

Versuch 3

Lokalisation und Mobilität der Assimilationsprodukte in Blättern von C₃- und C₄-Pflanzen

Till Biskup

Matrikelnummer: 155567

06. Juli 2000

1 Aufgaben

1. Die Zuckergehalte in $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ Frischmasse (Saccharose und Glucose) der untersuchten belichteten und unbelichteten Blattsegmente werden in der beiliegenden Ergebnistabelle berechnet.
2. Interpretieren Sie die Verteilung der Zucker auf die unbelichteten und belichteten Blatteile im Zusammenhang mit Ihren Kenntnissen über die Entstehung der Saccharose und der Hexosen.
3. Das Ergebnis der Jod-Stärkefärbung wird für beide Arten skizziert und beschrieben (Verteilung auf die belichtete und unbelichtete Region, Verteilung auf Mesophyll und Leitbündel, Epidermiszellen und Stomata).
4. Interpretieren Sie die Lokalisation der Stärke in den Blättern von Mais (C₄-Pflanze) und Weizen (C₃-Pflanze), beziehen Sie die Spaltöffnungen in die Überlegungen mit ein.

2 Meßergebnisse

Zuckerbestimmung

Frischgewichte und Volumina EtOH/H₂O

| <i>m</i> / g | unb. apikal | unb. distal | bel. apikal | bel. distal |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Gläser | 12.71 | 12.88 | 12.80 | 12.68 |
| Gläser + Pflanzen | 13.34 | 13.65 | 13.18 | 13.73 |
| Frischgewicht | 0.63 | 0.77 | 0.38 | 1.05 |
| <i>V</i> / ml | | | | |
| EtOH | 1.26 | 1.54 | 0.76 | 2.10 |
| H ₂ O | 11.34 | 13.86 | 6.84 | 18.90 |

| Extinktion | | | | | |
|----------------------|-------|--------|-------|----------------|-------|
| Blindwert | 0.000 | Glc. 1 | 0.099 | Sacc. + Glc. 1 | 0.106 |
| Standard | 0.361 | Glc. 2 | 0.282 | Sacc. + Glc. 2 | 0.399 |
| Standard | 0.339 | Glc. 3 | 0.519 | Sacc. + Glc. 3 | 0.538 |
| \bar{x} (Standard) | 0.350 | Glc. 4 | 0.521 | Sacc. + Glc. 4 | 0.599 |

3 Berechnungen

Konzentration x

$$\frac{E_A}{x} = \frac{\bar{E}_{\text{Std.}}}{0.25}$$

$$x = \frac{E_A \cdot 0.25}{\bar{E}_{\text{Std.}}}$$

Konzentration C unter Einrechnung der Verdünnung

$$C = x \cdot 20.9$$

| Konzentrationen $C / \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ | | | | | |
|---|-------|----------------|-------|---------|-------|
| Glc. 1 | 1.478 | Sacc. + Glc. 1 | 1.582 | Sacc. 1 | 0.104 |
| Glc. 2 | 4.210 | Sacc. + Glc. 2 | 5.957 | Sacc. 2 | 1.747 |
| Glc. 3 | 7.748 | Sacc. + Glc. 3 | 8.032 | Sacc. 3 | 0.284 |
| Glc. 4 | 7.778 | Sacc. + Glc. 4 | 8.942 | Sacc. 4 | 1.164 |

4 Diskussion

4.1 Zuckerverteilung

Meßprinzip Glucose reagiert mit Glucoseoxidase (GOD) unter Bildung von H_2O_2 , das stöchiometrisch mit o-Dianisidin zu einem rötlich gefärbten Komplex oxidiert, dessen Extinktion bei 450 nm gemessen wird. Saccharose muß zur Messung vorher enzymatisch durch Invertase gespalten werden. Da nur die entstehende Glucose erfaßt wird, ist zur Ermittlung ihrer Konzentration kein Faktor notwendig.

4.1.1 Mais dunkel

Es läßt sich ein deutliches Konzentrationsgefälle für Saccharose von distal nach apikal feststellen. Saccharose — die Transportform für Kohlenhydrate in der Pflanze — wird von Orten der Bildung (*source*) zu Orten des Verbrauches (*sink*) transportiert. Aus den Meßergebnissen ergibt sich ein Saccharosefluß von apikal nach distal, der distale Blatteil stellt somit ein Ort des Verbrauches (*sink*) dar.

4.1.2 Mais belichtet

Prinzipiell gilt für die Zuckerverteilung das schon für den im Dunkeln gehaltenen Mais besprochene. Unterschiede sind zum einen der viel höhere Glucoseanteil im Blatt und zum anderen deren Verteilung, die im Gegensatz zu den komplett dunkel gehaltenen Maispflanzen für die apikalen (belichteten) und distalen (abgedeckten) Blatteile fast identisch ist.

4.2 Jod–Stärke–Färbung

4.2.1 Mais

unbelichtet

- keine Anfärbung
- Stomata mit gut sichtbaren, einzelnen, angefärbten Chloroplasten

belichtet

- Bündelscheidenzellen um die Leitbündel und Phloemanastomosen stark angefärbt
- Mesophyll nicht gefärbt
- Stomata mit gut sichtbaren, einzelnen, angefärbten Chloroplasten

4.2.2 Weizen

unbelichtet

- keine Anfärbung
- Stomata mit gut sichtbaren, einzelnen, angefärbten Chloroplasten
- Chloroplasten des Palisadenparenchyms über den gesamten Zellquerschnitt verteilt

belichtet

- sowohl Palisaden– als auch Schwammparenchym mit deutlich angefärbten Chloroplasten
- Chloroplasten des Palisadenparenchyms randständig
- Stomata mit gut sichtbaren, einzelnen, angefärbten Chloroplasten

4.3 Lokalisation der Stärke

4.3.1 Mais

Die Blätter der Maispflanze weisen, da es sich um eine C_4 -Pflanze handelt, Kranzanatomie auf: Es gibt weder Palisaden– noch Schwammparenchym, sondern nur als Mesophyll bezeichnetes lockeres Gewebe und um die Leitbündel angeordnete Bündelscheidenzellen. In den Mesophyllzellen wird CO_2 zunächst in Form von C_4 -Säuren (Malat, Oxalacetat) fixiert und von dort in die Bündelscheidenzellen transportiert, wo das freigesetzte CO_2 durch das Enzym RUBISCO im CALVIN–Cyclus fixiert wird. Mit diesem funktionellen Unterschied zwischen Mesophyll und Bündelscheide geht ein Chloroplasten–Dimorphismus einher.

unbelichtet Die unbelichteten Blätter bzw. Blatteile weisen keine Anfärbung auf, einzig die Stärkekörner in den Chloroplasten der Schließzellen der Stomata sind angefärbt. Das liegt darin begründet, daß die Öffnungsbewegung der Schließzellen ein aktiver Vorgang¹ ist. Die Stärke dient als Energiespeicher für den Fall, daß der Porus zwischen den Schließzellen geöffnet werden muß, wenn keine Photosynthese möglich ist.

¹Diskutiert wird ein aktiver Protonenexport aus den Schließzellen, der von einem passiven Kalium–Einstrom kompensiert wird. Der pH–Wert wird eventuell durch die Dissoziation von Äpfelsäure zu Malat konstant gehalten.

belichtet Da nur in den Chloroplasten der Bündelscheidenzellen der CALVIN–Cyclus abläuft, wird nur hier Stärke gebildet, die sich mit LUGOLScher Lösung durch Schwarzfärbung nachweisen läßt. Aus der Anfärbung der Phloemanastomosen läßt sich erkennen, daß auch diese von Bündelscheidenzellen umgeben sind, die CO₂ mittels CALVIN–Cyclus fixieren und Stärkekörner als Speicher beinhalten.

Für die Stomata gilt gleiches wie bei den unbelichteten Blättern bzw. Blatteilen.

4.3.2 Weizen

Die Blätter des Weizens — einer C₃–Pflanze — weisen eine morphologische Unterteilung ihres Parenchyms in Palisaden– und Schwammparenchym auf. Ersteres besteht aus senkrecht zur Blattoberfläche stehenden langgestreckten Zellen, die einen hohen Chloroplastengehalt aufweisen, letzteres aus lockerem, morphologisch mit dem Mesophyll der C₄–Pflanzen vergleichbaren Gewebe mit unterschiedlich großen Interzellularräumen.

Im Gegensatz zu den C₄–Pflanzen gibt es hier keine stoffwechselphysiologische Aufgabenteilung der Gewebe, alle Chloroplasten fixieren das CO₂ direkt im CALVIN–Cyclus.

unbelichtet Im unbelichteten Zustand der Blätter ergibt sich, abgesehen von den histologischen Besonderheiten, ein mit dem unbelichteten Mais vergleichbares Bild. Besonderes Augenmerk sei auf die Anordnung der Chloroplasten in den Zellen des Palisadenparenchyms gelegt: Sie sind über den gesamten Zellquerschnitt verteilt.

belichtet Da es, wie angesprochen, keine stoffwechselphysiologische Aufgabenteilung der Gewebe gibt, sind in beiden Geweben die Chloroplasten deutlich angefärbt. Im Unterschied zu den unbelichteten Blatteilen sind die Chloroplasten hier in den Palisadenparenchym–Zellen randständig angeordnet, eine Adaptation an das Starklicht, die eine Schädigung der Chloroplasten² zu verhindern hilft.

Für die Stomata gilt das schon beim Mais gesagte.

Fehlerbetrachtung

Die beobachteten Effekte lassen sich zwanglos durch die gängigen Hypothesen erklären und stehen in keinem Widerspruch zu diesen. Da es sich bei allen Meßwerten um Einzelwerte ohne jede statistische Aussagekraft handelt, kann auf mögliche Fehler und deren Quellen nur sehr allgemein eingegangen werden, ohne ihren Einfluß nennen zu können.

Sicherlich hängt das Ergebnis der Zuckerbestimmung sehr wesentlich von der Genauigkeit des Pipettierens ab, da Photometer im allgemeinen sehr empfindliche Meßinstrumente sind. Die gute Erklärbarkeit der Ergebnisse läßt jedoch mangels Vergleich mit anderen Werten schließen, daß die Genauigkeit bei diesem Versuch für eine erste Übersicht über mögliche Zusammenhänge ausreichend war.

²insbesondere durch bei überschüssiger Lichtenergie entstehende Pigmentradikale und aktive Sauerstoff–Species, vgl. JACOB ET AL. (1994): Botanik. Gustav Fischer, Jena