

Schiller – Schule Bochum

Jahrgangsstufe 11/ I

Schuljahr 2014/15

FACHARBEIT

im Leistungskurs Biologie (BI L1)

Thema: Skoto- und Photomorphogenese bei Sonnenblumenkeimlingen



Verfasserin: Ariane Schmücker

Kursleiter: Dr. Florian Schaller

Bearbeitungszeit: 11.10.14 – 25.11.14

Abgabetermin: 25.11.14

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	S.4
2.	Material.....	S.5
3.	Methoden.....	S.6
3.1.	Anzucht der Keimlinge.....	S.6
3.2.	Extraktion von Pflanzenfarbstoffen aus Keimlingen.....	S.6
3.3.	Dünnschichtchromatographie (Adsorbtionschromatographie) der in 3.1 extrahierten Pigmente.....	S.7
3.4.	Berechnung der R _f -Werte der aufgetrennten Pigmente.....	S.8
3.5.	Elution der dünn-schichtchromatographisch aufgetrennten Pigmente und Messung der Absorptionsspektren.....	S.8
3.6.	Chlorophyllgehaltbestimmung von Keimlingen.....	S.9
3.7.	SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese	S.9
4.	Ergebnisse.....	S.11
4.1.	Spektralanalyse der Pflanzenpigmente.....	S.11
4.2.	Dünnschichtchromatographie.....	S.12
4.3.	Chlorophyllgehalt von Keimlingen.....	S.13
4.5.	SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese.....	S.14
5.	Diskussion.....	S.15
6.	Zusammenfassung.....	S.21
7.	Quellenverzeichnis.....	S.22
8.	Anhang.....	S.24
8.1.	Phänotypischer Vergleich von etiolierten belichteten Keimlingen unterschiedlichen Alters.....	S.24
8.2.	Aufbau eines Sonnenblumenkeimlings.....	S.24
8.3.	Wachstum und Phänotyp von belichteten und etiolierten Keimlingen im Vergleich.....	S.24
8.4.	Zeichnung eines Sonnenblumenkeimlings.....	S.26
8.5.	Ergebnisse der Versuche mit Erbsenkeimlingen.....	S.27
8.5.1.	Extinktionskurven und Spektren.....	S.27
8.5.2.	Chlorophyllgehalt.....	S.28
8.5.3.	Dünnschichtchromatographie.....	S.29

8.5.4. SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese.....	S.29
8.6 Extinktionswerte.....	S.30
8.6.1 Sonnenblumenkeimlinge.....	S.30
8.6.2 Erbsenkeimlinge.....	S.31
8.6.3 Literaturwerte.....	S.32
8.7 Praktikumsvorschrift Etiolement, Chromatographie, Spektren.....	S.33
9.	Erklärung

1. Einleitung

Eine Pflanze kann, wie jedes andere Lebewesen, auf ihre Umwelt reagieren, sei es durch äußerliche Veränderungen oder Prozesse in ihrem Inneren. Ein Beispiel hierfür ist die Reaktion der Pflanze auf die Menge an Licht in ihrer Umgebung bzw. die Entwicklung unter bestimmten Lichtverhältnissen. Hierbei unterscheidet man zwischen der, bei Licht stattfindenden, Photomorphogenese und der Skotomorphogenese, auch Etiolement genannt, welche unter Lichtausschluss verläuft.

Gesteuert werden diese Prozesse durch Photorezeptoren, die auf blaues und rotes Licht reagieren. Diese Rezeptoren sind z.B. der Blaulichtrezeptor Phototropin, der auch den Phototropismus, das Wachsen einer Pflanze zum Licht, beeinflusst oder der Rotlichtrezeptor Phytochrom, der in einer aktiven hellrotes Licht absorbierenden oder inaktiven dunkelrotes Licht absorbierenden Form vorliegen kann und die Photomorphogenese induziert. Dies kann auch nach einer kurzen Lichtgabe auf eine etiolierte Pflanze geschehen und wird als Deetiolierung bezeichnet.

Durch die fehlende Möglichkeit zur Photosynthese, die etiolierte Pflanzen haben, entwickeln sie sich sehr unterschiedlich im Vergleich zu belichteten Pflanzen. Sie haben keine Möglichkeit durch Photosynthese Energie zu gewinnen, können also nur die im Samen vorhandene nutzen und wachsen unnatürlich in die Länge. Eine eigentlich natürliche Reaktion, da sie unter normalen Umständen erst aus der Erde wachsen müssen, bevor sie mit der Photosynthese beginnen können, weswegen sie auch unpigmentiert sind. Skotomorphogenese ist also auch ein natürlicher Prozess. Wird diese Phase jedoch unnatürlicherweise verlängert, in dem der Keimling im Dunkeln steht, lassen sich Veränderungen zu der eigentlichen Entwicklung feststellen. Außerdem sind bei etiolierten und normalen Pflanzen unterschiedliche Gene aktiv.

Skoto- und Photomorphogenese lassen sich besonders gut an Keimlingen untersuchen, da die Auswirkungen in der Entwicklung der Pflanze sofort gut zu sehen sind.

Die hierfür notwendige praktische Arbeit in der ersten Herbstferienwoche, hat mich dabei besonders interessiert, da sie mir die Gelegenheit gegeben hat, Versuchstechniken aus der Biologie kennenzulernen und anzuwenden, wozu ich sonst im normalen Unterricht keine Möglichkeit gehabt hätte.

2. Material

- Sonnenblumensaat: Raiffeisen Tierfreund Sonnenblumenkerne
- Vermiculit, Korngröße Nr.2-6, Deutsche Vermiculite Dämmstoff GmbH
- Chemikalien:
 - Calciumcarbonat (CaCO_3), Riedel-de Haen GmbH
 - Seesand, Riedel-de Haen GmbH
 - Aceton, Carl Roth GmbH + Co.KG
 - Benzin, Carl Roth GmbH + Co.KG
 - 10%ige Natriumchlorid-Lösung (NaCl : Carl Roth GmbH + Co.KG)
 - wasserfreies Natriumsulfat (getrocknet), Merck
 - destilliertes Wasser
 - Tris-Hydrochlorid, Carl Roth GmbH + Co.KG
 - Ascorbinsäure, Merck
 - n-Hexan, Carl Roth GmbH
 - Diethylether, Carl Roth GmbH
 - Ethanol, Carl Roth GmbH
- Wichtigste Geräte:
 - Zentrifuge, PEQlab Perfectspin Mini
 - Photometer, Hach Lange DR2800
 - DC-Chromatographie Trennkammer, Desaga, Heidelberg

3. Methoden

3.1. Anzucht der Keimlinge

Die aufgeführten Versuche beziehen sich auf, zwischen 1 und 13 Tage alte, Sonnenblumenkeimlinge, wovon je einer etioliert und einer belichtet ist.

Die belichteten Keimlinge wurden auf der Fensterbank, die etiolierten ohne Licht, bei ca. 20-25°C Raumtemperatur angezogen und mäßig feucht gehalten.

3.2 Extraktion von Pflanzenfarbstoffen aus Keimlingen

Von den belichteten Pflanzen des 24.09.14 (12 Tage alt) und etiolierten des 27.09.14 (9 Tage alt) werden je 5g Pflanzenmaterial abgewogen. Hierbei werden sowohl Stiele als auch die Keimblätter etwa im gleichen Maße verwendet.

Die Proben werden nacheinander mit Seesand, einer Spatelspitze Calciumcarbonat, 50ml Aceton und 5ml Benzin in einem Mörser zerrieben, wobei Benzin und Aceton erst nach und nach hinzu gegeben werden. Die breiartige Masse wird anschließend in einer Nutsche filtriert. Die Nutsche ist ein offener Filter, ähnlich einem Kaffeefilter, dessen flacher, gelochter Boden mit einem Filterpapier abgedeckt ist. Sie dient dazu, die Flüssigkeit von ihren festen Bestandteilen, wie z.B. dem Seesand, zu trennen. Hierzu wird mit einer Wasserstrahlpumpe auf der Seite der gefilterten Flüssigkeit, des Filtrats, ein Unterdruck erzeugt, der die flüssigen Bestandteile der Probe durch das Filterpapier saugt. Die gesuchten Pflanzenfarbstoffe (Pigmente) liegen in dem Filtrat zusammen mit weiteren Bestandteilen (Lösungsmittel) vor. Um die Pigmente abscheiden zu können, wird das Filtrat in einen Scheidetrichter überführt und dort mit 50ml einer 10%igen Natriumchlorid-Lösung und 30ml Benzin versetzt. Durch Schwenken des Trichters gehen die Pflanzenfarbstoffe (Pigmente) in die obere Benzinphase über.

Die untere Wasser-Aceton-Phase wird danach abgelassen. Anschließend wird das Filtrat 2-3 mal mit je 30 ml destilliertem Wasser versetzt. Der Scheidetrichter wird wieder geschwenkt und die untere Wasserphase entfernt. Die Benzinphase wird in einen Erlenmeyerkolben überführt und dort durch Zugabe einiger Spatelspitzen wasserfreien Natriumsulfats von Resten der Wasserphase getrennt. Nun wird die vollständig wasserfreie Phase ohne das Natriumsulfat in ein Becherglas gefüllt. Das Becherglas wird von unten mit einem Fön unter dem Abzug beheizt und die Flüssigkeit so auf ca. 0,5 ml eingeeengt.

3.3 Dünnschichtchromatographie (Adsorptionschromatographie) der in 3.2 extrahierten Pigmente

Um die extrahierten Proben in ihre einzelnen Bestandteile zu trennen, wird die Dünnschichtchromatographie verwendet. Hierbei werden die Pigmente auf dünne, quadratische Platten aus Aluminium, die mit einem feinporigen Trägermaterial aus Kieselgel beschichtet sind, mit Kapillaren aufgetragen. Die Platten werden ca. 1 Stunde in der DC-Kammer gelassen, bis die Laufmittelfront fast die obere Kante erreicht hat. Nach dem Herausnehmen wird die Laufmittelfront sofort gekennzeichnet, da sie sehr schnell durch Verdunsten des restlichen Laufmittels auf der Platte unsichtbar wird. Die Position der Front wird später für die Auswertung der Retentionsfaktoren (Rf-Werte) benötigt.

Vor Beginn der Versuche werden die DC-Platten in Ascorbinsäure, welche als Oxidationsschutz dient, eingelegt und ca. 1h bei 60°C im Trockenschrank getrocknet. Nach diesem Vorgang wird 2cm von der unteren Kante der Platte entfernt eine Startlinie gezogen und die zuvor eingeengte Benzinphase mit den Farbstoffen (s. 3.2) aufgetragen. Hierbei wird ein Abstand von 1 cm zu jeder Seite freigelassen. Die fertigen Platten werden senkrecht in eine luftdicht verschlossene Laufmittelkammer gestellt, in der sich 50 ml eines Laufmittels, bestehend aus 100ml Benzin, 11ml Isopropanol und 5 Tropfen A. Dest., befinden, wobei sie bis zur Startlinie, auf der sich die Pigmente befinden, im Laufmittel stehen.

Durch den Kapillareffekt wandert das Lösungsmittel an der DC-Platte nach oben und nimmt dabei die Probe mit. Je nachdem wie stark die zu trennenden Stoffe mit dem Trägermaterial wechselwirken, werden sie unterschiedlich stark adsorbiert. Je stärker die Wechselwirkungen, desto langsamer wandert der Stoff nach oben.

Während des Verdunstungsprozesses des Laufmittels, wird die Platte unter den Abzug gelegt. Nach dem Trocknen werden die Rf-Werte für die verschiedenen vorhandenen Pigmente ausgerechnet. Anhand der Rf-Werte können die Pigmente durch Vergleich mit Literaturdaten identifiziert werden. Hier geschieht dies durch vergleichen der Banden mit einer schematischen Darstellung der verschiedenen Banden aus einer Chromatographie der Grünalge. Es müssen zwei Chlorophyll, eine Lutein und eine Carotinbande (alpha und beta Carotine) neben weiteren vorhanden sein.

Die Farbstoffe werden jeweils mit einem Spatel von der Aluminiumschicht der DC-Platte gekratzt und mit einem Stück Alufolie aufgefangen. Zur Aufbewahrung für spätere Versuche (siehe 3.5) werden sie in ein 2,2 ml Eppendorf-Gefäß gefüllt.

3.4. Berechnung der Rf-Werte der aufgetrennten Pigmente

Um den Rf- Wert eines Pigments zu berechnen, wird die Strecke, die dieses von der Startlinie aus zurückgelegt hat, durch die der Laufmittelfront (Strecke des Laufmittels von der Startlinie aus) geteilt. Die so errechneten Werte sind für gleiche Pigmente identisch.

3.5 Elution der dünnschichtchromatographisch aufgetrennten Pigmente und Messung der Absorptionsspektren

Um die Farbstoffe vom Kieselgel (s.3.3) zu lösen, wird dieses, je nach den Pigmenten die es trägt, mit unterschiedlichen Stoffen eluiert. Für die Banden beider Chlorophylle verwendet man Diethylether, für die Luteinbande Ethanol und für die der Carotine wird n-Hexan benutzt.

Wird für einen Stoff ein anderes Lösungsmittel verwendet, kann dies seine Absorptionsfähigkeit und somit die Ergebnisse des Versuchs beeinträchtigen.

Je 2ml der entsprechenden Lösungsmittel werden in die Eppis gegeben, in denen das Kieselgel aufbewahrt wurde. Nach kurzem Schütteln geht die Färbung vom Gel in das Lösungsmittel über. Das entfärbte Kieselgel wird anschließend abzentrifugiert. Um die Extinktionsspektren der einzelnen Pigmente bestimmen zu können, werden diese nun mit dem Photometer in 3ml Küvetten aus optischem Glas untersucht.

Ein Photometer ist ein Gerät, das einen Lichtstrahl einer bestimmten Wellenlänge durch die Probe wirft und misst, wie stark dieser absorbiert wurde. Hierzu muss zuerst mit einer Küvette, in der nur das entsprechende Lösungsmittel enthalten ist, ein Nullwert gebildet werden, da sowohl das Lösungsmittel als auch die Küvette selbst schon Licht absorbieren und sich dieser Wert auf die Extinktion durch das Pigment addieren würde. Das Ergebnis würde also verfälscht werden.

Bei den Chlorophyllen wird die Absorption bei einer Wellenlänge von 400 bis 700nm untersucht. Bei Lutein und Carotin je nur ein Bereich von 390 bis 550nm (siehe Anhang

Praktikumsvorschrift). Die Spektren werden in 5 nm bis 10 nm-Schritten abgegangen. Die Extinktion dieser Wellenlängenbereiche durch die unterschiedlichen Pigmente wird in eine Tabelle eingetragen und später in Diagrammform dargestellt.

3.6. Chlorophyllgehaltbestimmung von Keimlingen

Ein belichteter und ein unbelichteter Keimling werden mit je 40ml 80%igem Aceton und etwas Seesand in einem Mörser zerstoßen. Der entstehende Brei wird anschließend direkt in eine 3ml Küvette filtriert und im Photometer bei den Wellenlängen 652 und 445nm analysiert. Bei diesen Wellenlängen schneiden sich die Absorptionskurven der beiden Chlorophylle, sie absorbieren also beide das Licht dieser Wellenlängen. Mit Hilfe der Ergebnisse des Photometers lässt sich nun der Chlorophyllgehalt pro ml Lösung berechnen.(siehe Praktikumsvorschrift) Bei einer Wellenlänge von 652nm lautet diese Gleichung:

$$E_{652} \cdot 0,725 = \frac{\text{mg Chlorophyll}}{\text{ml Lösung}}$$

3.7 SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese

Die SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese ist ein Verfahren, bei dem die in einer Probe enthaltenen Polypeptide (Proteine etc.) nach Denaturieren auf ihre Primärstruktur (Aminosäureketten) der Größe nach aufgetrennt werden. Anschließend werden die Proteinproben in ein senkrecht, zwischen zwei Glasplatten stehendes Gel, welches an seinem oberen Ende kleine Einbuchtungen (Taschen) für die Proben besitzt (siehe Abb.1), pipettiert. Dieser obere Teil wird als Sammelgel bezeichnet.

Von dort aus laufen die Proben bis zur Grenze des darunterliegenden Trenngels, welches die einzelnen Polypeptide der Größe nach auftrennt. Dieses Auftrennen geschieht durch einen Stromfluss infolge einer an die gegenüberliegenden Seiten des Gels angelegten Spannung. Die durch das SDS Detergenz negativ aufgeladenen Proteine wandern nach unten zum dort angebrachten Pluspol, wobei die kürzeren Aminosäureketten schneller als die größeren durch das Trenngel wandern. Nachdem die Gele eingefärbt wurden, um die Proteine sichtbar zu machen, erscheinen diese als Striche (Banden) auf dem sonst farblosen Gel. Zur genauen Längenbestimmung dient ein Proteinmix mit Proteinen bekannter Größen, der ebenfalls in eine Tasche des Gels pipettiert wird. Für die Gelelektrophorese müssen zuerst das Sammel- und das Trenngel gegossen werden

(siehe Anhang). Danach werden 50µl der Probe mit ebenfalls 50µl des Probenpuffers in Eppendorfgefäßen gemischt.

Diese werden anschließend in einem Heizblock für 50 min auf 100°C erhitzt. Danach werden jeweils 15µl der Proteinp von belichteten bzw. etiolierter Pflanzen abwechselnd in die Taschen pipettiert. In die erste Tasche wird ein Proteinstandard zur Bestimmung der Länge der Polypeptidbanden der Proben gegeben.

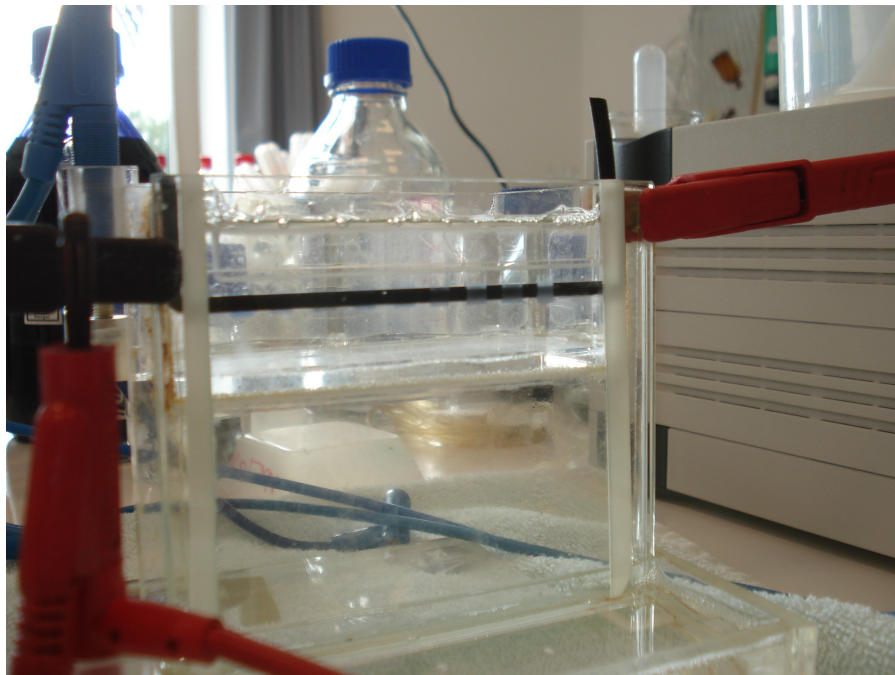


Abbildung 1: Apparatur zur SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese

Abbildung 1 zeigt das Gel, welches sich zwischen den senkrechten Glasplatten befindet. Zum Zeitpunkt der Aufnahme des Fotos waren die Proben bereits in die Taschen des Gels pipettiert und es wurde bereits unter Spannung gesetzt.

Die Proben sind noch nicht in das Trenngel gelaufen sondern befinden sich noch im Sammelgel. Sie sind durch eine leichte Blaufärbung auf Höhe der schwarzen Dichtung zu erkennen.

4. Ergebnisse

4.1. Spektralanalyse der Pflanzenpigmente

Die Extinktion der untersuchten Pigmente ergab für jedes Pigment spezifische Maxima, an denen besonders viel des eingefallenen Lichts absorbiert wurde. Im Diagramm Abb. 2 ähneln sich jeweils die Kurvenverläufe der Carotine und Luteine sowie die der beiden Chlorophylle untereinander. Die Anzahl und Anordnung der Extremwerte weist für die Luteine und Carotine Parallelen auf. Gleiches gilt für die Kurven von Chlorophyll a und Chlorophyll b. Die Graphen der Luteine und Carotine besitzen je 2 Hochpunkte, die im Bereich von 440nm und 470nm liegen, und einen Sattelpunkt im Bereich von 420nm (siehe Abb.2). Die Chlorophylle ähneln sich weniger stark. Wie aus Abbildung 2 hervorgeht, haben sie je 2 Hochpunkte, wovon jeweils einer im Bereich des roten (Qy-Bande) und einer im Bereich des blauen Lichts (Soret-Bande) liegt (vgl. <http://de.wikipedia.org/wiki/Chlorophylle>). Das Extinktionsmaximum im Bereich des roten Lichts befindet sich für beide Chlorophylle an der gleichen Stelle bei etwa 665 nm. Im Bereich des blauen Lichts liegen die Maxima etwa 50 nm von einander entfernt bei etwa 405 nm und 455 nm

Die Extinktion von Chlorophyll b ist durchgehend höher. Das Maximum im Bereich des blauen Lichts liegt für Chlorophyll b etwa doppelt so hoch wie für Chlorophyll a

Alle Pigmente absorbieren im Bereich des grünen Lichts deutlich weniger oder gar nicht.

Die genauen Werte der Maxima werden in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

	Extinktion	Wellenlänge
Chlorophyll a		
Maximum 1	0,194	455
Maximum 2	0,15	665
Chlorophyll b		
Maximum 1	0,4	410
Maximum 2	0,221	670
Carotine		
Sattelpunkt	0,114	420
Maximum 1	0,163	445
Maximum 2	0,144	475
Lutein		
Sattelpunkt	0,104	420
Maximum 1	0,157	450
Maximum 2	0,14	475

Tabelle 1: Extinktion der verschiedenen Pigmente und Absorptionsmaxima

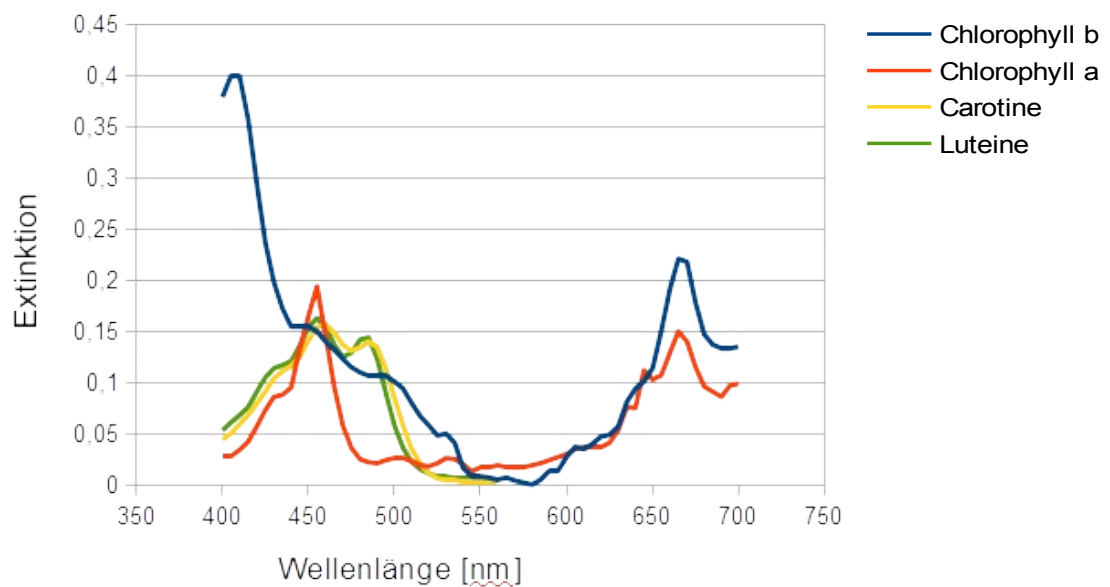


Abbildung 2: Absorptionsspektren pflanzlicher Pigmente

4.2 Dünnschichtchromatographie

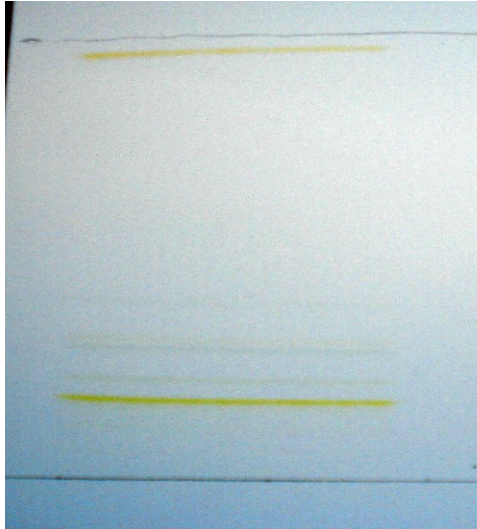


Abbildung 5: DC von etiolierten Keimlingen

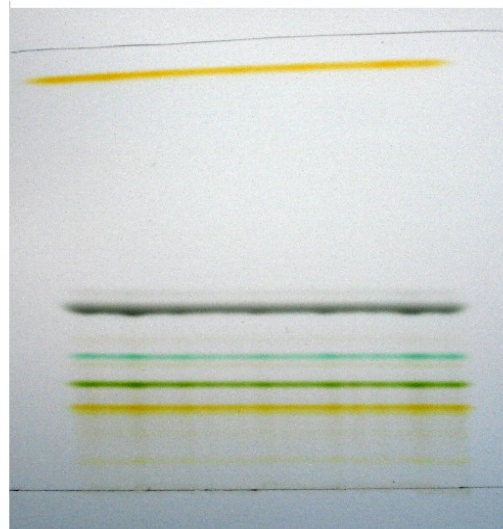


Abbildung 4: DC von belichteten Keimlingen

Abb.4 und 5 zeigen die fertigen DC-Platten, auf denen die aufgetrennten Pigmente, welche in den Keimlingen enthalten waren, als verschiedenfarbige Banden zu sehen sind. Die Banden gleicher Pigmente liegen dabei immer auf einer Höhe, da diese bei der Dünnschichtchromatographie gleich schnell nach oben wandern.

Die Anzahl und Lage, der bei der Dünnschichtchromatographie der Pigmente von belichteten und etiolierten Keimlingen entstandenen Banden, ist nahezu identisch (vgl. Abb. 4 und 5). Allerdings sind die Banden der etiolierten Pflanzen erheblich schwächer als die der belichteten und einige, wie z.B. von Neoxanthin, sind nur sehr schwer auszumachen. Anhand eines Vergleichs mit der Anordnung der Banden der Chromatographie einer Grünalge (siehe Anhang Versuchsvorschrift) lässt sich die oberste Bande als Carotin, gefolgt von den Banden von Chlorophyll a, Phaeophytin, Chlorophyll b, Lutein und Neoxanthin identifizieren. Neoxantin und Phaeophytin werden bei den nachfolgenden Untersuchungen nicht betrachtet.

Rf-Werte

	belichtet	etioliert
Carotine	0,966	0,965
Chlorophyll a	0,303	0,291
Chlorophyll b	0,234	0,220
Lutein	0,186	0,177

Tabelle 2: Rf-Werte der Pigmente

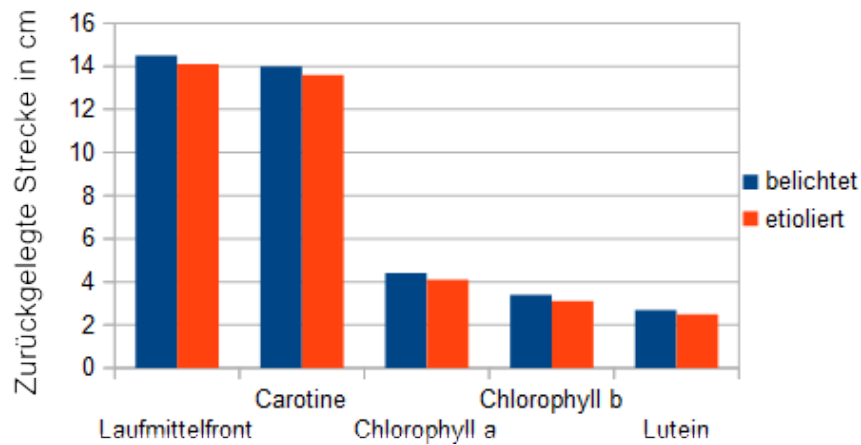


Abbildung 6 : Zurückgelegte Strecke der Pigmente in cm

4.3 Chlorophyllgehalt von Keimlingen

Die bei 652nm und 445nm gemessenen Extinktionswerte (Tab.3), genauso wie der aus den Werten bei 652nm errechnete Chlorophyllgehalt (Tab.4), sind bei belichteten Pflanzen deutlich höher als bei etiolierten. Allerdings besitzen auch die zuletzt genannten Chlorophyll, wenn auch sehr wenig. (Abb.6)

Werte Photometer

	445nm	652nm
belichtet	1,576	0,281
etioliert	0,505	0,024

Tabelle 3: Extinktion der Pigmente der Keimlinge

mg Chlorophyll/ml Lösung

belichtet	1,1426	ca.1g
etioliert	0,366125	ca.0,5g

Tabelle 4: Chlorophyllgehalt/-gewicht der Keimlinge

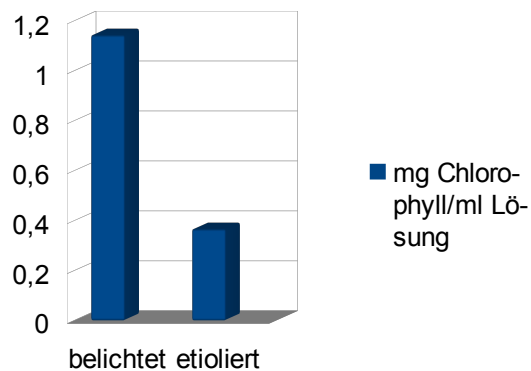


Abbildung 6: Chlorophyllgehalt der Keimlinge

4.4. SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese

Bei den belichteten Keimlingen lässt sich im oberen Bereich, etwa auf Höhe des zweiten Proteinmarkers (mit Pfeil markiert), das Protein RuBisCO als Bande, ähnlich der des Proteinmarkers, erkennen (siehe Abb. 7). Es ist bei der Photosynthese für die Kohlenstoffdioxidfixierung zuständig (siehe <http://de.wikipedia.org/wiki/RuBisCO>) und wird bei der Keimung mit zunehmendem Alter verstärkt gebildet. Weiterhin ist die Biosynthese lichtinduziert, sodass allgemein bei belichteten Pflanzen RuBisCO zu erwarten ist.

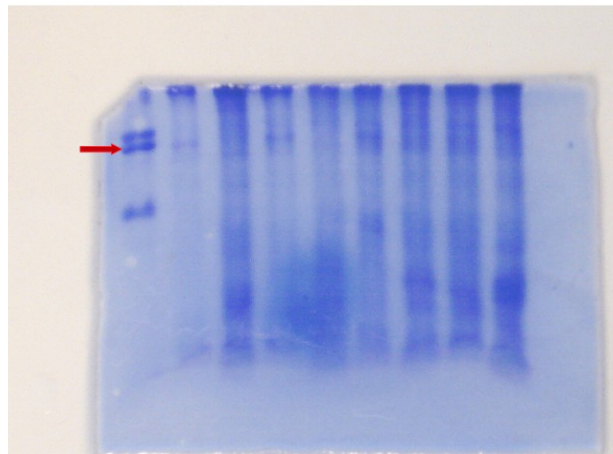


Abbildung 7: Fertiges Trenngel

Auf dem Trenngel sind links die Banden des Molekulargewichtsmarkers zu erkennen, welcher zur Größenbestimmung der denaturierten Proteine dient.

In den nachfolgenden Spalten lassen sich die Banden der in den Pflanzenproben enthaltenen Proteine als dunklere horizontale Balken erkennen.

5. Diskussion

Sichtbares Licht spielt für die Entwicklung photoautotropher Pflanzen eine bedeutende Rolle. Es ist essenziell für die Photosynthese und somit auch für die Energieversorgung der Pflanze. Durch einen Mangel oder ein Fehlen an Licht können unterschiedliche Prozesse hervorgerufen werden bzw. Mangelscheinungen auftreten. Beim vollständigen Fehlen von Licht oder bei Bestrahlung mit reinem grünen Licht, welches von den Blättern bzw. dem in ihnen enthaltenen Chlorophyll nur reflektiert wird und somit keine Bedeutung für die Photosynthese hat, kommt es zur Skotomorphogenese.

Diese wurde in den vorliegenden Versuchen an Sonnenblumenkeimlingen untersucht und mit der Photomorphogenese, der pflanzlichen Entwicklung unter Lichteinfluss, verglichen. Um die speziellen Eigenschaften der unterschiedlichen Entwicklungsformen vergleichen zu können, wurde das Pflanzenmaterial unterschiedlichen Alters mit verschiedenen Verfahren untersucht. Die Untersuchungsergebnisse werden im Folgenden diskutiert.

Die Dünnschichtchromatographie (siehe 3.3), diente zur Identifikation und Auftrennung der in den Keimlingen enthaltenen Pflanzenfarbstoffe und zur Beantwortung der Frage, ob diese bei beiden Entwicklungen identisch sind. Die durch die Dünnschichtchromatographie der belichteten und der etiolierten Keimlinge ermittelten Rf-Werte stimmen zwar nicht exakt überein, jedoch kann dies als Messungenauigkeit eingestuft werden, da die größte, für Chlorophyll-b beobachtete Abweichung lediglich 0,014 beträgt. Bezogen auf die Auftrennung der Farbstoffe aus etioliertem Pflanzenmaterial entspricht das etwa 8%.

In beiden Keimlingen (belichtet / unbelichtet) kommen somit die gleichen Pigmente vor. Die schwächere Intensität der Banden im Falle des etiolierten Keimlings weist allerdings darauf hin, dass er eine deutlich geringere Menge an Pigmenten besitzt. Da es dem etiolierten Keimling nicht möglich war Photosynthese zu betreiben, waren Pigmente zur Energiegewinnung nicht erforderlich. Um Energie oder Nährstoffe zu sparen, werden im etiolierten Zustand vermutlich nur sehr wenige oder keine Pigmente synthetisiert. Dass trotzdem Chlorophylle und Carotine vorkommen, ließe sich auf zwei

Ursachen zurückführen, die mit dem Versuchsablauf zusammenhängen. Die schon abgetrennten Stücke des Keimlings könnten zum einen, als sie für die Versuche vorbereitet wurden, noch mit der Chlorophyllsynthese begonnen haben, da sich, ähnlich wie bei Schnittblumen, das Fehlen der Wurzeln erst mit einiger Verzögerung auswirkt.

Die zweite Möglichkeit wäre, dass die Keimlinge doch kurzfristig Licht ausgesetzt wurden. Die Keimlinge könnten auch, trotz Skotomorphogenese mit der Chlorophyllsynthese begonnen haben. In Anbetracht der Tatsache, dass die Skotomorphogenese für einen aus der Erde kommenden Keimling am Anfang seines Wachstums normal ist, wäre dies vorstellbar, wird jedoch durch andere Quellen widerlegt. „Die Synthese von Pigmenten wie Chlorophyll oder Anthocyan bleibt [während der Skotomorphogenese] aus“.(<http://de.wikipedia.org/wiki/Photomorphogenese>)

Auf das Phänomen der Chlorophyllsynthese trotz Lichtausschluss stößt man auch bei der quantitativen Untersuchung des Chlorophyllgehalts der Sonnenblumenkeimlinge (siehe 3.4/4.3). Durch die quantitative Messung sollte die aus visuellen Eindrücken entstandene Vermutung, etiolierte Keimlinge würden kein Chlorophyll und sonstige Pigmente synthetisieren, unterstützt werden. Bei der Analyse wurde für den etiolierten Keimling, wie schon bei der Dünnschichtchromatographie, aber Chlorophyll festgestellt. Der Chlorophyllgehalt des etiolierten Keimlings war allerdings deutlich geringer als der des belichteten (siehe 4.2, Abb.3/4), was sich schon bei der Dünnschichtchromatographie in der unterschiedlichen Intensität der Banden bemerkbar gemacht hat.

Zusätzlich zur Analyse des Chlorophyllgehaltes hätte man noch den Gehalt der anderen chromatografisch aufgetrennter Pigmente ermitteln können, um ein genaues Mengenverhältnis zu erstellen und auch die Gesamtmenge der Pigmente zu bestimmen, die bei der gegebenenfalls versehentlich eingesetzten Deetiolierung der Keimlinge entstanden sind.

Die Verhältnisse der Pigmente, der ständig belichteten Pflanze und der Pflanze, die vermutlich kurzzeitig Licht ausgesetzt wurde, hätten auf diese Weise verglichen werden können. So hätte man Rückschlüsse auf die zeitliche Reihenfolge ziehen können, in der Pigmentsynthesen einsetzen. Diese Reihenfolge könnte auch Hinweise auf die Bedeutsamkeit der Pigmente für die Pflanze in der Photomorphogenese geben. In

Versuch 3.3 wurden die bei der Dünnschichtchromatographie erhaltenen Proben im Spektrometer untersucht, um Rückschlüsse auf das Absorptionsverhalten der Pigmente und dadurch auch auf die Wellenlängen des Lichts, die für die Photosynthese wichtig sind, ziehen zu können. Die Untersuchung der Pigmente im Spektrometer ergab für Lutein und Carotin weitestgehend mit den Literaturwerten (siehe Anhang) identische Extinktionskurven. Wobei man jedoch berücksichtigen muss, dass α - und β -Carotine zusammen gemessen wurden und manche Werte nur zu einem der Literaturwerte, „ α “ oder „ β “, gut passen.

Bei den Chlorophyllen jedoch kam es zu teils starken Abweichungen. Während bei Chlorophyll a nur das erste Absorptionsmaximum (Soret-Bande) im Wellenlängenbereich um ca. 20 nm höher verschoben ist, was auf Messungenauigkeiten zurückgeführt werden kann, stimmt bei Chlorophyll b die Lage keines der Maxima mit den Literaturwerten überein.

Sie sind um bis zu 43 nm in unterschiedliche Richtungen verschoben. Die Ursache für diese Abweichungen muss in einem ungenauen Nullabgleich des Messgeräts durch eine nicht ausreichend gefüllte Küvette gesucht werden.

Von dem Spektrometer wurden über einen größeren Wellenlängenbereich negative Extinktionswerte ermittelt. Hierbei handelt es sich zweifellos um Fehlmessungen, da ein reines Lösungsmittel nicht mehr als das gleiche Lösungsmittel mit zusätzlich Pigmenten absorbieren kann. Es könnte ein Teil des Lichtstrahls im Fotometer oberhalb der Flüssigkeit in der Küvette auf den Detektor gefallen sein, was den Messwert unter den des Lösungsmittels ohne Pigmente gesenkt hätte. Dies könnte evtl. auch die Maxima verschoben haben, da der Teil des Lichtes, der nicht durch die Probe fiel, anders absorbiert wurde.

Bei den Kurvenverläufen, die sich aus den Messwerten ergeben (siehe 4.1, Abb.2), fällt auf, dass alle Pigmente im Bereich von ca. 550-600nm wenig oder gar kein Licht absorbieren.

Bei den Literaturwerten ist dieser Bereich sogar noch größer. Er reicht je nach Pigment von 450-500nm bis ca. 630nm. In diesem Wellenlängenbereich liegt grünes (480-560nm), gelbes (560-580nm) sowie oranges Licht (580-630nm) (vgl.

<http://de.wikipedia.org/wiki/Lichtspektrum>).

Infolge der Reflexion der Lichtwellen durch die Pflanzenfarbstoffe lassen sich die gelbe

Farbe der Carotine und des Luteins erklären, die oberhalb von etwa 500nm alles Licht reflektieren.

Da das menschliche Auge jedoch nicht für alle Farbtöne gleich empfindlich ist, sondern die in der Mitte des Wellenlängenbereichs liegenden Farbtöne wie grün oder gelb verstärkt wahrnimmt, erscheinen diese Pigmente rein gelb (vgl. <http://de.wikipedia.org/wiki/Lichtspektrum>).

Die Chlorophylle reflektieren zwar auch gelbes und oranges Licht, allerdings wird noch weniger grünes absorbiert, weshalb diese Komponente im reflektierten Licht überwiegt und sie grün erscheinen. Die bei einer belichteten Pflanze mengenmäßig am häufigsten vorkommenden Pigmente sind, wie sich an der Farbe ihrer Blätter erkennen lässt, Chlorophylle. Die gelblichen Carotine werden erst sichtbar wenn im Herbst das Chlorophyll abgebaut wird (Krupinska, 2014).

Das häufig vorkommende Chlorophyll ist am wichtigsten für die Photosynthese.

Der von ihm am stärksten absorbierte, rote und blaue Bereich des Lichts wird folglich für die Energiegewinnung in der Photosynthese benutzt. Allerdings befinden sich auch geringe Mengen von Carotinen oder Xanthophyllen wie Lutein in den Lichtsammelkomplexen der Pflanze und erweitern so den Absorptionsbereich (vgl. <http://de.wikipedia.org/wiki/Photosynthese>).

Der Bereich des grünen Lichts wird von allen untersuchten Pigmenten nahezu vollständig reflektiert und spielt daher für die Photosynthese keine Rolle. Etiolierte Pflanzen besitzen kein Chlorophyll und betreiben keine Photosynthese. Eine Deetiolierung des Keimlings durch Lichteinfluss ist jedoch möglich. Es muss also bestimmte Rezeptoren geben, die die Entwicklung der Pflanze so beeinflussen können, dass die Chlorophyllsynthese einsetzt und die Pflanze mit der Photomorphogenese beginnt.

Dies könnte in weiteren Experimenten untersucht werden. Das in Versuch 3.5, der SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese, nachgewiesene Enzym RuBisCO, welches nur bei belichteten Keimlingen auftrat, deutet ebenfalls darauf hin, dass für die Photosynthese wichtige Stoffe bei etiolierten Keimlingen nicht gebildet werden.

Die beschriebenen Versuche wurden von einem Mitschüler zusätzlich an Erbsen-Keimlingen durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Experimente sollen nun mit den bereits

besprochenen der Sonnenblumenkeimlinge verglichen werden. Die Ergebnisse der Untersuchung von Erbsen-Keimlingen finden sich im Anhang (6.4).

Bei der Dünnschichtchromatographie der Erbsen-Keimlinge entstanden bei den belichteten Keimlingen Banden mit identischen Rf-Werten wie bei der Untersuchung der Sonnenblumen-Keimlinge. Belichtete Sonnenblumen und Erbsen haben also die gleichen Pigmente. Bei der Chromatographie der etiolierten Erbsen-Keimlinge jedoch waren keine Banden erkennbar. Dies würde bedeuten, dass zumindest etiolierte Erbsenpflanzen unpigmentiert sind. Betrachtet man allerdings die Gesamtchlorophyllbestimmung so wurde bei etiolierten Erbsen-Keimlingen doch Chlorophyll festgestellt. Die Extinktionswerte lagen nur leicht unter denen der Sonnenblumen-Keimlinge.

Die SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese ergab bei beiden Pflanzenspezies die gleichen Ergebnisse. RuBisCo konnte bei den belichteten Keimlingen identifiziert werden. Nach Analyse der Versuchsergebnisse wird deutlich, dass der wesentliche physiologische Unterschied zwischen der Photo- und Skotomorphogenese darin besteht, dass der etiolierte Keimling im Gegensatz zu dem belichteten nicht in der Lage ist Photosynthese zu betreiben. Sowohl die dafür notwendigen Enzyme (RuBisCO) als auch die Pigmente wurden nicht produziert. Phänotypisch ist das Fehlen der Pigmentsynthese durch das blassgelbe Erscheinungsbild der Keimlinge (Kotyledone) zu erkennen.

Des weiteren setzte ein erhebliches Längenwachstum ein. Daraus folgt, dass der Sonnenblumen-Keimling, da er nur eine begrenzte Energiemenge, die im Samen gespeicherten Fette, besitzt, seine ganze Energie darauf verwendet durch Längenwachstum Licht zu erreichen, um Photosynthese betreiben zu können, und sie nicht unnötig durch Synthese von Stoffen, die er nicht verwenden kann, verbraucht.

Diese großen Unterschiede zwischen den beiden Pflanzenentwicklungen lassen sich nur durch lichtregulierte Gene erklären die entweder durch Licht, wie die Pigmentsynthese, oder durch sein Fehlen, wie das gesteigerte Längenwachstum, aktiviert werden. Die Bereiche des Lichts, die dafür in Frage kommen würden, wären der Bereich des blauen und des hellroten Lichts, in dem sich die Absorptionsmaxima des Chlorophylls

befinden. Ist dieses Licht vorhanden, muss die Pflanze dies erkennen können und es müssen Prozesse ablaufen, die die entsprechenden Gene aktivieren. Solche Photorezeptoren, die auf Licht bestimmter Wellenlängen reagieren, wurden bereits festgestellt (siehe <http://www.spektrum.de/lexikon/biologie-kompakt/phytochrome/9036> und <http://www.spektrum.de/lexikon/biologie-kompakt/cryptochrom/2718>).

Sie werden in Blaulicht und Rotlichtrezeptoren, je nach dem Bereich des Lichts, den sie absorbieren, unterteilt und haben sehr verschiedene Aufgaben. Eine Gruppe von 5 Rotlichtrezeptoren, die Phytochrome, haben nachweislich genregulierende Eigenschaften. Die Phytochrome bestehen aus zwei Domänen, wovon die eine als lichtabsorbierender Sensor fungiert und die andere das Signal weiterleitet. So werden schließlich über mehrere Zwischenstationen die lichtregulierten Gene aktiviert.

Diese Gene besitzen „in ihren Promotoren bestimmte konservierte Sequenzmotive (z.B. so genannte GT-1-Regionen, I-Boxen oder G-Boxen)“

(<http://www.spektrum.de/lexikon/biologie-kompakt/phytochrome/9036>), also Sequenzen in dem Promotor, an die spezifische Transkriptionsfaktoren binden und sie so aktivieren können. Außerdem kann das Phytochrom in zwei Formen vorliegen. Eine im Dunkeln vorkommende, die hellrotes Licht absorbiert (Pr) und eine im hellen vorkommende, dunkelrotes Licht absorbierende Form (Pfr). Diese wandeln sich jeweils, wenn sie Licht absorbieren, durch eine Konformationsänderung in die andere Form um.

Phytochrome können auch Schattenfluchtreaktionen hervorrufen, da „[...] volles Sonnenlicht Hellrot-angereichert [ist], wohingegen Standorte unterhalb eines Pflanzendaches durch Dunkelrot-angereichtes Licht gekennzeichnet sind“ (<http://www.spektrum.de/lexikon/biologie-kompakt/phytochrome/9036>).

Durch einen Überschuss an Pr wird so das Längenwachstum aktiviert und die Pflanze wächst aus dem Schatten. Die genauen Auswirkungen der Phytochrome könnte man weiterführend untersuchen, indem man Pflanzen im Labor gezielt mit Licht einer bestimmten Wellenlänge bestrahlt und die Mengenverhältnisse der einzelnen Phytochrome, sowie die Auswirkung auf die Pflanze untersucht. So könnte man auch Rückschlüsse auf lichtregulierte Gene ziehen. Außerdem könnte man im Genom der Pflanze gezielt nach den oben genannten Promotorsequenzen suchen, die für lichtregulierte Gene typisch sind. Besonders die DNA der Chloroplasten könnte man

hierbei untersuchen. Durch gezielte Zugabe von Licht könnte man auch die weiterführenden Mechanismen bei der Genregulierung, vielleicht über andere Faktoren/Stoffe, untersuchen.

6. Zusammenfassung

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die großen Unterschiede zwischen den beiden Pflanzenentwicklungen (Photo- und Skotomorphogenese), durch lichtregulierte Gene hervorgerufen werden, wie aus der Literatur hervorgeht. Diese Gene werden entweder durch Licht, wie die Pigmentsynthese, oder durch sein Fehlen, wie das gesteigerte Längenwachstum, aktiviert. In belichteten und unbelichteten Keimlingen kommen die gleichen Pigmente vor. Die schwächere Intensität der Banden, der Dünnschichtchromatographie im Falle des etiolierten Keimlings weisen allerdings darauf hin, dass er eine deutlich geringere Menge an Pigmenten besitzt, theoretisch auch vollständig unpigmentiert ist.

Das im normalen Keimling häufig vorkommende Chlorophyll ist am wichtigsten für die Photosynthese.

Der von ihm am stärksten absorbierte, rote und blaue Bereich des Lichts wird folglich für die Energiegewinnung in der Photosynthese benutzt.

Ist dieses Licht vorhanden, muss die Pflanze dies erkennen können und es müssen Prozesse ablaufen, die die entsprechenden Gene aktivieren.

Zur Registrierung besitzt sie Photorezeptoren wie die Phytochrome.

Diese sind auch für die Deetiolierung verantwortlich.

7. Quellenverzeichnis

Bollow, 2014, Facharbeit im Fach Biologie, Schiller-Schule, Bochum

<http://www.spektrum.de/lexikon/biologie-kompakt/phytochrome/9036>

Zugriff: 15.10.14 Letzte Änderung: 2013

<http://de.wikipedia.org/wiki/RuBisCO>

Zugriff: 03.11.14 Letzte Änderung: 27.10.14

<http://de.wikipedia.org/wiki/Lichtspektrum>

Zugriff: 17.10.14 Letzte Änderung: 31.10.14

<http://de.wikipedia.org/wiki/Photomorphogenese>

Zugriff: 14.11.14 Letzte Änderung: 03.04.13

<http://de.wikipedia.org/wiki/Chlorophylle>

Zugriff: 06.11.14 Letzte Änderung: 09.10.14

<http://de.wikipedia.org/wiki/Photosynthese>

Zugriff: 06.11.14 Letzte Änderung: 25.11.14

<http://www.spektrum.de/lexikon/biologie-kompakt/cryptochrom/2718>

Zugriff: 15.10.14 Letzte Änderung: 2013

<http://www.biokurs.de/skripten/12/bs12-2.htm>

Zugriff: 10.11.14 Letzte Änderung: N.N.

Kurpinska, Karin (2014): Das Geheimnis des roten Herbstlaubes. Biologie unserer Zeit, Wiley-VCH-Verlag GmbH & Co.KGAA, Weinheim

Schaller, F. : Praktikumsvorschrift Etiolement-Chromatographie-Spektren-1 ohne Kopfzeile.doc, unpubliziert, 2014

. Anhang

8.1 Phänotypischer Vergleich von etiolierten und belichteten Keimlingen unterschiedlichen Alters



Abbildung 8: Belichtete Keimlinge in aufsteigender Reihenfolge vom jüngsten bis zum ältesten Keimling

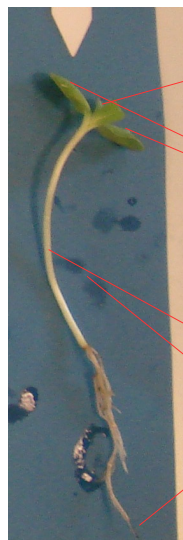


Abbildung 9: Etiolierte Keimlinge in aufsteigender Reihenfolge vom jüngsten bis zum ältesten Keimling

Abb. 8 (von links) 1. Keimling: 1 Tag alt; 2. 2 Tage alt; 3. 3 Tage alt ;4. 4 Tage alt (...)13. 13 Tage alt

Abb. 9 (von links) 1. Keimling: 1 Tag alt; 2. 2 Tage alt 3. 3 Tage alt; 4. 4 Tage alt; 5. 5 Tage alt; 6. 6 Tage alt; 7. 7 Tage alt, 8. 8 Tage alt; 9. 10 Tage alt; 10. 11 Tage alt; 11. 12 Tage alt; 12. 13 Tage alt

8.2 Aufbau eines Sonnenblumenkeimlings



Blätter

Kotyledon
(Keimblatt)

Sproß
Wurzelsystem

Dikotyle
(zweikeimblättrige
Pflanze)

Abb. 10

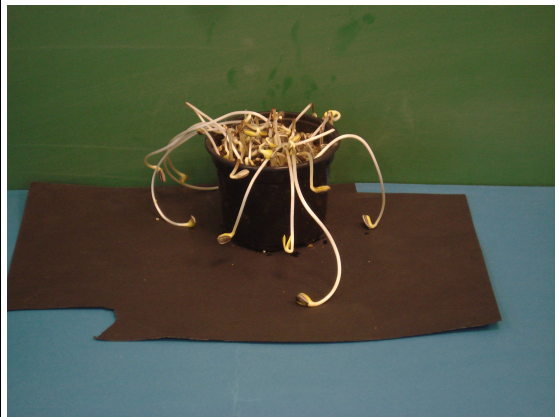
(Bezeichnungen siehe <http://www.biokurs.de/skripten/12/bs12-2.htm>)

8.3 Wachstum und Phänotyp von belichteten und etiolierten Keimlingen im Vergleich

Die Keimlinge wurden bei 20-25°C entweder auf der Fensterbank (belichtet) oder unter Lichtausschluss (etioliert) in Vermiculit angezogen und regelmäßig gegossen.



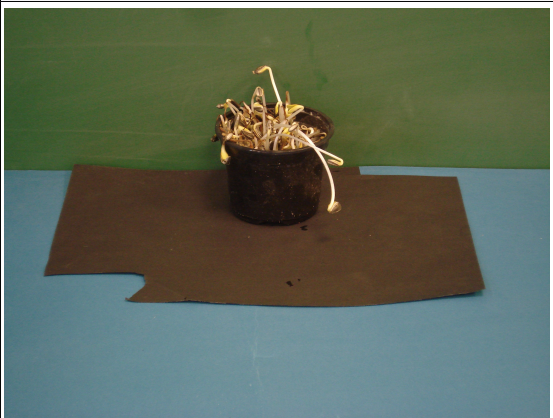
12 Tage alt (belichtet)



12 Tage alt (etioliert)



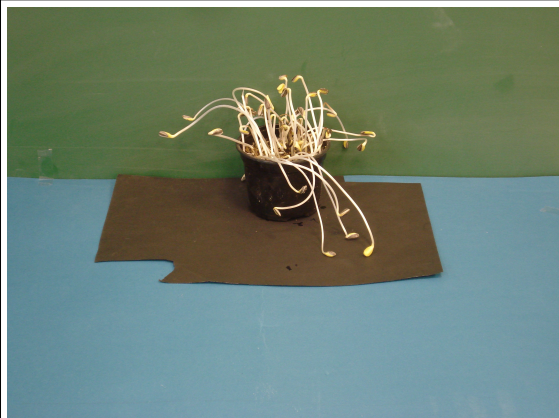
11 Tage alt (belichtet)



11 Tage alt (etioliert)



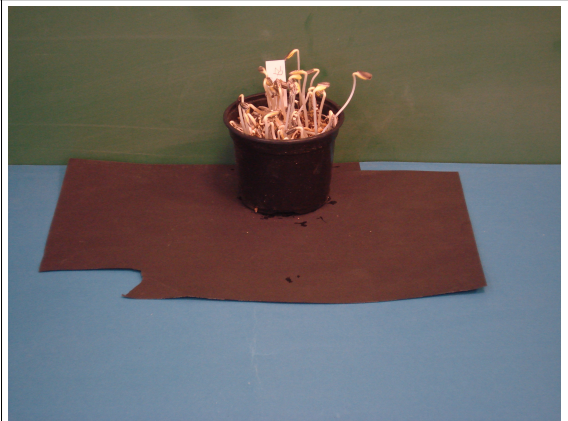
10 Tage alt (belichtet)



10 Tage alt (etioliert)



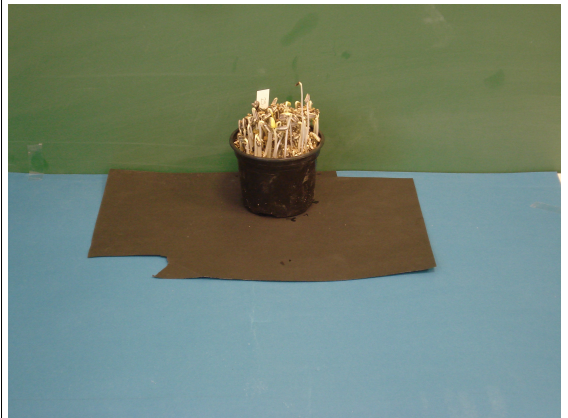
9 Tage alt (belichtet)



9 Tage alt (etioliert)



7 Tage alt (belichtet)



7 Tage alt (etioliert)

Abb. 11 Entwicklung der etiolierten und belichteten Keimlinge

8.4 Zeichnung eines Sonnenblumenkeimlings

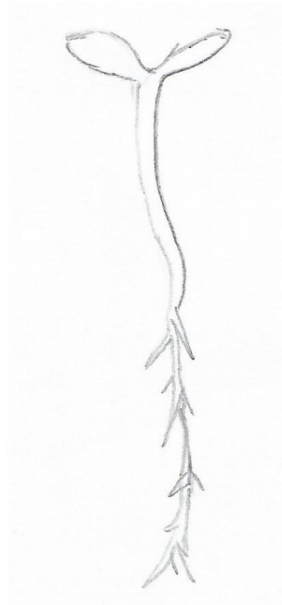


Abb. 12

8.5 Ergebnisse der Versuche mit Erbsenkeimlingen

8.5.1 Extinktionskurven und Absorptionsmaxima

(siehe Bollow 2014)

Die Diagramme zeigen die Ergebnisse einer wie in 3.5 durchgeführten Spektralanalyse. Die Pigmente hierfür wurden nach 3.2 aus den Keimlingen extrahiert und anschließend nach 3.3 dünnsschichtchromatographisch aufgetrennt und vom Kieselgel eluiert. Gegen welches Lösungsmittel das Spektrum aufgenommen wurde ist jeweils unter dem entsprechenden Diagramm vermerkt.

Die Tabellen, die sich unter den Diagrammen befinden, geben die Extinktionsmaxima des Graphen mit dazu gehöriger Wellenlänge an.

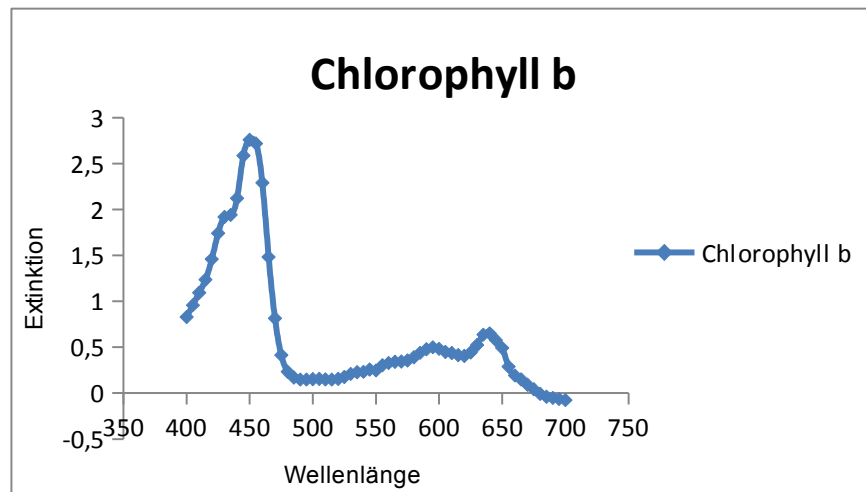


Abb. 13 (Lösungsmittel: Diethylether)

Extinktionsmaxima:

Wellenlänge [nm]	Extinktion []
450	2,758
640	0,651

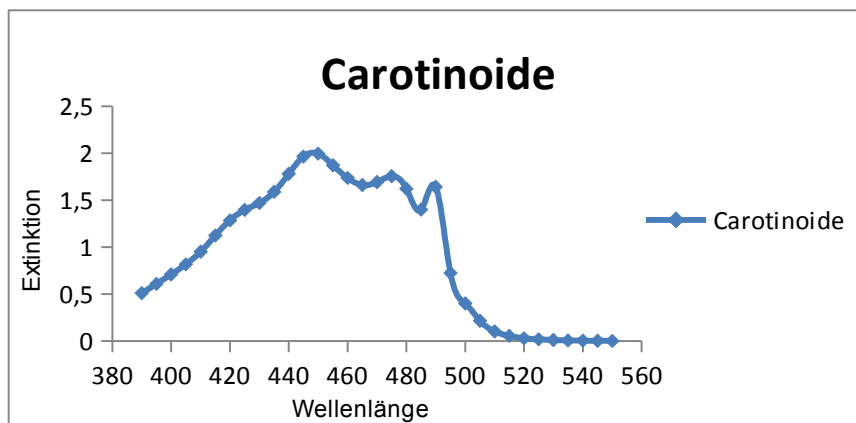


Abb. 14 (Lösungsmittel: n-hexan)

Extinktionsmaxima:

Wellenlänge [nm]	Extinktion []
450	1,996
475	1,755
490	1,641

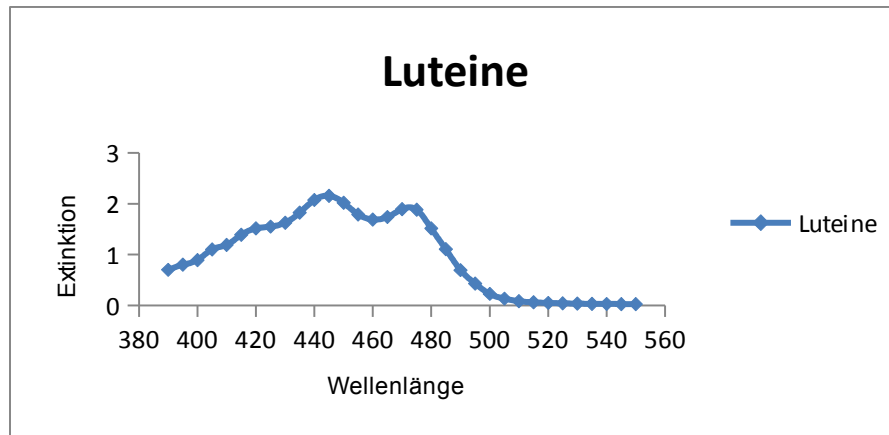


Abb. 15 (Lösungsmittel: Ethanol)

Extinktionsmaxima

Wellenlänge [nm]	Extinktion []
445	2,16
470	1,89

Zu Chlorophyll a liegen keine Versuchsergebnisse vor.

8.5.2 Chlorophyllgehalt

Extinktion/Keimling bei 80% igem Aceton (652nm)		
Alter	Extinktion belichtet	Extinktion etioliert
13 Tage	0,261	0,023

8.5.3 Dünnschichtchromatographie

Die Dünnschichtchromatographie wurde nach 3.3 mit Pflanzenmaterial von Erbsenkeimlingen durchgeführt.



Abbildung 16: DC von belichteten Erbsenkeimlingen

R_f-Werte identisch mit denen der Sonnenblumenkeimlinge (siehe 4.2)

8.5.4 SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese

Das Trenngel stammt von einer SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese die nach 3.7 ebenfalls mit Pflanzenmaterial von Erbsenkeimlingen durchgeführt wurde.

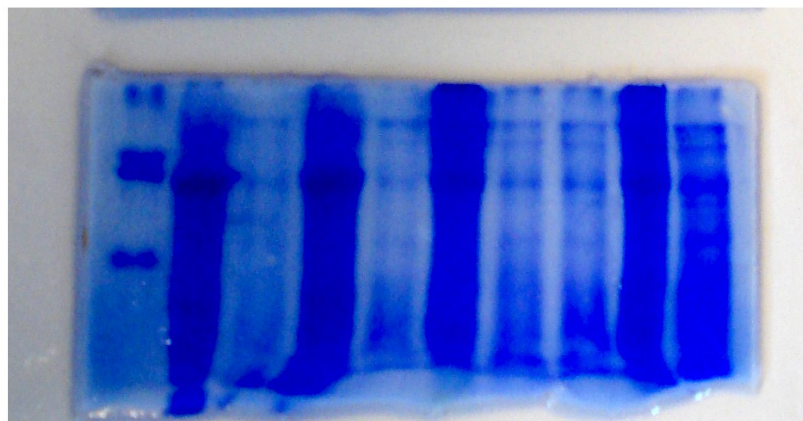


Abbildung 17: Trenngel mit Proben von Erbsenkeimlingen

8.6 Extinktionswerte

8.6.1 Sonnenblumenkeimlinge

Wellenlänge	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Carotine	Luteine			
400	0,028	400	0,258	390	0,044	390	0,053
405	0,027	405	0,279	395	0,05	395	0,061
410	0,034	410	0,279	400	0,059	400	0,068
415	0,042	415	0,237	405	0,068	405	0,076
420	0,057	420	0,174	410	0,079	410	0,091
425	0,073	425	0,116	415	0,091	415	0,105
430	0,086	430	0,077	420	0,104	420	0,114
435	0,088	435	0,051	425	0,111	425	0,117
440	0,095	440	0,034	430	0,116	430	0,121
445	0,133	445	0,033	435	0,125	435	0,136
450	0,165	450	0,033	440	0,141	440	0,154
455	0,194	455	0,029	445	0,154	445	0,163
460	0,146	460	0,019	450	0,157	450	0,154
465	0,096	465	0,011	455	0,149	455	0,137
470	0,058	470	0,002	460	0,137	460	0,125
475	0,036	475	-0,006	465	0,131	465	0,129
480	0,025	480	-0,011	470	0,134	470	0,142
485	0,022	485	-0,014	475	0,14	475	0,144
490	0,021	490	-0,015	480	0,135	480	0,123
495	0,024	495	-0,014	485	0,114	485	0,09
500	0,026	500	-0,02	490	0,085	490	0,058
505	0,026	505	-0,027	495	0,058	495	0,036
510	0,023	510	-0,041	500	0,035	500	0,022
515	0,019	515	-0,054	505	0,021	505	0,015
520	0,018	520	-0,063	510	0,011	510	0,011
525	0,021	525	-0,073	515	0,006	515	0,009
530	0,026	530	-0,071	520	0,005	520	0,008
535	0,025	535	-0,08	525	0,004	525	0,007
540	0,02	540	-0,105	530	0,003	530	0,007
545	0,013	545	-0,112	535	0,003	535	0,006
550	0,017	550	-0,113	540	0,002	540	0,006
555	0,018	555	-0,114	545	0,002	545	0,005
560	0,019	560	-0,116	550	0,002	550	0,005
565	0,018	565	-0,114				
570	0,018	570	-0,117				
575	0,018	575	-0,119				
580	0,019	580	-0,121				
585	0,021	585	-0,116				
590	0,024	590	-0,107				
595	0,027	595	-0,107				
600	0,03	600	-0,094				
605	0,035	605	-0,084				
610	0,037	610	-0,086				
615	0,037	615	-0,081				
620	0,037	620	-0,074				
625	0,041	625	-0,072				
630	0,053	630	-0,064				
635	0,076	635	-0,04				
640	0,075	640	-0,027				
645	0,112	645	-0,02				
650	0,103	650	-0,007				
655	0,107	655	0,029				
660	0,129	660	0,07				
665	0,15	665	0,1				
670	0,14	670	0,097				
675	0,115	675	0,057				
680	0,096	680	0,026				
685	0,091	685	0,016				
690	0,086	690	0,012				
695	0,097	695	0,013				
700	0,099	700	0,014				

8.6.2 Erbsenkeimlinge

(siehe Bollow, 2014)

Wellenlänge (in nm)	Chlorophyll b	Wellenlänge (in nm)	Luteine	Carotinoide
400	0,83	390	0,702	0,509
405	0,958	395	0,802	0,608
410	1,093	400	0,894	0,709
415	1,236	405	1,103	0,816
420	1,458	410	1,192	0,951
425	1,741	415	1,39	1,123
430	1,917	420	1,515	1,285
435	1,94	425	1,55	1,396
440	2,121	430	1,627	1,47
445	2,586	435	1,826	1,589
450	2,758	440	2,074	1,78
455	2,718	445	2,156	1,965
460	2,29	450	2,019	1,996
465	1,481	455	1,789	1,872
470	0,814	460	1,691	1,737
475	0,413	465	1,74	1,662
480	0,235	470	1,894	1,692
485	0,169	475	1,883	1,755
490	0,148	480	1,515	1,623
495	0,148	485	1,106	1,399
500	0,153	490	0,696	1,641
505	0,155	495	0,433	0,723
510	0,15	500	0,229	0,399
515	0,148	505	0,136	0,215
520	0,156	510	0,085	0,101
525	0,175	515	0,063	0,053
530	0,209	520	0,051	0,028
535	0,227	525	0,043	0,017
540	0,232	530	0,037	0,009
545	0,258	535	0,034	0,005
550	0,247	540	0,031	0,003
555	0,303	545	0,029	0,001
560	0,328	550	0,027	0
565	0,341			
570	0,344			
575	0,355			
580	0,391			
585	0,439			
590	0,477			
595	0,499			
600	0,482			
605	0,448			
610	0,437			
615	0,413			
620	0,406			
625	0,444			
630	0,524			
635	0,636			
640	0,651			
645	0,576			
650	0,491			
655	0,288			
660	0,192			
665	0,149			
670	0,092			
675	0,042			
680	-0,008			
685	-0,039			
690	-0,052			
695	-0,064			
700	-0,076			

8.5.3 Literaturwerte (siehe auch Praktikumsvorschrift)

	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Lutein	Carotine(α/β)
SP	/	/	421	422/423
HP 1	430	453	446	446/450
HP 2	662	642	475	473/478

8.7 Praktikumsvorschrift Etiolement, Chromatographie, Spektren

9. Erklärung

Ich erkläre, dass ich die Facharbeit ohne fremde Hilfe angefertigt und nur die im Literatur- und Quellenverzeichnis angeführten Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Bochum, 25.11.14

Ort, Datum

Ariane Schücker

Unterschrift