie mit hoher Empfindlichkeit nachgewiesen werden können. Variationen in den experimentellen Bedingungen, zum Beispiel hinsichtlich pH-Wert, Substratkonzentration, Stimulier- oder Hemmbarkeit, ermöglichen wichtige Aussagen über die Charakteristik des untersuchten Transportsystems.

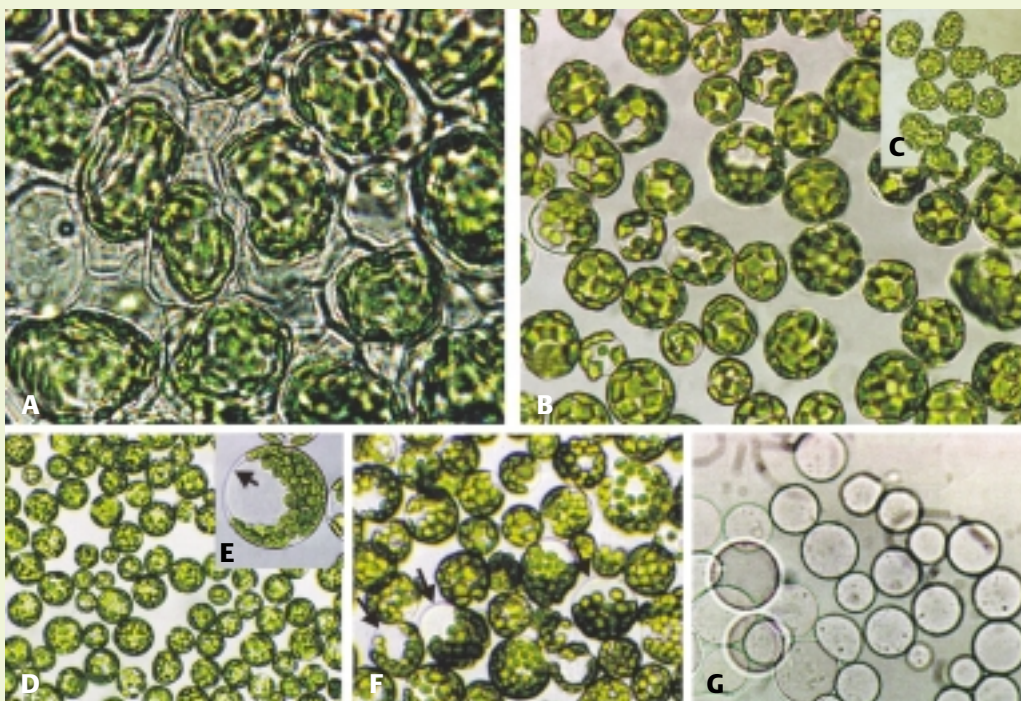




ABB. 3 Blütenfarbstoffe in Pfingstrose (A), Schmetterlingsflieder (B), Traubenhyazinthe (C) und Iris (D). Die Anwesenheit von Metallionen wie Al^{3+} oder Fe^{2+} in der Vakuole bewirkt durch Komplexbildung mit eher rötlichen Anthocyanen eine Blauverschiebung im Farbeindruck. Dies lässt sich durch Veränderungen im pH-Wert des Zellsafts beeinflussen.

Wieviel kurz- oder langfristig gespeichert wird, hängt von den metabolischen Bedürfnissen der Zelle und des Gesamtorganismus ab und ist somit stark vom Entwicklungs-, Ernährungs- und Umgebungszustand der Pflanze beeinflusst. Dies äußert sich zum Beispiel darin, dass unter Stressbedingungen wie Kälte oder Wassermangel die Konzentration von gelösten Stoffen im Zellsaft (vor allem Zuckern oder Aminosäuren) stark zunimmt. Ebenso kann sich die Nährstoffversorgung der Pflanze in der Zusammensetzung des Zellsaftes widerspiegeln, wie es für Zucker, aber auch Nitrat und andere Salze belegt wurde [4].

Energie für den Tonoplasten

Der Einsatz verschiedener experimenteller Verfahren führte zu der Beobachtung, dass die Vakuole in der Lage ist, Stoffe in zum Teil extrem hohen Konzentrationen gegenüber dem Cytoplasma anzureichern. Dazu benötigt eine Membran – hier der Tonoplast – Energie, deren Herkunft sich unter Verwendung isolierter Vakuolen auch auffinden ließ: Am Tonoplasten existieren sogar zwei verschiedene Systeme [13], welche die Membran in einen energetisierten Zustand versetzen. Beide Systeme spalten energiereiche

Verbindungen (ATP oder Pyrophosphat), deren frei werdende Bindungsenergie unmittelbar für eine Stoffanreicherung sorgt (Primärenergetisierung): ATPase und Pyrophosphatase pumpen beide Protonen in die Vakuole (Abbildung 2), sodass diese relativ zum Cytoplasma deutlich saurer wird (pH 3,0 – 6,0, je nach untersuchtem Objekt). Die Verschiebung der positiv geladenen Protonen sorgt zudem für ein zum Vakuoleninneren hin positives Membranpotential. Die chemische Komponente (der Konzentrationsunterschied) ebenso wie die elektrische (das Membranpotential) dienen dem Transportantrieb weiterer Stoffklassen. Bei dieser Form der Translokation spricht man von sekundär aktivem Transport. Ein aktiver Transport wird generell erst dann erforderlich, wenn Moleküle gegen ihr Konzentrations- oder Ladungsgefälle transportiert werden sollen. Die beiden Pumpen am Tonoplasten zeigen charakteristische Eigenschaften, was die Stimulation und die Hemmung ihrer Transportaktivität angeht, sodass sie experimentell unterscheidbar sind. Die Aktivität der Tonoplasten- H^+ -ATPase reagiert zudem auf veränderte Umgebungsbedingungen der Pflanze, wie zum Beispiel eine erhöhte Salzexposition oder Wassermangel. Durch Modifizierung ihrer Struktur und Funktion ist sie in der Lage, Reaktionen zur Stressanpassung zu vermitteln [5].

Ionenaufnahme in die Vakuole

Anorganische Ionen gehören zu den sekundär-energetisiert transportierten Verbindungen am Tonoplasten (Abbildung 2; [1]). Für das pflanzliche Cytoplasma ist ein hohes Kalium/Natrium-Verhältnis charakteristisch. Kalium als Hauptnährelement wird von der Pflanze in großen Mengen aufgenommen und erst dann in die Vakuole weitergeleitet, wenn eine reichliche Versorgung des Cytoplasmas (K^+ -Konzentration 50 bis 150 millimolar) gewährleistet ist. Im Cytoplasma reguliert Kalium in hohen Konzentrationen den Quellungsstatus des Plasmas, wirkt als pH-Regulator und aktiviert zahlreiche Enzyme. K^+ gelangt über einen Protonen-Antiporter in die Vakuole: Dieser Carrier tauscht einfließende K^+ gegen Protonen aus, die ihrem Konzentrationsgefälle von innen nach außen folgen und K^+ im Gegenzug intravakuolär akkumulieren lassen (Abbildung 2).

Die Bewerkstelligung einer dauerhaft niedrigen Natriumkonzentration im Cytoplasma ist aufgrund des K^+/Na^+ -Antagonismus für die meisten Pflanzen essentiell. Sie wird besonders kritisch bei einem Wachstum auf sehr salzbelasteten Böden. Salzeempfindliche Pflanzen schließen Natrium bereits am Plasmalemma gegen den Eintritt in das Cytoplasma aus und lagern es in der Zellwand ab. Salzresistente Pflanzen hingegen, wie *Plantago maritima* oder *Beta vulgaris*, nehmen Natrium in das Cytoplasma auf, sind aber in der Lage, es von dort effizient in die Vakuole abzuführen. Da die Vakuole im Vergleich zur Zellwand ein deutlich größeres Aufnahmereservoir bereitstellt, tolerieren diese Pflanzen höhere Salzkonzentrationen. Der Transport am Tonoplasten erfolgt, ähnlich wie für Kalium beschrieben, über einen Na^+/H^+ -Antiporter. Dieser kann durch ein

hohes Salzangebot im Wachstumsmedium induziert, das heißt in einer höheren Anzahl produziert, und/oder in seiner Aktivität effizienzverstärkt werden [1]. Natriumcarrier am Tonoplasten zeigen somit, ähnlich wie die bereits erwähnte H^+ -ATPase, ein direktes Reaktionsvermögen auf sich verändernde Umwelteinflüsse. Diese Fähigkeit der Vakuole trägt dazu bei, dass der Pflanze ein Überleben in potentiell toxischer Umwelt möglich ist. Aus anthropogener Sicht kann diese Eliminationsleistung genutzt werden, um der Umwelt schädliche Stoffe zu entziehen, indem sie im Pflanzenorganismus angereichert werden. So sind zum Beispiel Wasserhyazinthen in biologischen Abwasserkläranlagen einsetzbar, da sie Metallionen wie Cadmium oder Nickel aufnehmen und speichern. Verschiedene Irisarten entziehen Oberflächengewässern hohe Mengen an Quecksilberverbindungen, Cyaniden und Nitraten. Auch diese Ionen können über Tonoplastencarrier in der Vakuole angereichert werden, vermutlich ebenfalls über sekundär energetisierte Systeme, wobei die genauen Mechanismen speziell für die Schwermetallkationen noch nicht bekannt sind. Die anionischen Verbindungen gelangen vermutlich über Uniport-Systeme in die Vakuole, indem sie dem innen positiven Membranpotential „elektrostatisch“ folgen (Abbildung 2).

Calcium liegt im Cytoplasma in nur nanomolaren Konzentrationen vor. Es fungiert dort als wichtiges Signalmolekül und muss somit einen niedrigen Schwellenwert aufweisen, zu dessen Aufrechterhaltung die Vakuole einen wichtigen Beitrag liefert: Mit einem Gehalt von ein bis zehn millimolar stellt die Vakuole den Hauptspeicher für zelluläres Calcium dar. Sein Eintransport erfolgt ebenfalls über ein Protonen-Antiport-System (Abbildung 2), möglicherweise jedoch auch über eine direkt energetisierte Calcium-ATPase. Protonengekoppelt transportiert wird vermutlich auch *Magnesium*, das für viele Enzymaktivitäten wichtig ist.

Ebenso wie viele anorganische Ionen ist auch ein Großteil der *organischen Säuren* in der Vakuole lokalisiert. Ihr quantitatives Auftreten ist stark familienabhängig. Die ubiquitär vorkommenden Formen Malat und Citrat sollen dem Membranpotential folgend in die Vakuole transloziert werden (Abbildung 2). Die Spezifität des Carriers ist nicht sehr ausgeprägt, da er ebenso viele andere organische Anionen wie Oxalacetat, Aconitat, Succinat oder Malonat befördert.

Der Gehalt an *Aminosäuren* in der Zellvakuole ist abhängig vom Ernährungs- und metabolischen Zustand der Pflanze [7]. Unter „Normalbedingungen“ scheint ihr vakuolärer Gehalt unter dem des Cytoplasmas zu liegen, sodass für einen Eintransport in die Vakuole keine Energetisierung vonnöten wäre. Interessanterweise zeigte sich jedoch in isolierten Vakuolen aus Gerstemesophyll für die meisten, wenn auch nicht alle Aminosäuren eine ATP-Stimulierung der Aufnahme [2]. Es scheint sich jedoch nicht um einen Energetisierungseffekt zu handeln: Es erwies sich, dass die Ausschaltung der Primärenergetisierung (H^+ -ATPase, -PP₁ase) keinen hemmenden Effekt auf den Ami-

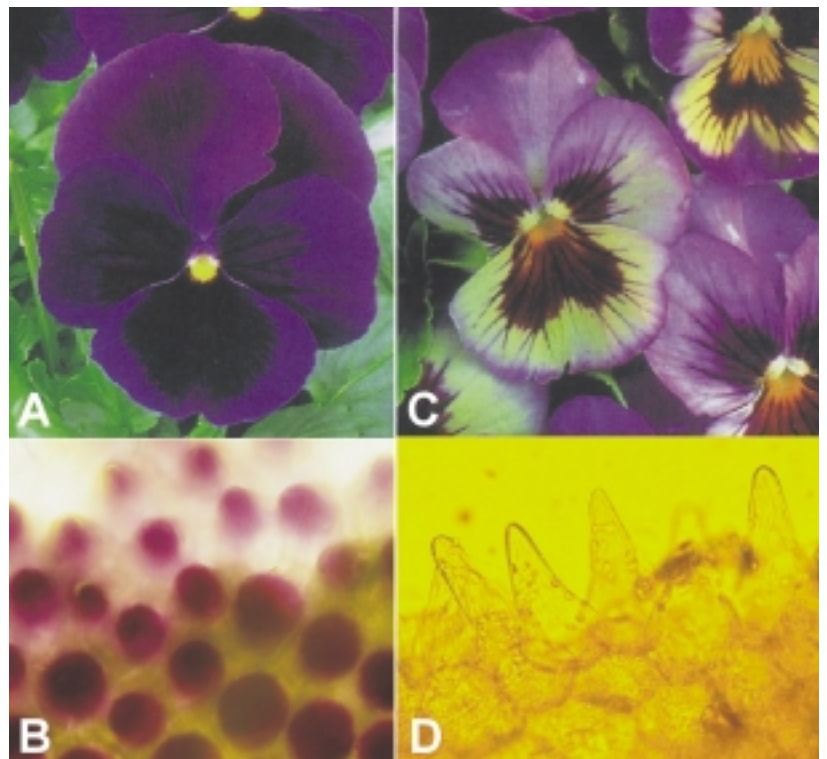


ABB. 4 Die Blütenfarbe einer Pflanze kann sowohl auf der Anwesenheit wasserlöslicher vakuolärer Pigmente beruhen, wie hier die Anthocyane im dunkelrot-blauen Bereich der *Viola*-Blüte (A,B), aber auch auf fettlösliche Carotenoide zurückgehen, die in den Chromoplasten der gelben Bezirke der Papilleneperidermis (C,D) zu finden sind.

nosäureeintransport ausübte. Diskutiert wird aus diesem Grund eher eine Modulations- oder Effektorrolle des ATP-Moleküls auf den Aminosäurecarrier selbst. Experimentell konnte dies über den Einsatz von „ATP-Strukturanaloga“ (chemischen Verbindungen, die der ATP-Struktur sehr ähnlich sind, im Gegensatz zu ATP jedoch nur gebunden, nicht hydrolysiert werden) belegt werden. Sie liefern somit keine chemische Energie für einen Transport. ATP-modulierte Carriersysteme, deren *In-vivo*-Bedeutung in der Zelle noch unbekannt ist, scheinen auch Di- und Tripeptide, Polyamine sowie Produkte des Proteinabbaus in die Vakuole zu befördern.

Kompartiment der Süße

Pflanzliche Speicherorgane wie Zuckerrüben oder die Stängel von Zuckerrohr und Zuckerhirse speichern über Monate hinweg große Mengen an Saccharose an. Sie ist die Grundlage für den hohen Süßegrad und damit die wirtschaftliche Nutzung dieser Kulturpflanzen. In deren Speichergewebe liegt die Saccharose hauptsächlich vakuolär vor [15]. Ihre Konzentration in der Vakuole überwiegt die des Cytosols deutlich, sodass eine Transportenergetisierung am Tonoplasten notwendig erscheint. Für die *Beta*-Rübe erfolgt der vakuoläre Transfer zumindest zum Teil ATP-energetisiert in Form eines Saccharose-Protonen-Anti-

GLOSSAR

Turgescenz: Zell- oder Gewebespannung, die sich infolge des (Flüssigkeits)innen-drucks einer Zelle (Turgor) aufbaut. Der Turgor entsteht durch einen osmotisch be-dingten Wassereinstrom in die Zelle und sorgt zusammen mit dem Gegendruck der Zellwand für die mechanische Stützung pflanzlicher Gewebe. Ein Turgescenzverlust äußert sich in Welkevorgängen.

Blattseneszenz: letzte Stufe in der Alterungsphase eines Blattes, innerhalb derer eine strukturelle wie physiologische Degeneration stattfindet, die letztendlich zum Blatttod führt.

Phenoloxidasen: Kupferprotein-Enzyme, die Phenole ($R-C_6H_4OH$) in einer ersten Teil-reaktion mit Luftsauerstoff zu Diphenolen ($R-C_6H_4[OH]_2$) oxidieren. In der zweiten Teil-reaktion wird mit weiterem Sauerstoff ein Cosubstrat oxidiert, das mit dem Diphenol der ersten Teilreaktion identisch sein kann. Es resultiert eine Chinonverbindung ($R-C_6H_3O_2$), die zu länger-kettigen Verbindungen polymerisiert werden kann.

Dhurrin: cyanogenes Glycosid, das in größeren Mengen bei den Hirsen und anderen Gräsern vorkommt. Cyanogene Pflanzen sind in der Lage, giftigen Cyanwasserstoff (HCN) zu produzieren und in die Umgebung abzugeben. Dieser liegt in der Pflanze selbst als noch ungiftige Vorstufe, im Falle von Dhurrin als Glucoseverbindung, vor. Erst durch enzymatische Abspaltreaktionen wird die Blausäure freigesetzt.

GS-Konjugate: Schwefel-Konjugationsverbindungen von verschiedenen Substanzen mit reduziertem Glutathion (G-SH). Glutathion ist ein in Pflanzen häufig vorkommen-des und multifunktionelles Tripeptid, das aus den Aminosäuren Glutaminsäure, Cystein und Glycin zusammengesetzt ist. Die Konjugationen, die im Rahmen von bei-spielsweise Herbizidentgiftungen stattfinden (siehe Text), werden durch Glutathion-S-Transferasen katalysiert.

ports [16]. Für Saccharose einspeichernde Zellen in Zuckerrohr oder Hirse konnte dies jedoch nicht überzeugend demonstriert werden, sodass hier möglicherweise alternative Einschleusungsvorgänge aktiv sind. In Weintrauben, die einen hohen Anteil an den Hexosen Glucose und Fructose neben Saccharose einspeichern, scheint es einen Hexose-Protonen-Antiporter am Tonoplasten zu geben.

In den Zucker produzierenden Zellen der Blätter kann der Weg der Kohlenhydrate verschiedene Richtungen nehmen: Zum einen können sie als wasserunlösliche Stärke in den Chloroplasten zwischengespeichert werden, zum anderen in gelöster Form in den vakuolären Pool übergehen. Beides ist bevorzugt dann der Fall, wenn kein direkter Abtransport der Zucker aus dem Blatt in die Restpflanze erfolgen kann oder soll. Eine Zwischenspeicherung löslicher Zucker kann, auch in Abhängigkeit von der Pflanzenfamilie, in Form von Saccharose, Glucose, Fructose, Zuckeralkoholen oder den Galactosyloligosacchariden Raffinose und Stachyose erfolgen.

Der Transport von Saccharose ist aufgrund ihres häufigen Vorkommens am besten untersucht. Ihr Influx in die Vakuole soll in analog hohen Raten zu ihrer Synthese im Cytosol erfolgen, sodass 20 bis 100 Prozent der Saccharose – je nach metabolischem Zellzustand – in der Vakuole zwischenlagern. Solange der Zuckereintransport mit dem Kon-

zentrationen-gefälle erfolgt, würde eine passive Permeation des Zuckers über Membrancarrier, ohne Aufwand von Stoffwechselenergie, ausreichend sein. Dies scheint im Mesophyll der Fall zu sein: Saccharose wird mit nur geringer Carrieraffinität (das heißt im Cytosol muss eine eher hohe Zuckerkonzentration vorliegen, um effizient in die Vakuole abgeführt zu werden) und ohne Einbringen von Energie (beispielsweise in Form von ATP) in die Vakuole überführt [3]. Der Zuckernettoflux wäre somit durch den existierenden Konzentrationsgradienten vorbestimmt, der sich wiederum aus der Saccharoseproduktion abzüglich Verbrauch und Export des Zuckers ergibt.

Etwa zehn Prozent der höheren Pflanzen, darunter insbesondere die Gräser der gemäßigten Zonen, lagern ihre Kohlenhydrate auf andere Art in der Vakuole ein, und zwar in Form von Fructanen (Polymere aus Fructosebausteinen). Fructane werden nicht selbst am Tonoplasten transportiert, sondern in Form ihrer Vorläufer Saccharose und Fructose. Die eigentliche Synthese der Fructane findet wohl innerhalb der Vakuole statt [11]. Da die Ausgangsmoleküle über diese Polymerisationsreaktion gleichbleibend abgefangen werden, akkumulieren diese nicht und müssen somit auch nicht gegen ihr eigenes Konzentrationsgefälle ankommen. Metabolische Umwandlungen von Zuckern innerhalb der Vakuole, in Form von Synthese- oder Abbaureaktionen, können somit eine Energetisierung von Transportvorgängen unnötig machen, da das Konzentrationsgefälle für die Ausgangsstoffe aufrechterhalten bleibt.

Abwehr und Attraktion

Das klassische Bild der Vakuole entspricht dem eines Speicherraums für toxische Verbindungen, wie Alkaloide oder Phenole [9]. Diese Verbindungen sind Metabolite des pflanzeigenen sekundären Stoffwechsels, die in enormer Menge und Vielfalt produziert werden (bekannt und beschrieben sind bisher an die 50000 Stoffe). Viele der wasserlöslichen Formen sind exklusiv in der Vakuole lokalisiert – viel ausgeprägter als bei den Substanzen des Primärstoffwechsels. Dies macht Sinn, da ein Großteil der betreffenden Stoffe auch für den pflanzeigenen Zellmetabolismus toxisch sein kann. Pflanzen, die im Gegensatz zu tierischen Organismen nur in sehr begrenztem Maße zu einer Stoffabgabe in die Umgebung fähig sind, verfügen somit über eine Art innere Exkretion.

Als standortgebundene Organismen mussten die Pflanzen im Laufe der Evolution spezielle Strategien entwickeln, um in Kommunikation mit anderen Lebewesen zu treten – sei es verteidigend oder anlockend. So fungieren viele Sekundärprodukte als *Abwehrchemikalien* gegen Herbivoren, Viren und Mikroorganismen. Sie sind meist an strategisch günstiger Stelle deponiert (in der Epidermis, im Wurzelbereich oder nahe den Infektionsstellen) und weisen deshalb eine hohe Gewebe- bis Zellspezifität auf. In manchen Fällen induziert erst eine Verwundung oder Infektion ihre Neuproduktion. Diese postinfektionell auftretenden Substanzen, die sehr verschiedenen chemischen

Substanzklassen angehören können, werden als *Phytoalexine* zusammengefasst. Die Synthese von Abwehrstoffen erfolgt jedoch auch konstitutiv, also „prophylaktisch“ vor einem Angriff. Die eigentlich wirksamen Verbindungen können zudem aus zuvor ungiftigen Vorstufen frei gesetzt, „aktiviert“ werden.

Dies ist zum Beispiel der Fall bei der Blausäureverbindung Dhurrin, die in der Epidermis verschiedener Hirsearten vorkommt. Sie liegt als inaktive Glucosidvorstufe in der Vakuole parat und kommt erst bei Zerstörung der Gewebeintegrität (so bei Verwundung) mit Glycosidasen in Kontakt, die sich in den Chloroplasten der benachbarten Mesophyllzellen befinden und zunächst den Zuckerrest abtrennen. Im Anschluss daran werden Hydroxynitrilasen aktiv, welche die Blausäure frei setzen. Sie bringt als starkes Gift die mitochondriale Atmung des Angreifers zum Erliegen. Auch Nikotin und andere bitter schmeckende Alkaloide sind stark abschreckend und insektizid, ebenso wie die Senfölglycoside der Kohlgewächse, die als Fraßgifte gegen viele Insekten wirken.

Die Vakuole stellt jedoch keine reine Giftdeponie dar, sondern ist auch ein „Abwehr- und Signalkompartiment“ [17]. Fremdorganismen müssen eben nicht nur abgewehrt, sondern angelockt werden. So machen Pflanzen Insekten oder Vögel auf sich aufmerksam, um ihre Fortpflanzung und Vermehrung über die Verbreitung von Pollen und Samen sicherzustellen.

Sekundärstoffe mit einer *optischen Signalwirkung* sind vor allem die Blütenfarbstoffe. Dazu zählen als größte Klasse die phenolischen Flavonoide mit dem Ringsystem des Flavans als Grundgerüst, dessen chemische Modifizierungen zur Mannigfaltigkeit der Blütenfarben beitragen. Die beiden wichtigsten wasserlöslichen Gruppen stellen die Flavone sowie Anthocyanidine und deren Glycosidformen, die Anthocyane. Durch Komplexbildung mit Metallionen ebenso wie durch pH-Verschiebungen des Zellsafts ergeben sich hier noch mehr Möglichkeiten der Farbnuancierung. Anthocyane bewirken rot-violette Schattierungen, wie in den Blüten von Pfingstrosen oder Schmetterlingsflieder (Abbildung 3 A, B) oder gehen in die Blaurichtung, wie bei Traubenhyazinthe und Iris (Abbildung 3 C, D).

Anthocyane sind rein vakuolär lokalisiert, was nicht für alle Blütenfarbstoffe zutrifft: Abbildung 4 zeigt für das gewöhnliche Stiefmütterchen (*Viola tricolor*), dass zwar der Dunkelrotton auf vakuoläre Anthocyane zurückgeht (Abbildung 4 A, B), die Gelbfärbung jedoch auf Plastidenpigmente, die orange-gelben Carotenoide (Abbildung 4 C, D).

Neben der Signalwirkung fungieren Flavonoide auch als Antioxidantien und Enzymmodulatoren. Sie sind zudem in der Lage, Licht im kurzwelligen Wellenlängenbereich (UV-Bereich) zu absorbieren, das sich zerstörerisch auf Proteine und DNA auswirken kann. Die Farbstoffe kommen deshalb bevorzugt in pflanzlichen Oberflächengeweben vor, wie in Blatt- oder Stängel-epidermen, und schützen die tiefer gelegenen Zellverbände. Besonders angebracht erscheint eine solche Schutzfunktion gegen Photooxidation



ABB. 5 Anthocyane als Jugendpigmente beim Neuaustrieb von Pfingstrose (A) und Wildem Wein (B). Die Farbstoffe dienen hier dem Schutz der rasch wachsenden, stoffwechselaktiven Gewebe vor Photooxidation.

bei sehr jungen, stoffwechselaktiven Geweben, sodass man eine Anthocyan-Akkumulation ausgeprägt beim Neuaustrieb, so von Pfingstrose oder Wildem Wein (Abbildung 5 A, B), beobachten kann.

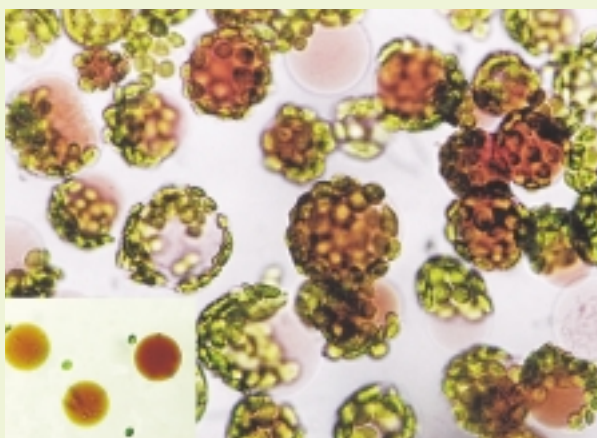
Flavonoide tragen bei vielen Baumblättern zur Herbstfärbung bei, die besonders auffällig ist, wenn Kälte und starke Sonneneinstrahlung vorherrschen. Die Buntfärbung tritt oft erst zum Vorschein, wenn das Chlorophyll in den Blättern abgebaut wird, wie Abbildung 6 am Beispiel des Esigbaums zeigt.

Bei den meisten pflanzeneigenen Sekundärstoffen finden Synthese und Speicherung in getrennten Zellkompartimenten statt. Nach ihrer Produktion im Cytoplasma werden sie über verschiedene Mechanismen in die Vakuole eingeschleust und endgelagert. Typisch für viele Sekundärstoffe sind transportgekoppelte Modifizierungsreaktionen. Als Transportform liegen sie zum Beispiel hydroxyliert oder glycosyliert vor. Nach ihrer Tonoplastenpassage erfolgt oft eine weitere enzymatische oder nicht-enzymatische Umsetzung. Diese verändert ihre chemischen Eigenschaften, insbesondere die Membrangängigkeit, sodass sie in der Vakuole „gefangen“ bleiben. Dies kann auch mit fettlöslichen Sekundärprodukten wie Nikotin oder Colchicin geschehen. Sie können den Tonoplasten durch Lösung in der Lipidschicht überqueren, müssen für eine Einlagerung in der Vakuole jedoch, um nicht auf dem gleichen Weg zurückzudiffundieren, weniger mobil gemacht werden. Dies kann zum Beispiel über den Ionenfallen-Mechanismus [8] ablaufen, der sich sehr schön am Beispiel des Farbstoffs Neutralrot demonstrieren lässt (siehe Kasten auf Seite 320 und Abbildung 7): Substanzen, welche die oben beschriebenen Schutzfunktionen gegen Pathogenangriff oder Strahlungsschädigung erfüllen sollen, müssen in relativ hohen Konzentrationen vorliegen. Es ist deshalb erforderlich, die potentiell giftigen Verbindungen komplett aus dem Cyto-

ABB. 6 Herbstfärbung beim Blatt des Essigbaums. Erst mit Abbau des Chlorophylls, der beim Essigbaum in ausgeprägten Strukturmustern verläuft, kommt die Gelb- und Rotfärbung der Flavonoide zum Vorschein. (Foto: A. Casanova)



ABB. 7 Protoplasten, isoliert aus Blättern der Spornblume (Centranthus ruber) und mit dem Farbstoff Neutralrot versetzt. Kleines Bild: isolierte Vakuolen.



DER IONENFALLEN-MECHANISMUS

Das im alkalischen pH-Bereich nicht geladene, lipophile Farbstoffmolekül passiert den Tonoplasten passiv und wird erst im sauren Milieu der Vakuole protoniert. Die so entstehenden Farbstoffkationen können nicht durch die Membran zurückwandern, sie werden in der Vakuole „gefangen“ [8]. Aus dem Nachströmen und sukzessiven Protonieren von weiteren Farbstoffmolekülen resultiert eine Neutralrot-Akkumulation in der Vakuole, die ein Indiz für die Intaktheit des Tonoplasten auch bei isolierten Organellen liefert (Abbildung 8). Auch isolierte Vakuolen (kleines Bild) behalten ihren Neutralrotgehalt, was als Hinweis auf die Strukturintegrität ihres Tonoplasten gilt: Nur im intakten Zustand ist die Membran in der Lage, den für die Farbstoffanreicherung notwendigen pH-Gradienten aufrechtzuerhalten. Ein analog ablaufender Mechanismus wird für verschiedene Alkaloide diskutiert. Es fehlt diesem Transporttyp jedoch eine Stoffspezifität, da Erkennungsstrukturen wie an Carrier natürlich nicht existieren.

plasma zu entfernen. Da es sich bei diesen Transportvorgängen um ein eindeutiges Akkumulationsverhalten handelt, erfordern sie eine Energetisierung. Diese kann „klassischerweise“, wie für manche Cumarine und Alkaloide angenommen, als Protonen-Antiport-Mechanismus vorliegen.

Es existiert jedoch noch eine weitere Klasse von Transportern in der Vakuolenmembran [6]. Dabei handelt es sich um primär energetisierte Systeme, direkt angetrieben über ATP-Spaltung. Sie scheinen an der Entsorgung pflanzeigener Sekundärmetabolite beteiligt zu sein, so auch von Chlorophyllabbauprodukten. Dieser Transportertyp wurde bisher nur für den Transfer pflanzenfremder Stoffe in die Vakuole beschrieben.

Entgiftung über die „grüne Leber“

Erst in den letzten Jahren erkannten verschiedene Forschergruppen, dass die pflanzliche Zelle sich nicht nur von Abfallstoffen befreien kann, die

im eigenen Organismus anfallen. Vielmehr besitzt sie auch die Fähigkeit, Fremdchemikalien, *Xenobiotika*, intern zu entsorgen. Dazu zählen zum Beispiel Substanzen, die von benachbart wachsenden Pflanzen in die Umgebung (Luft- oder Wurzelraum) frei gesetzt werden und auf eine bislang wenig verstandene Weise als chemische Signalstoffe wirken (Allelochemikalien). Weitere Beispiele für Xenobiotika sind bakterielle Gifte, industrielle Schadstoffe oder auch Agrochemikalien, die der pflanzliche Organismus über Boden oder Blattspritzung zwangsweise inkorporiert. Da diese Giftstoffe nicht wie bei tierischen Organismen ausgeschieden werden können, muss die Pflanze auch hier auf eine interne Speicherekkretion zurückgreifen.

Erstaunlicherweise gibt es auf Zellebene enge Parallelen zwischen tierischen und pflanzlichen Organismen, was die Abfolge bei der Entgiftung fremder Stoffe angeht. Sie wurden 1992 von Sandermann im Konzept der „grünen Leber“ zusammengefasst [14]. Er unterschied vier Phasen, die letztendlich zu einer Ausscheidung der toxischen Verbindungen aus den empfindlichen, da stoffwechselaktiven Zellkompartimenten führen (Abbildung 8). Phase I und II stellen Vorbereitungsreaktionen der eigentlichen Exkretion dar:

Phase I: Es erfolgt eine Freilegung oder auch Einführung spezifischer funktioneller Gruppen in das Molekül, welche die Reaktivität des Stoffs erhöhen. Bei Pflanzen geschieht dies über unspezifisch wirkende Enzyme wie Peroxidasen, Demethylasen oder Oxidasen.

Phase II: Die so aktivierten Stoffe werden mit polaren Molekülen wie Zuckern, Aminosäuren, Säuren oder Glutathion konjugiert. Dies hat verschiedene Effekte:

- eine Blockade der Molekülgruppen, die in Phase I geschaffen wurden,
- eine erhöhte Wasserlöslichkeit der Xenobiotika sowie
- eine gesteigerte Zugänglichkeit gegenüber Folgereaktionen wie weiteren Transformationen, Abbauprozessen sowie Kompartimentierungen. Bei Pflanzen spielen Glycosyltransferasen sowie Glutathion-S-Transferasen (GST) eine besondere Rolle. Letztere kommen in vielen verschiedenen Isoformen vor und verknüpfen Herbizide (wie zum Beispiel Atrazin) mit reduziertem Glutathion (GSH). Ihr Vorkommen soll zumindest zum Teil verantwortlich sein für die oft zu beobachtende Herbizidselektivität von Pflanzen. Auch „Safener“ (Herbizidgegenmittel) wirken auf dieser Enzymebene: Sie werden zusammen mit dem eigentlichen Pflanzenschutzmittel auf Saatgut oder Gesamtpflanze aufgebracht und induzieren dort eine GST-Aktivität. Die Kulturpflanze erhält somit die Fähigkeit zur internen Entgiftung des Herbizids und ist so vor Herbizidschäden weitgehend geschützt – im Gegensatz zum unbehandelten „Unkraut“. Die beiden nachfolgenden Phasen III und IV stellen die zellinnere Giftexkretion sicher.

Phase III: Es erfolgen die Erkennung der – immer noch toxischen! – GS-Konjugate am Tonoplasten und ihr Eintransport in das Vakuoleninnere. In der jüngsten Zeit wurde erkannt, dass die Carrier, die diese wichtige Aufgabe

bewerkstelligen, primär energetisierte Transporter sind [12]. Sie nutzen nicht das am Tonoplasten bereits existierende Protonengefälle sekundär aus. Vielmehr handelt es sich um eigenständige ATPasen, welche die Giftkonjugate selbst unter ATP-Spaltung in das Vakuolenlumen befördern. Die direkte Transportenergetisierung stellt bei weitem die effizienteste Methode dar, Zellgifte abgeschirmt vom Protoplasma in hohen Konzentrationen zu akkumulieren. Diese „Gift-pumpen“ des Tonoplasten gehören zur Familie der ABC-Transporter (*ATP binding cassette*), einer der größten und am weitesten verbreiteten Proteinfamilien überhaupt. Interessanterweise reagieren die pflanzlichen Systeme experimentell auf die gleichen Substanzen, die auch die entsprechenden Transporter der Säugetierleberzellen beeinflussen. Die vakuoläre Anreicherung der Xenobiotika ist auch für den Entgiftungsprozess selbst von entscheidender Bedeutung: Eine Anhäufung von GS-Konjugaten würde sich hemmend auf die Aktivität der GST auswirken und somit den zügigen und weiterhin effizienten Ablauf der Entgiftungsreaktionen beeinträchtigen.

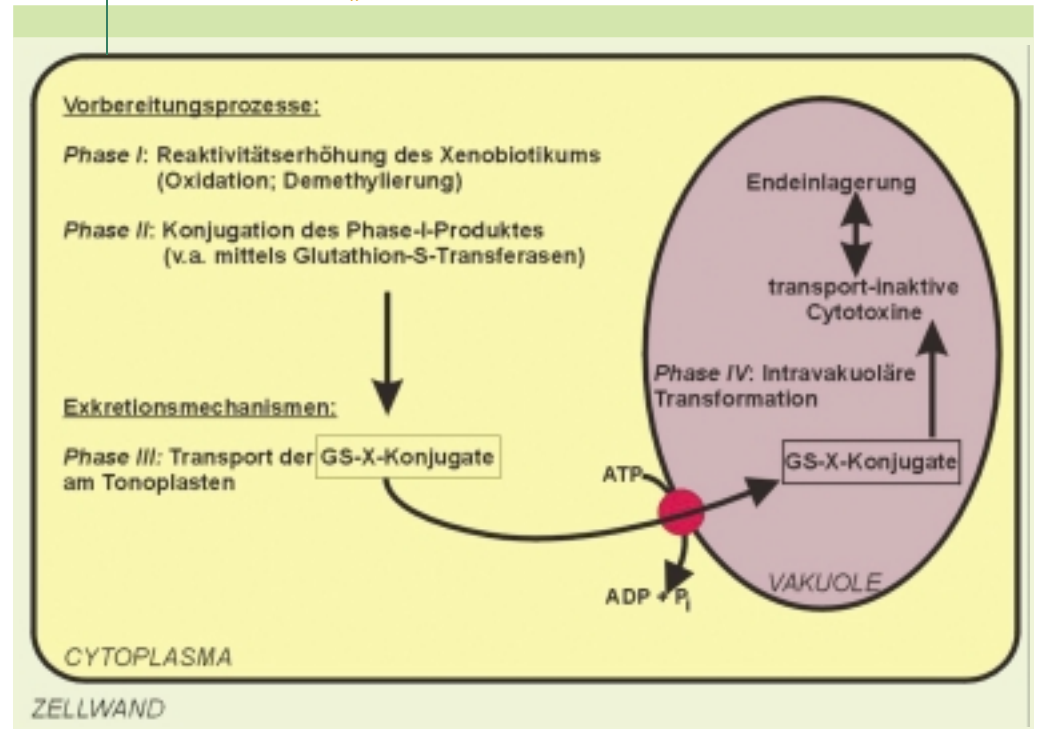
Phase IV: Diese letzte Phase des Prozesses bewerkstelligt die eigentliche Endlagerung der Zellgifte. Es erfolgt, ebenfalls intravakuolär, eine erneute Molekül-Transformation, wodurch die Substanzen transport-inaktiv werden. Die Xenobiotika können die Membran nicht mehr passieren und bleiben so im Vakuoleninneren eingeschlossen.

Die Transporter, die für die Entsorgung der Fremdgifte verantwortlich sind, sind vermutlich Carrier, welche die Pflanze für eigenproduzierte Stoffe etabliert. So werden die Anthocyanvorstufen bei der Anthocyanbiosynthese, die Anthocyanidine, auch mit Glutathion konjugiert, und erst diese GS-Konjugate stellen – wie bei den Giften – die eigentliche Transportform dar. Durch die vorhergehende chemische Modifikation sind sie, und wohl auch analoge Xenobiotika, für die Tonoplastencarrier erkennbar geworden. Die damit verbundene Unspezifität der (Entgiftungs-) Reaktion erlaubt die Entsorgung eines weiten Spektrums an Fremdsubstanzen.

Zusammenfassung und Ausblick

Die pflanzliche Vakuole ist für das Überleben der pflanzlichen Zelle von entscheidender Bedeutung. Die Transportsysteme am Tonoplasten erlauben, zusammen mit nachgeschalteten Prozessen innerhalb der Vakuole, eine Endlagerung von Toxinen. Das Cytoplasma als metabolisch aktives Kompartiment wird auf diese Weise geschützt, die hier stattfindenden Stoffwechselforgänge können unbehelligt ablaufen. Andere,

ABB. 8 DAS KONZEPT DER „GRÜNEN LEBER“



Entgiftung von Xenobiotica in der pflanzlichen Zelle. Ausführliche Beschreibung siehe Text.

möglicherweise noch nutzbare Stoffe können dagegen bei Bedarf wieder aus der Vakuole frei gesetzt werden. Die hierfür verantwortlichen Effluxprozesse aus Vakuolen sind jedoch, trotz ihrer großen Bedeutung, noch weitgehend unerforscht.

Von großer Bedeutung ist die Vakuole auch wegen der in ihr stattfindenden Einspeicherung von „Naturstoffen“. Diese Verbindungen, die hauptsächlich dem sekundären Pflanzenstoffwechsel entstammen, sind pharmazeutisch von Interesse, da sie die Verwendung der betreffenden Drogenpflanze für die Gewinnung von Aroma-, Genuss- oder Suchtmitteln erlauben. Für die Pflanze selbst sind sie bei der Pathogenabwehr und Entgiftung von Xenobiotika von Bedeutung, da die betreffenden Carriersysteme auch für pflanzenfremde Stoffe wie Herbizide und Agrochemikalien genutzt werden können. Angesichts dieser Vielzahl an Aufgaben ist das besondere Interesse, das an der vakuolären Beteiligung dieser Vorgänge besteht, verständlich. Züchtung und Selektion solcher Pflanzenarten, die über besonders effiziente und/oder spezifische Transporteigenschaften verfügen, wären somit von ökonomischer wie ökologischer Bedeutung. Da außerdem die exakten Ursachen, die nach einem Herbizideinsatz zum Zelltod führen, noch nicht erschöpfend geklärt sind, sollte die Fortführung der Untersuchungen zur vakuolären Beteiligung wichtige Informationen liefern. Dies gilt ebenso für die vermutlich vielfältiger als bisher angenommen ablaufenden Mechanismen zur zellulären Gesamtentgiftung.

Summary

The vacuole as a typical feature of plant cells plays an important role within intracellular digestion, storage of solutes, plant defence as well as signalling. For all these purposes, the surrounding biomembrane, the tonoplast, is equipped with different carriers allowing an efficient sequestration of a variety of solutes into the vacuolar lumen. They range from translocators for facilitated diffusion, proton symporters up to primarily energized pumps. They are used in dependence of the existing concentration and electrical gradient of the respective compound. Some of them are known to respond to environmental changes as salt surplus or variable nutrient supply. During the past two decades, research has led to a better although by far not sufficient understanding of the unique functions of the vacuole at a variety of levels, including stress responses and herbicide detoxification.

Literatur

- [1] E. Blumwald, A. Gelli, Secondary inorganic ion transport at the tonoplast in *The Plant Vacuole, Advances in Botanical Research* (Hrsg.: R. A. Leigh, D. Sanders, J. A. Callow), Vol. 25, Academic Press, London, New York, 1997, 401–418.
- [2] K.-J. Dietz et al., Amino acid transport across the tonoplast of vacuoles isolated from barley mesophyll protoplasts, *Plant Physiol.* 1990, 92, 123–129.
- [3] G. Kaiser, U. Heber, Sucrose transport into vacuoles isolated from barley mesophyll protoplasts, *Planta* 1984, 161, 562–568.
- [4] R. A. Leigh, Solute composition of vacuoles in *The Plant Vacuole, Advances in Botanical Research* (Hrsg.: R. A. Leigh, D. Sanders, J. A. Callow), Vol. 25, Academic Press, London, New York, 1997, 171–194.
- [5] U. Lüttge et al., Stress responses of tonoplast enzymes: an example for molecular ecophysiology and the search for coenzymes, *Acta Bot. Neerl.* 1995, 44, 343–362.
- [6] E. Martinoia et al., An ATP-dependent glutathione S-conjugate „export“ pump in the vacuolar membrane of plants, *Nature* 1993, 364, 247–249.
- [7] E. Martinoia, R. Ratajczak, Transport of organic molecules across the tonoplast in *The Plant Vacuole, Advances in Botanical Research* (Hrsg.: R. A. Leigh, D. Sanders, J. A. Callow), Vol. 25, Academic Press, London, New York, 1997, 366–400.
- [8] U. Matern, Die Isomerenfalle für Sekundärmetabolite, eine Alternative zum Ionenfallen-Modell, *Biologie in unserer Zeit* 1987, 17, 148–152.
- [9] P. Matile, Das toxische Kompartiment der Pflanzenzelle, *Naturwissenschaften* 1984, 71, 18–24.
- [10] P. Matile, The vacuole and cell senescence in *The Plant Vacuole, Advances in Botanical Research* (Hrsg.: R. A. Leigh, D. Sanders, J. A. Callow), Vol. 25, Academic Press, London, New York, 1997, 87–112.
- [11] C. J. Pollock, A. J. Cairns, Fructan metabolism in grasses and cereals, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 1991, 42, 77–101.
- [12] P. A. Rea et al., From vacuolar GS-X pumps to multispecific ABC transporters, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 1998, 49, 727–760.
- [13] P. A. Rea, D. Sanders, Tonoplast energization: two H⁺ pumps, one membrane, *Physiol. Plant.* 1987, 71, 131–141.
- [14] H. Sandermann, Plant metabolism of xenobiotics, *Trends Biochem. Sci.* 1992, 17, 82–84.
- [15] J. Willenbrink, Die pflanzliche Vakuole als Speicher, *Naturwissenschaften* 1987, 74, 22–29.
- [16] J. Willenbrink et al., Zuckeraufnahme in isolierte Vakuolen und Protoplasten aus dem Speichergewebe der Beta-Rübe, *Ber. Dt. Bot. Ges.* 1984, 97, 27–39.
- [17] M. Wink (1997) Compartmentation of secondary metabolites and xenobiotics in *The Plant Vacuole, Advances in Botanical Research* (Hrsg.: R. A. Leigh, D. Sanders, J. A. Callow), Vol. 25, Academic Press, London, New York, 1997, 141–170.

Die Autorin

Gudrun Hoffmann-Thoma, geb. 1958. Studium der Botanik, Zoologie und Physik an der Universität zu Köln. Diplom 1989 im Hauptfach Botanik. Promotion 1992 im Labor von Prof. Dr. J. Willenbrink, am Lehrstuhl III des Botanischen Instituts der Universität Köln. Von 1992 bis 1995 wissenschaftliche Mitarbeiterin an diesem Institut, DFG-Projekt zum Zuckermetabolismus und -transport im Zuckerhirse-Stängelparenchym, mit dem Schwerpunkt: Membrantransport an Plasmalemma und Tonoplast. Von 1995 bis 2000 wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Allgemeine Botanik, Justus-Liebig-Universität Giessen, Arbeitsgruppe Prof. Dr. A. J. E. van Bel. Forschungsrichtung: Metabolismus, intrazellulärer Transport und Phloembeladung von Zuckern unter dem Einfluss niedriger Temperaturen.

Anschrift

Dr. Gudrun Hoffmann-Thoma, Institut für Allgemeine Botanik und Pflanzenphysiologie, Justus-Liebig-Universität Giessen, Senckenbergstr. 17–21, D-35394 Giessen. E-mail: gudrun.hoffmann-thoma@bot1.bio.uni-giessen.de