



Nachweis der Stärkebildung in grünen Blättern unter Lichteinwirkung

EXP I
FOTO-
SYNTHESE

Was stellen Pflanzen eigentlich unter Lichteinwirkung her? Was ist das Hauptprodukt der Fotosynthese (bzw. der "Lichtsynthese" oder lichtabhängigen Synthese)?

Aufwand: mittel	Material: mittel	Zeit: mittel-lang	Experimenttyp: S-I-Stufe	Anspruch: mittel
---------------------------	----------------------------	-----------------------------	------------------------------------	----------------------------

Kontext

Foto-Synthese bedeutet ja "Synthese unter **Lichteinwirkung**". Als Produkte der Fotosynthese sind zunächst die in der Lichtreaktion entstandenen **Wasserstoffträger (H:-Überträger bzw. Elektronen-Überträger) NADPH/H⁺** und die biologische Energiewährung **ATP** zu erwähnen, die aber mit einfachen schulischen Mitteln experimentell nicht fassbar sind. Als leicht nachweisbare Produkte sind die unter Verbrauch von ATP und NADPH/H⁺ in der Dunkelreaktion (= Calvin-Zyklus) gebildeten **Kohlenhydrate (CH₂O)**, vor allem **Stärke** ("Polyglucose": Glu-Glu-Glu- ... -Glu, n = 1'200 bei Amylose und bis zu 12'000 bei Amylopektin), in seltenen Fällen auch direkt **Traubenzucker** (Glukose C₆H₁₂O₆) experimentell interessant (Abb. 6.1). Die Kohlenhydrate sind Schlüsselsubstanzen nicht nur für die Pflanzen selbst (autotrophe Ernährer), sondern vielmehr noch für die von ihnen vollständig abhängigen Konsumenten Tier und Mensch (heterotrophe Ernährer).

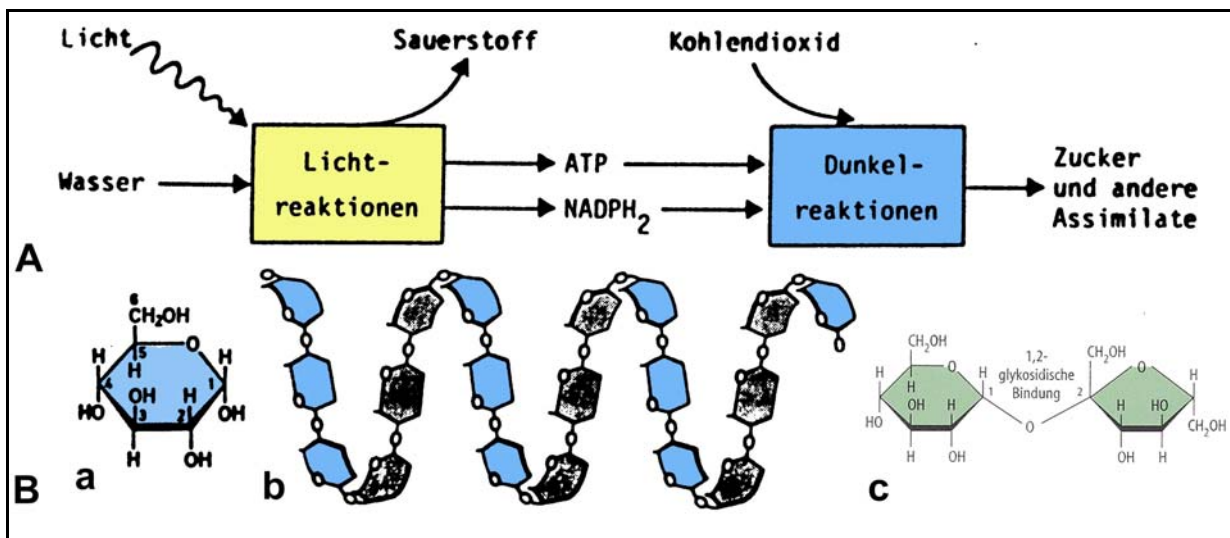


Abb. 6.1: Pflanzliche Kohlenhydrate als Fotosyntheseprodukte.

A: Stark vereinfachtes Fotosynthese-Schema. **B:** Strukturformeln der wichtigsten Fotosynthese-Produkte (**a:** Traubenzucker [Glucose], **b:** Stärke [Amylose], **C:** "Zucker" = Haushaltzucker [Saccharose], bestehend aus Glucose und Fruchtzucker [Fructose]). Stärke ist die Speicherform der Kohlenhydrate, Glucose ist der wichtigste Ausgangsstoff für Reaktionsketten und **c:** Saccharose (der "Zucker", Haushaltzucker) ist die Transportform der Kohlenhydrate.

Ziel



Mit diesem grundlegenden Experiment soll einerseits eine Grundbedingung der Fotosynthese, nämlich die Notwendigkeit des Lichtes mit Hilfe der "Schablonentechnik" veranschaulicht und andererseits ein wichtiges Produkt der Fotosynthese, die Bildung von Stärke nachgewiesen werden.

Material

Glaswaren/Geräte/ Materialien	grosse Petrischalen, bzw. Entwicklerschalen, evtl. Tauchsieder, 2 grosse Bechergläser, Schere, Stativ, Klammer, Muffe, elektrische Heizplatte, Handschuhe (zum Schutz vor heissen Alkoholdämpfen)
Verbrauchsmaterial	Siedesteinchen, div. Schablonen, Pasteurpipetten mit Gummihütchen, Büroklammern, Aluminiumfolie
Chemikalien	Wasser, Lugolsche Iodlösung (KI.I.), Ethanol (Brennsprit, bzw. Industriesprit), evtl. Aceton für kalte Pigmentextraktion (≥ 20 min extrahieren)
Biologische Objekte	Pflanzen mit flächig entwickelten Blättern, z.B. <u>Buntnessel</u> (<i>Coleus blumei</i>), ideal mit verschiedenen Pigmentmustern (sog. panaschiert), z.B. grün - rot, grün - weiss, grün - rot - weiss), Kapuzinerkresse (<i>Tropaeolum majus</i>), Zimmerlinde (<i>Sparmannia africana</i>), Gartenbohne (<i>Phaseolus vulgaris</i>), auch Geranien, Tabak, Freilandpflanzen: Weinrebe (sehr schöne Resultate!!), Flieder, Holunder, Rotbuche (<i>Fagus sylvatica</i>), Ahorn u.v.a.

Durchführung

I. "Aushungern" der Versuchspflanze:

Variante 1: Eine kräftig entwickelte Zimmerpflanze wird mehrere Tage vor Versuchsbeginn gut gewässert im Dunkeln gehalten (z.B. durch Einsperren in Schrank, optimal mindestens 1 Woche).

Hinweis: Alle Blätter sind dann stärkefrei und entsprechen "Dunkelblättern" (vgl. Variante 2: vollständig eingehüllte Blätter).

Variante 2: mind. 3 Tage vor Versuchsbeginn werden die zu untersuchenden Blätter (mindestens aber vier: zwei Kontrollblätter ("Dunkelblatt") und zwei Versuchsblätter ["Licht-" bzw. "Schablonenblatt"])

- vollständig (= Dunkelblatt)

- bzw. gar nicht (= Lichtblatt)

- oder teilweise (= Schablonenblatt, vgl. Anregungen zur Schablonengestaltung, Pkt. 2)

mit Aluminiumfolie eingehüllt.

Hinweis: im Dunkeln wird die in den Chloroplasten vorhandene Stärke wieder in Zucker umgewandelt, ins Cytosol abtransportiert und von dort an verschiedenen Orte der Pflanze abtransportiert, teilweise veratmet und/oder für Synthesen anderer Pflanzenstoffe verbraucht. Die verdunkelten bzw. umhüllten und damit lokal verdunkelten Blätter werden dadurch stärkefrei!

2. Anlegen der Schablonen:

Variante 1: Die Blätter der im Dunkeln gehaltenen Versuchspflanze werden wie folgt behandelt:

Blatt 1: vollständig mit Alufolie einhüllen = "Dunkelblatt"

Blatt 2: ohne Abdeckung, einfach belassen = "Lichtblatt"

Blatt 3: mit einer enganliegenden Schablone aus Alufolie bedecken = "Schablonenblatt" (vgl. Abb. 7.1), mind. 3 Tage belichten

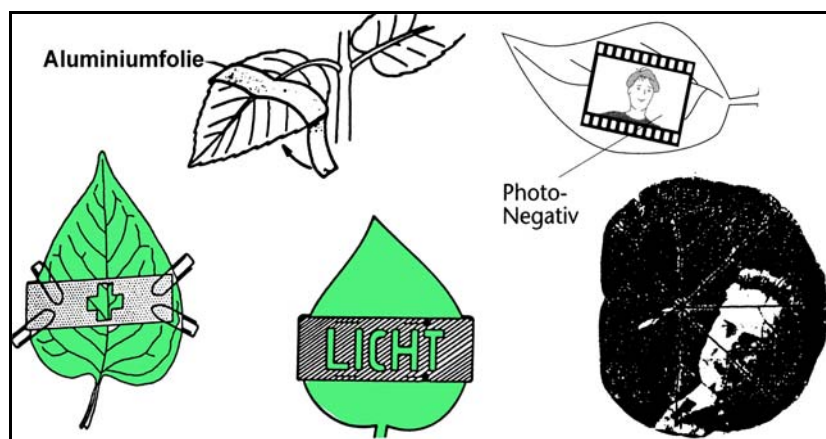


Abb. 7.1: Schablonenideen: Streifenschablone, Kreuzschablone, Buchstabenschablone, Foto-Negativschablone.

Schablonenvariationen: Streifenabdeckung, linke oder rechte Blatthälfte abdecken, vordere Hälfte des Blattes abdecken, Schablone mit ausgestanzten Buchstaben, "hartes" kontrastreiches schwarz-weiß-Fotonegativ (nur mit Kapuzinerkresse möglich!). Die Schablonen müssen sehr eng anliegen und sowohl Blattoberseite wie Blattunterseite abdecken! Vorsichtig mit Büroklammern oder Klebeband fixieren (vgl. Abb. 7.1).

Variante 2: Die Blätter werden schon von Anfang an mit Schablonen bedeckt und dann dem Licht ausgesetzt!

3: Belichtung der Versuchspflanzen:

Zimmerpflanzen: Die Versuchspflanzen werden einen bis zwei Tage lang entweder künstlich belichtet (z.B. mit 60-100 W Spotlampe, an Stativ befestigt oder an die Sonne gestellt).

Tipps: Vorsicht bei künstlicher Beleuchtung vor zuviel Wärme: genügend Abstand zwischen Lampe und Pflanze einhalten.

Freilandversuch: Bei Versuchen mit Freiland wachsenden Pflanzen (z.B. Bäume, Weinreben) sollten mindestens zwei sonnige Tage dem Stärkenachweis vorangehen!

4: Nachweis von Stärke:

4.1: Blätternte:

Licht-, Schatten- und Schablonenblätter abschneiden und sämtliche Schablonen entfernen.

4.2: Abtötung Blattmaterial:

In kochendem Wasser (z.B. grosses Becherglas, 1/3 wassergefüllt, mit Tauchsieder erhitzen; oder: Dreifuss mit Bunsenbrenner [Siedesteinchen ins Wasser!]) Blätter während 1 - 5 min abtöten, bis die Blätter optisch vollkommen schlaff sind

(Erklärung: Zellmembranen werden dadurch durchlässig für Alkohol [—> Pigmentextraktion] und Iodlösung [—> Stärkenachweis], vgl. Abb. 8.1).

4.3: Pigmentextraktion:

Pigmentextraktion durch Einlegen in heissen Alkohol (Brennsprit in grossem Becherglas, ca. 3 cm hoch) mit 3-4 Siedesteinchen auf der Heizplatte vorsichtig erhitzen): Blattmaterial sollte möglichst farblos werden.

4.4: Blattwässerung:

Das durch den Alkohol steif gewordene Blattmaterial (Wasserentzug —> Fixierung der Eiweisse!) Mit einer langen Pinzette aus dem siedenden Alkohol herausnehmen (Hände durch Handschuhe vor den heissen Alkoholdämpfen schützen!) wird in einer flachen Glasschale im Leitungswasser gewässert, bis es wieder schlaff bzw. weich wird.

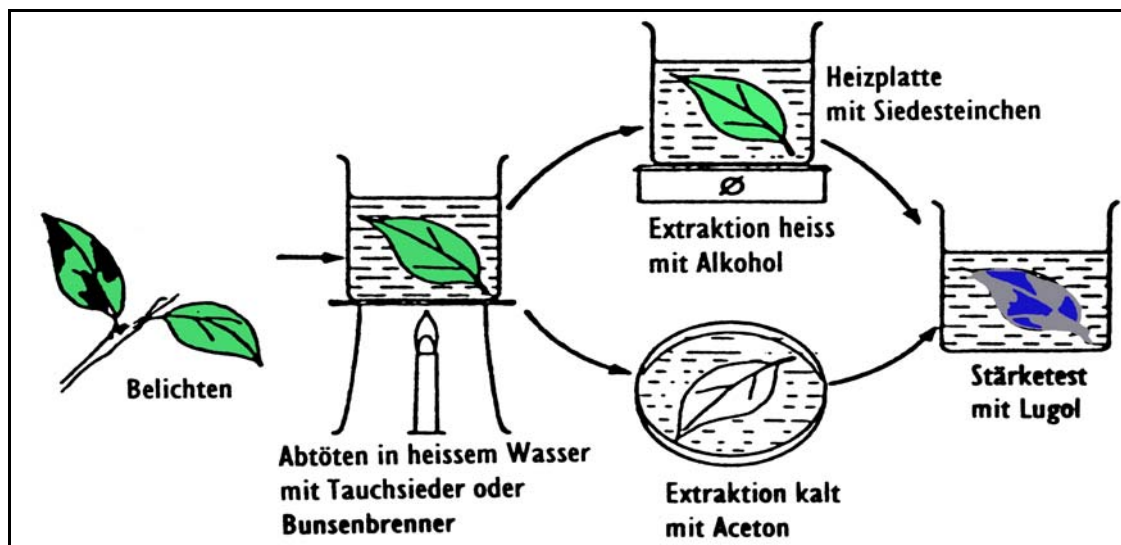


Abb. 8.1: Versuchsansatz zur Pigmentextraktion.

Warm: rasche Extraktion mit heissem Alkohol (Ethanol); kalte Extraktion auch mit Aceton möglich, braucht aber viel Zeit.

4.5: Ausspreitung Blatt:

Das im Wasser flotierende Blatt wird mit zwei bis drei Fingern in der Glasschale fixiert, um anschliessend vorsichtig das Wasser abgiessen zu können: das Blatt sollte vollkommen ausgefaltet und plan in der Glasschale liegen.

Alternative: das Wasser mit einer Pipette bzw. grossen Kunststoffspritze absaugen.

4.6: Stärkenachweis:

Durch vollständiges Betropfen mit Lugolscher Lösung aus einer Pasteurpipette wird das Blattmaterial "entwickelt". Nach einigen Minuten Einwirkungszeit sollte die Iodlösung vorsichtig mit Wasser abgespült werden.

Die Petrischale wird anschliessend gegen das Licht gehalten, wobei die Stärkemenge an der Schichtdicke grob abgeschätzt werden kann (d.h. aufgrund der Farbintensität und Transparenz kann beurteilt werden, wo und wieviel Stärke es hat).

5. Auswertung:

- 5.1: Skizzen: Stärkeverteilung in Licht-, Dunkel- und Schablonenblätter zeichnerisch festhalten.
- 5.2: Ausstellung: Auf weissem Papierhintergrund Petriglasschalen mit den Lugol-behandelten Blättern "ausstellen" und oben an der Petrischale jeweils das entsprechende Coleus-Blatt platzieren
- 5.3: Interpretation: Versuchen Sie jetzt in dieser überblickbaren Anordnung die Resultate zu interpretieren (z.B. Wo und unter welchen Bedingungen hat sich Stärke gebildet? Wieviel Stärke hat sich gebildet [Intensität der schwarzen bis blauvioletten Färbung])?

Protokollblatt:

Stärkenachweis an Std. verdunkelten Blättern einer		
Pflanzenblatt:	Ergebnis:	Skizze:
Lichtblatt		
Dunkelblatt		
Schablonenblatt		