

## 1. Nachweis des nichtzyklischen Elektronentransports mit NBT in Blattschnitten von C-3- und C-4-Pflanzen

Der Redox-Indikator Nitroblau-Tetrazoliumchlorid (NBT) ist im oxidierten Zustand wasserlöslich und kann in dieser Form in pflanzliche Zellen eindringen. Aufgrund seines Redoxpotentials kann er anstelle des natürlichen terminalen Elektronenakzeptors NADP<sup>+</sup> die Elektronen aus dem nichtzyklischen e<sup>-</sup>-Transport abfangen; im reduzierten Zustand fällt NBT als schwarzer unlöslicher Niederschlag aus und markiert so in den Zellen und Geweben den Ort der Reaktion.

### Material:

- Pflanzen von Gerste (*Hordeum vulgare*) und Mais (*Zea mays*)
- Rasierklingen
- Holundermark oder Styropor
- Mikroskope
- Objektträger und Deckgläser

### Lösungen:

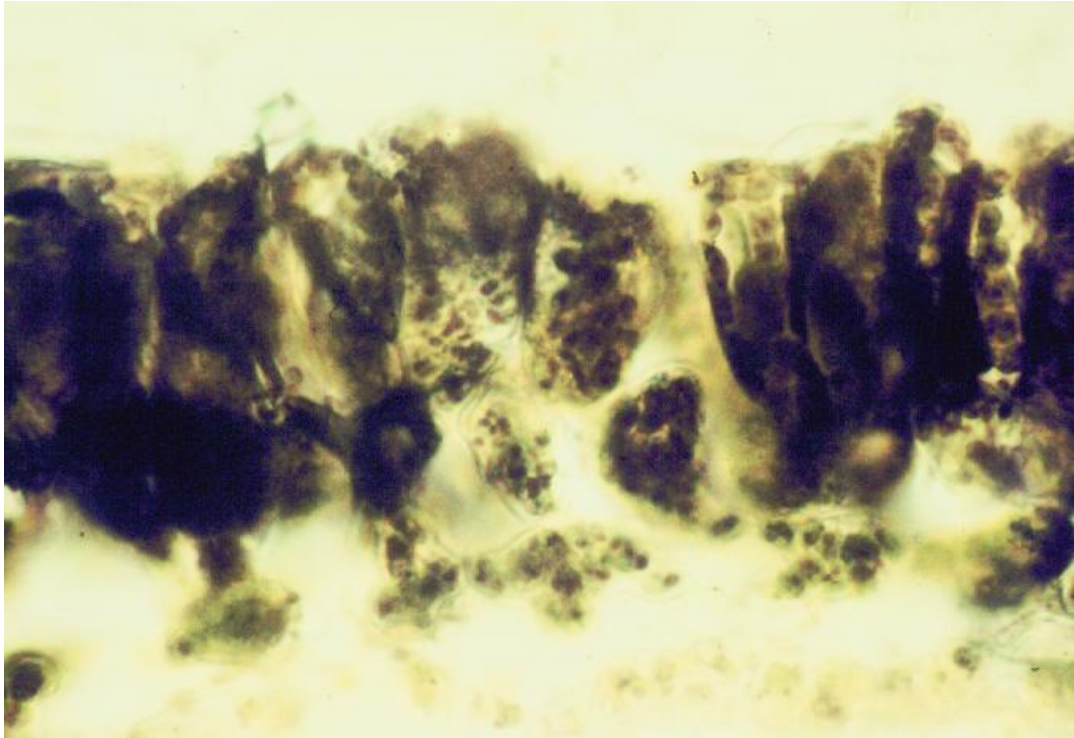
- (1) Puffer: 50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + 250 mM Saccharose mit KOH auf pH 6,2 einstellen
- (2) 1 mg/ml NBT in Puffer (1)

### Durchführung:

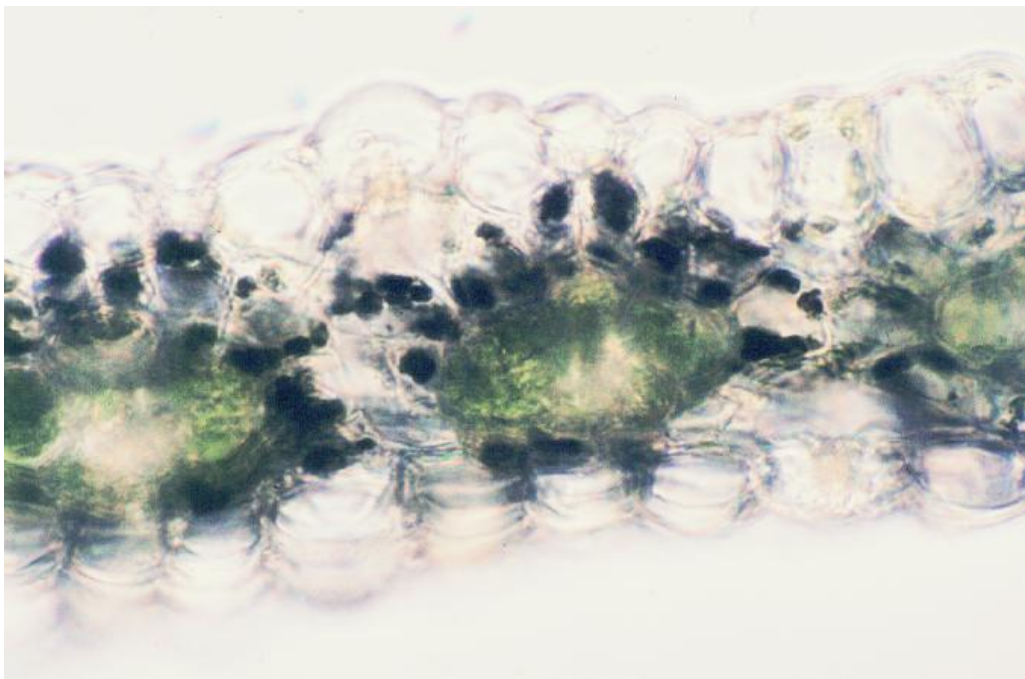
- Mit einer (neuen) Rasierklinge und Holundermark (ersatzweise auch Styroporblöckchen) werden dünne Querschnitte von Blättern von *Hordeum vulgare* (C3-Pflanze) und *Zea mays* (C4-Pflanze) hergestellt und in einigen Tropfen NBT-Lösung inkubiert.
- Die Schnitte werden zunächst im Mikroskop bei schwacher Beleuchtung beobachtet. Hat man eine möglichst dünne Stelle des Schnittes gefunden, schaltet man die Mikroskoplampe auf Starklicht.
- Nach einigen Minuten zeigt eine Dunkelfärbung die Reduktion des Farbstoffes und damit den Ort der nichtzyklischen Photophosphorylierung an.

### Aufgaben:

- Vergleichen Sie die räumliche Kompartimentierung bei den verschiedenen Blattpen.
- Wo ist die NBT-Reduktion zuerst sichtbar bzw. an welchen Stellen ist die Färbung am intensivsten?



Gerste (C3-Pflanze) nichtzyklischer Elektronentransport mit NBT gefärbt



Mais (C4-Pflanze) nichtzyklischer Elektronentransport mit NBT gefärbt; nur Leitbündelscheidenzellen

## 2. Nachweis von assimilatorischer Stärke in Blattsnitten von C-3- und C-4-Pflanzen (nach unterschiedlicher Belichtung)

Aus Gründen des chemischen Gleichgewichtes und der osmotischen Belastung wird das Primärprodukt der Photosynthese Triosephosphat in den Chloroplasten in transitorische Stärke umgebaut und dort bis zum Austransport gelagert. Diese Stärke kann mit Lugol'scher Lösung ( $J_2/KJ$ ) nachgewiesen werden.

### Material:

Pflanzen von Gerst (*Hordeum vulgare*) und (*Zea mays*), jeweils für mindestens drei Tage im Dunkeln bzw. in der Klimakammer bei starker Beleuchtung vorbereitet.

Rasierklingen

Holundermark oder Styropor

Mikroskope

Objektträger und Deckgläser

### Lösungen:

(1) Lugol'sche Lösung (= Stammlösung):

2 g KJ und anschließend 1 g  $J_2$  werden in 100 ml dest.  $H_2O$  gelöst

(2) Färbelösung: Stammlösung (1) für die Färbung 1:10 mit dest.  $H_2O$  verdünnen.

### Durchführung:

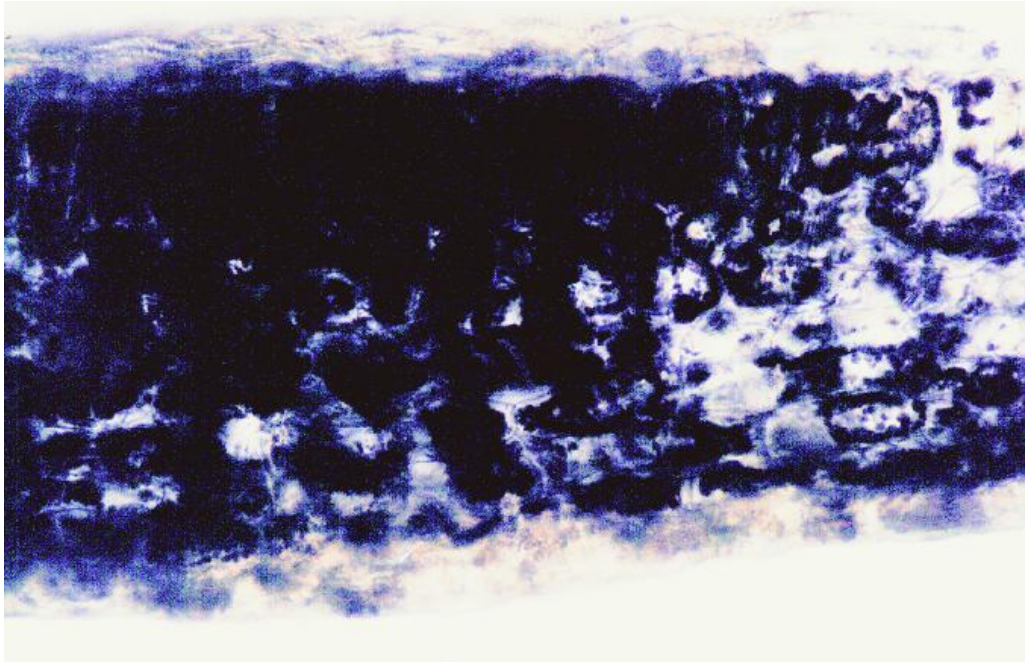
- Beobachten Sie einige Querschnitte von *Hordeum vulgare* und *Zea mays* in Leitungswasser unter dem Mikroskop. Anschließend wird (auf dem Labortisch, nicht unter dem Mikroskop!) ein Tropfen verdünnter Lugol'scher Lösung mittels Filterpapier unter dem Deckglas durchgesaugt. Blaufärbung lokalisiert die abgelagerte Stärke.

### Auswertung:

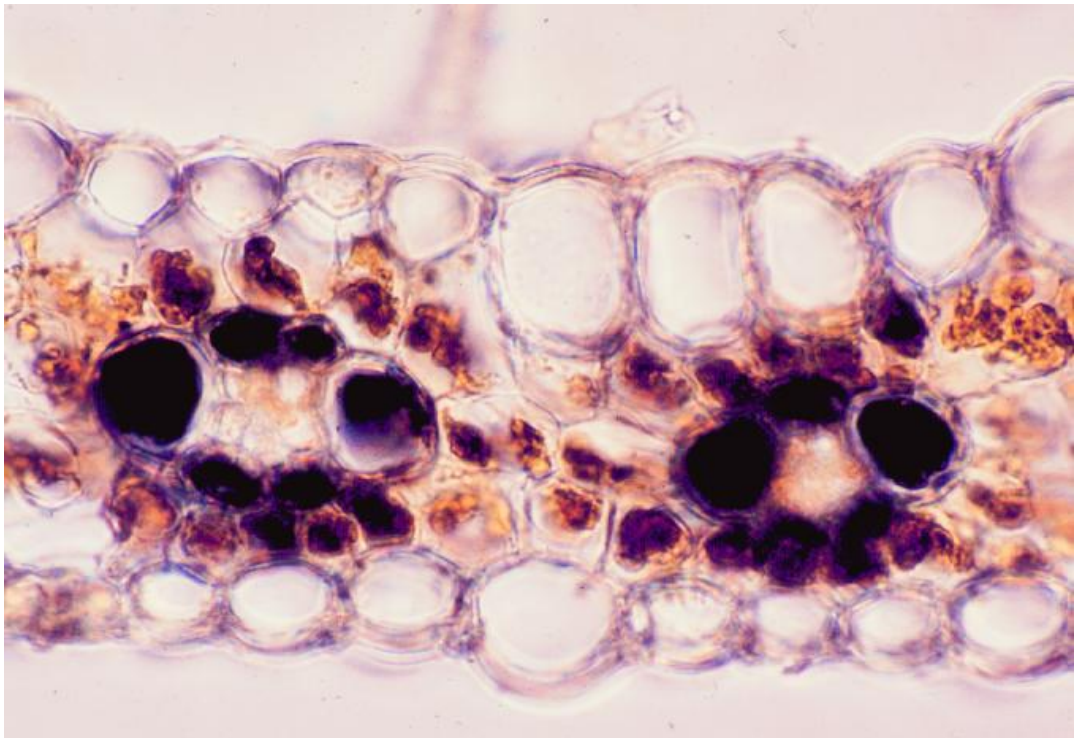
- Vergleichen Sie die Schnitte verschiedener Pflanzen, die unter unterschiedlichen Versuchsbedingungen vorbehandelt worden sind: Dunkel - Starklicht

### Fragen zur Vertiefung:

- Welche Enzyme katalysieren die primäre Fixierung von  $CO_2$  bei C3- und bei C4-Pflanzen?
- Welches sind die primären Fixierungsprodukte?
- Welche ökologischen Vorteile (und welche Nachteile) haben C4- und CAM-Pflanzen gegenüber "normalen" C-3-Pflanzen?
- Was versteht man unter dem "Chloroplasten-Dimorphismus" bei *Zea mays*? Wie unterscheiden sich die beiden Chloroplastentypen morphologisch, cytologisch und biochemisch?



Gerste (C3-Pflanze) transitorische Stärke mit Jod gefärbt



Mais (C4-Pflanze) transitorische Stärke mit Jod gefärbt, nur Mesophyllzellen