

# Die Wirkung 2,3-substituierter Naphthochinone auf einzellige Algen und isolierte Spinatchloroplasten

The Effect of 2,3-Substituted Naphthoquinones on Unicellular Algae and Isolated Spinach Chloroplasts

Klaus Bauer und Helmut Köcher

Pflanzenschutzforschung Biologie H 872, Hoechst Aktiengesellschaft, Postfach 80 03 20, D-6230 Frankfurt/M. 80

Z. Naturforsch. **34 c**, 961–963 (1979); eingegangen am 7. Juni 1979

Phytotoxic Action of Naphthoquinones, 2,3-Substituted Naphthoquinones, Effect on Photosynthetic Electron Transport, Stimulation of Dark Respiration

Short term effects of 2-(C-dichloro-acetyl-amino)-3-chloro-1,4-naphthoquinone (Hoe 13465, quinonamid \*) and 2-amino-3-chloro-1,4-naphthoquinone (Hoe 17399, 06K-quinone) on cell suspensions of *Chlorella vulgaris*, *Anabaena flos aquae*, *Porphyridium cruentum*, and on isolated spinach chloroplasts were studied.

The results clearly show that both substances inhibit the photosynthetic O<sub>2</sub> production of algal suspensions as well as the electron transport of PS II in spinach chloroplasts. PS I is not inhibited by the action of the two algicides. At low concentrations quinonamid acts as a photosynthetic electron transport blocker, whereas Hoe 17399 is a weak inhibitor of photosynthetic electron flow. Mode of action of the two naphthoquinones is discussed.

Both naphthoquinone derivatives can operate as an electron acceptor for PS I at low concentrations (10<sup>-5</sup>–10<sup>-6</sup> M).

In addition there is observed a strong stimulation of dark respiration in algal cells induced by both of the compounds, Hoe 17399 causes a much higher stimulation rate than quinonamid does.

## Einleitung

Substituierte Naphthochinone greifen in vielfältiger Weise in den pflanzlichen Stoffwechsel ein [1 bis 6]. Neben einer Hemmung des photosynthetischen Elektronentransports [3, 5, 6] wird eine Beeinflussung der zyklischen, nicht zyklischen und pseudo-zyklischen Phosphorylierung beschrieben [4, 6].

Andere Autoren sehen die phytotoxische Wirkung substituierter Naphthochinone in deren Fähigkeit, reduzierte Di- und Triphosphornukleotide zu oxidieren und so die photosynthetische CO<sub>2</sub>-Fixierung zu unterbinden bzw. eine Steigerung der Dunkelatmungsrate hervorzurufen [2, 5].

Die beiden hier beschriebenen 2,3-substituierten Naphthochinone, Quinonamid und Hoe 17399 (06K-Chinon), sind chemisch sehr nahe verwandt. Bei pH-Werten um 8 und darüber hydrolysiert Quinonamid ziemlich rasch zu Hoe 17399. Unter-

halb pH = 7 bleibt Quinonamid jedoch über längere Zeit stabil. Die sehr ähnliche Struktur der Wirkstoffe legt die Vermutung nahe, daß beide Substanzen einen sehr ähnlichen Wirkungsmechanismus aufweisen. Deshalb sollen die vorliegenden Untersuchungen einen Beitrag zur Aufklärung der phytotoxischen Wirkungen von Quinonamid und Hoe 17399 bei Algensuspensionen und isolierten Spinat-Chloroplasten liefern.

## Material und Methoden

An Zellsuspensionen von *Chlorella vulgaris*, *Anabaena flos aquae* und *Porphyridium cruentum* wurde die photosynthetische O<sub>2</sub>-Entwicklung sowie die O<sub>2</sub>-Aufnahme im Dunkeln bei *Chlorella* gemessen. PS I- und PS II-Aktivitäten wurden an isolierten Spinat-Chloroplasten untersucht.

Zur Bestimmung der PS II-Elektronentransportraten wurde Ferricyanid (Kaliumhexacyanoferrat) als Elektronenakzeptor benutzt. Die PS I-Aktivität wurde mit Hilfe des Systems DPIP/Asc → PS I → MV → O<sub>2</sub>, wobei PS II durch DCMU gehemmt ist, bestimmt. Die O<sub>2</sub>-Aufnahme bzw. -Produktionsraten wurden polarographisch unter Benutzung einer Clark-Elektrode (Modell 53, YSI-Company, Yellow Springs) ermittelt.

Sonderdruckanforderungen an Dr. K. Bauer.

**Abkürzungen:** Asc, Ascorbat; DCMU, 3-(3,4-Dichlorphenyl)-1,1-dimethylharnstoff; DMF, Dimethylformamid; DPIP, Dichlorphenolindophenol; MV, Methylviologen; PS I, Photosystem I; PS II, Photosystem II.

\* Common name proposed by Hoechst AG.

0341-0382 / 79 / 1100-0961 \$ 01.00/0.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

2-(C-Dichlor-acetylamino)-3-chlor-1.4-naphthochinon (Quinonamid) und 2-Amino-3-chlor-1.4-naphthochinon (Hoe 17399) wurden in DMF gelöst und mit einer Mikrospritze während des Meßvorganges zudosiert.

Die Belichtung der Suspensionen erfolgte durch eine 100-W-Glühlampe mit einer Lichtstärke von ca. 30 000 erg/cm<sup>2</sup> sec.

## Ergebnisse und Diskussion

Quinonamid und Hoe 17399 hemmen die photosynthetische O<sub>2</sub>-Produktion von Algen aus den verschiedensten systematischen Klassen (Tab. I),

Tab. I. Photosynthesehemmung verschiedener Algensuspensionen durch substituierte Naphthochinone. I<sub>50</sub>-(pI<sub>50</sub>)-Werte. Phosphatpuffer 0,05 M, pH=6,2 mit 0,01 M Bicarbonat-Zusatz. 24 °C.

Alge	Quinonamid	Hoe 17399
<i>Chlorella vulgaris</i>	2×10 <sup>-6</sup> M (5,7)	5×10 <sup>-7</sup> M (6,3)
<i>Anabaena flos-aquae</i>	10 <sup>-6</sup> (6,0)	4,5×10 <sup>-6</sup> M (5,4)
<i>Porphyridium cruentum</i>	4,5×10 <sup>-8</sup> M (7,4)	6,5×10 <sup>-7</sup> M (6,2)

wobei *Porphyridium* besonders empfindlich gegenüber Quinonamid und *Anabaena* am unempfindlichsten gegenüber Hoe 17399 reagiert.

Abb. 1 gibt eine Zusammenfassung der Wirkung von Quinonamid und Hoe 17399 auf die Photosynthese von *Chlorella vulgaris* und auf den nicht zyklischen Elektronentransport vom Wasser zu Ferricyanid bei isolierten Spinachchloroplasten. Wie die Dosis-Effekt-Kurven zeigen, wird die photosynthetische O<sub>2</sub>-Entwicklung von *Chlorella* durch die steigende Algizidkonzentration immer stärker gehemmt, bis die apparente Photosyntheserate vollständig verschwunden ist. Wird die Wirkstoffkonzentration danach noch weiter gesteigert, so ist eine O<sub>2</sub>-Aufnahme der Algenzellen im Licht zu beobachten. Hoe 17399 löst dabei eine wesentlich höhere O<sub>2</sub>-Aufnahmerate aus als Quinonamid.

Der offenkettige Elektronentransport über PS II wird durch beide Substanzen gehemmt. Dabei erweist sich Hoe 17399 als relativ schwacher Elektronentransport-Inhibitor (pI<sub>50</sub>=4,7) während Quinonamid mit einem pI<sub>50</sub>-Wert von 5,7 den Elektronentransport über PS II erheblich stärker hemmt.

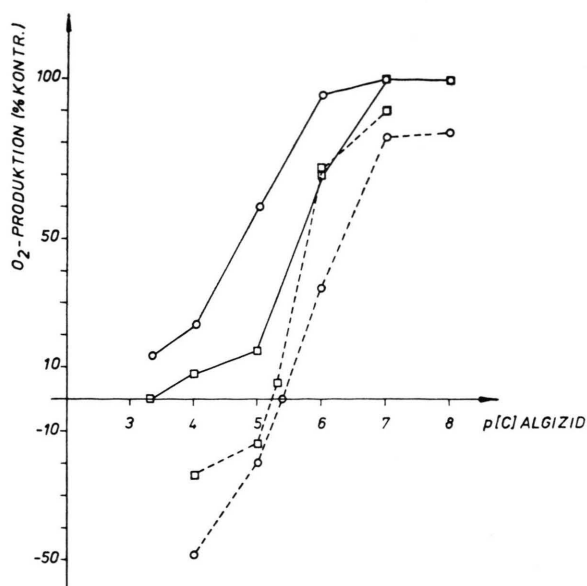


Abb. 1. Vergleich der Dosis-Effekt-Kurven der Photosynthesehemmung bei *Chlorella vulgaris* (□ --- □ --- □ Quinonamid; ○ --- ○ --- ○ Hoe 17399) und der Hemmung der PS II-Aktivität bei isolierten Spinachchloroplasten (□ — □ — □ Quinonamid; ○ — ○ — ○ Hoe 17399). Phosphatpuffer 0,05 M, pH=6,8.

Ein Vergleich der beiden Kurvenpaare macht deutlich, daß im Falle von Quinonamid die Hemmkurven von Photosynthese und PS II-Elektronentransport nahe beieinander liegen, während Hoe 17399 einen viel zu schwachen Elektronentransportblocker darstellt, um die starke Wirkung auf die Algenphotosynthese durch eine Elektronentransporthemmung hervorzurufen.

Diese Beobachtungen lassen den Schluß zu, daß

1. Quinonamid über eine Hemmung des photosynthetischen Elektronentransports algizid wirkt und
2. Hoe 17399 die Algenphotosynthese durch einen anderen, wesentlich stärker wirksamen Prozeß zerstört.

PS I wird durch die Einwirkung von Quinonamid und Hoe 17399 in Konzentrationen, bei denen die Algenphotosynthese schon vollständig gehemmt ist, nicht gehemmt (Tab. II). Es findet im Gegenteil sogar eine leichte Stimulation des Elektronentransportes über PS I statt.

Wird im Reaktionssystem DPIP/Asc → PS I → MV → O<sub>2</sub> der spezifische Akzeptor MV durch eines der beiden Naphthochinone ersetzt, so ist bei Belichtung ebenfalls eine PS I-Reaktion zu messen.

Tab. II. Einfluß von Quinonamid und Hoe 17399 auf die PS I-Reaktion von Spinatchloroplasten und die Dunkelatmung von *Chlorella*-Zellen. PS I-Meßmedium nach [11]. Meßmedium für Dunkelatmung: Phosphatpuffer 0,05 M, pH=6,2 mit 0,2% Glukose. 24 °C.

Präparat	Algizid-Konzentration [M]	PS I-Reaktion Spinatchloroplasten	Dunkelatmung <i>Chlorella</i>
Kontrolle		100	100
MV + Quinonamid	10 <sup>-6</sup>	104	—
MV + Hoe 17399	10 <sup>-5</sup>	130	—
Quinonamid	10 <sup>-6</sup>	50	100
Quinonamid	10 <sup>-5</sup>	—	160
Quinonamid	10 <sup>-4</sup>	—	200
Hoe 17399	10 <sup>-6</sup>	59	154
Hoe 17399	10 <sup>-5</sup>	109	214
Hoe 17399	10 <sup>-4</sup>	—	300

Diese Fähigkeit von Quinonamid und Hoe 17399 hinter PS I Elektronen aus der Elektronentransportkette auszuschleusen und diese auf O<sub>2</sub> zu übertragen, wurde bereits für andere 2,3-substituierte Naphthochinone nachgewiesen [1, 4, 6].

Neben den Wirkungen auf lichtabhängige Reaktionen in der Photosynthese zeigen Quinonamid und Hoe 17399 einen Effekt auf die Dunkelatmung von *Chlorella*-Zellen (Tab. II). Die O<sub>2</sub>-Aufnahme der Zellen im Dunkeln wird durch Zugabe der beiden

Naphthochinone erheblich stimuliert. Dabei ist die Wirkung von Hoe 17399 wesentlich stärker als Quinonamid, was auch mit den Beobachtungen bei der O<sub>2</sub>-Aufnahme im Licht korrespondiert.

Starke Photosynthesehemmung, O<sub>2</sub>-Aufnahme der behandelten Zellen im Licht, Atmungsstimulierung und Katalyse der PS I-Reaktion sind bekannte Wirkungen von Dipyridylium-Herbiziden [7–10], welche ihre phytotoxische Wirkung durch Bildung von Peroxidradikalen entfalten.

Die vorliegenden Daten zeigen jedoch, daß lediglich Hoe 17399 einen den Dipyridylium-Verbindungen ähnlichen Reaktionsmechanismus aufweisen könnte, wohingegen Quinonamid durch die Blockierung des photosynthetischen Elektronentransportes, wie für ähnlich substituierte Chinone bereits beschrieben [3], phytotoxisch wirkt. Erst in höheren Konzentrationen tritt die Reduktion des Moleküls durch die Elektronentransportkette und anschließende Autoxidation unter Peroxidbildung in den Vordergrund. Das relativ hohe Redoxpotential von etwa –125mV des Hoe 17399 [6] läßt jedoch auch die Interpretation zu, daß der Wirkstoff NADPH bzw. NADH direkt katalytisch oxidieren kann, wie das bereits für andere Naphthochinone postuliert wurde [4].

- [1] D. H. Cho, L. Parks, and G. Zweig, *Biochim. Biophys. Acta* **126**, 200–206 (1966).
- [2] G. Zweig, J. E. Hitt, and D. Cho, *Progr. in Photosynth. Res.*, **Vol. III** 1728–1736 (1969)
- [3] H. K. Lichtenthaler and K. Pfister, *Photosynthetic Oxygen Evolution*, H. Metzner (ed.), 171–193, Academic Press, London, New York and San Francisco 1978.
- [4] G. Zweig, J. E. Hitt, and D. Cho, *J. Agr. Food Chem.* **17**, 176–181 (1969).
- [5] G. Zweig, J. E. Hitt, and R. Mc Mahon, *Weed Science* **16**, 69–73 (1968).
- [6] C. C. Black, Jr. and L. Myers, *Weed Science* **12**, 331–338 (1966).
- [7] B. C. Baldwin, *Progr. Photosynth. Res.*, **Vol. III**, 1737–1741 (1969).
- [8] J. S. Turner, D. M. Stokes, and L. B. Gilmore, *Aust. J. biol. Sci.* **23**, 43–61 (1970).
- [9] D. M. Stokes and J. S. Turner, *Aust. J. biol. Sci.* **24**, 433–447 (1971).
- [10] A. Calderbank, *Proc. 7th. Brit. Weed Contr. Conf.*, 312–320 (1964).
- [11] H. Strotmann and Ch. v. Gösseln, *Z. Naturforsch* **27 b**, 445–455 (1972).