

Praktikum der Ökophysiologie der Pflanzen im WS 2003/2004
Projektleiter: Prof. Jürgen Schmitt

Untersuchung des C₃-CAM-Überganges bei
Mesembryanthemum crystallinum
sowie des Einflusses einer Salzbehandlung
und Dauerbelichtung

Praktikumsdauer: 26. Januar-20 Februar 2004

Protokollanten:

Linda Corvers

Oliver Karge

Bianca Kögler-Mohrbacher

Martin Lehmann

Michael Szczepek

Natalia Tschowri

Einleitung

Im Laufe unseres 4-wöchigen Praktikums haben wir uns intensiv mit der Analyse der Fluoreszenz und des Stoffwechsels bei *Mesembrythemum crystallinum* beschäftigt. *M. crystallinum* ist heimisch in Südafrika, an den Küsten des Mittelmeeres und der Kanarischen Inseln sowie in Südafrika.

Es ist eine ein- bis zweijährige Pflanze, die an kriechenden fleischigen Achsen sukkulente Blätter, die mit Drüsen besetzt sind, besitzt. Die Mittagsblume entwickelte sich zu einem Modellorganismus der Physiologie nachdem ihre stressinduzierbare Umstellung von der C3- zur CAM-Form entdeckt wurde. Diese Entwicklung, die durch Stress, Hormone und z.B. Seneszenz induziert werden kann, schließt große Veränderungen der Morphologie und des Stoffwechsels ein.



Erfolgt die Induktion von CAM (crassulacean acid metabolism), so wird in den fleischigen Blättern dieser Pflanzen während der Nacht vermehrt organische Säuren (meist Malat) angehäuft, welche am Tag wieder abgebaut werden. Dieser diurnale Säurerhythmus kommt durch eine Fixierung von respiratorischen CO₂ mit Hilfe der Phosphoenolpyruvatcarboxylase in der Nacht zu Stande. Die in der Zellvakuole deponierte Säure kann am Tag wieder decarboxyliert werden und liefert dadurch CO₂ für den Calvin-Zyklus. Durch die Speicherung von CO₂ während der Nacht können die Spaltöffnungen am Tag weitgehend geschlossen bleiben, wodurch der Wasserverlust stark vermindert werden kann.

Zur Bestimmung der Photosyntheseleistung und somit des Stoffwechsels wählten wir die Chlorophyllfluoreszenzanalyse mit Hilfe des PAM-Fluorimeters. Dabei gingen wir gezielt auf die folgenden Parameter ein:

1. Fv/m: Gibt die maximale PSII Quantenausbeute der dunkeladaptierten Proben an.
2. Yield: Entspricht der effektiven Quantenausbeute von PSII bei einer belichteten Probe.
3. qP: Photochemisches Quenching
4. qN: Nicht-Photochemisches Quenching
5. qF: Schnelle Komponente des qN, abhängig vom Protonengradienten
6. qS: Langsame Komponente des qN, abhängig von den photoinhibitorischen Vorgängen
7. 1-qP: Reduktionsstatus von Q

Aufbauend auf der Arbeit von D.R. Keiller, S.P. Slocombe und W. Cockburn „ Analysis of chlorophyll a fluorescence in C3 and CAM forms of *Mesembryanthemum crystallinum*“ (→ Literaturverzeichnis) versuchten wir die folgenden Fragestellungen zu klären:

I. Wann erfolgt die altersabhängige Induktion von CAM (bei Pflanzen im Alter von 20 – 112 Tage) ?

II. Erfolgt die Umstellung von *M.crystallinum* von der C3- zu CAM-Form eher, wenn die Pflanzen mit einer Hoglands Lösung mit Salz behandelt werden?

III. Hat eine Dauerbelichtung mit ca. $560 \mu\text{mol} \times \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ und somit das Ausschalten der Dunkelphase eine Auswirkung auf den Wechsel von C3 zu CAM? Wie verhält sich die Photosyntheseleistung von PSII unter diesen Umständen?

1. Teil : PS II Quantenausbeute und Säure Messung

Material&Methoden:

Als Versuchspflanzen dienten uns *Mesembryanthemum crystallinum* und die Kartoffel.

Die Pflanzen standen in einem Plexiglkasten mit den Maßen von ca. 150cm Länge x ca.80cm Breite x ca. 50cm Höhe. Der Kasten wurde jeden Tag um 17.00 Uhr mit schwarzer Gartenfolie abgedeckt und am nächsten Morgen um 8.00 Uhr aufgedeckt. Die Beleuchtungsbedingungen waren auf diese Weise für alle Pflanzen vom realen Tag/Nacht Rhythmus unabhängig. Es waren 5 verschiedene Pflanzengruppen (Linien) unterschiedlichen Alters im Versuchskasten.

Die Aussaattermine sind in Tab.:1 dargestellt.

Von allen Versuchslinien wurde ein Teil der Pflanzen, jeden zweiten Tag, mit reiner Hoaglands-Lösung und der Rest mit Hoaglands-Lösung + 400 mM NaCl gegossen.

Tab.:1 Die einzelnen Linien

Linie	1	2	3	4	5
Aussaat am:	06.01.04	30.12.03	16.12.03	14.10.03	16.09.03
mit Salz	12 Stück	12 Stück	4 Stück	4 Stück	4 Stück
ohne Salz	5 Stück	6 Stück	2 Stück	2 Stück	2 Stück
morphologische Besonderheiten	-ca. 4 meist kleine Blätter - Sproß unverzweigt	- große, kräftige Blätter - Sproß unverzweigt	- große, kräftige Blätter - Sproß bildet erste Verzweigung	- Blätter werden kleiner - Sproß stark verzweigt - erste Blüten	- Blätter sehr klein - Sproß stark verzweigt - viele Blüten
Vermutung über Photosynthese-	C3	C3	C3 - CAM	CAM	CAM

Linie	1	2	3	4	5
weg					

Praktikumsdauer: 26.01.04 – 20.02.04

Verabreichte Salzkonzentration: 400 mM NaCl

Als Kontrollpflanze diente eine Kartoffelpflanze, die ebenfalls im Versuchskasten stand und mit Hoaglands+Salz gegossen wurde.

Der Versuchskasten wurde mit 3 HQI-Strahlern(a 400W) beleuchtet. Die Lichtintensität betrug in der Höhe der Pflanzen ca. 200 Mikro-Einstein. Im Versuchskasten herrschte eine durchschnittliche Luftfeuchte von ca. 80% und die Temperatur schwankte zwischen 23°C (Nacht) und 28°C(Tag).

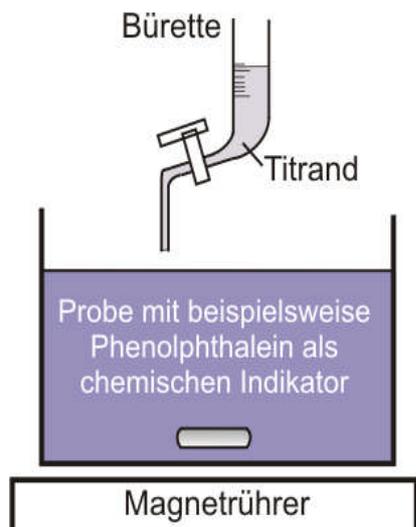
Von den Versuchspflanzen wurden jeden Morgen(8.00) und Abend(14.00) die Fv:m-Werte gemessen. Es wurden pro Linie fünf *Mesembryanthemum crystallinum* ausgewählt und untersucht, wobei jeweils 3 mit Salz und 2 ohne Salz behandelte Pflanzen gemessen wurden. Für die Ermittlung der Morgens- und Abendmesswerte wurden immer die gleichen Pflanzen benutzt. Alle Messwerte wurden doppelt und an zwei verschiedenen Blättern der Pflanze ermittelt.

Zur Bestimmung von Fv:m benutzten wir das TEACH-PAM-Fluorimeter, im Basic-Mode. Fv:m wurden mittels eines M-Pulses, am lebendem Objekt, mit der Fiberglas-Optik gemessen. Jede Messung fand direkt im, ca. 10 min vorher abgedunkelten, Versuchskasten statt.

Bei Fv:m handelt es sich um die maximale PS II Quantenausbeute der dunkeladaptierten Pflanze.

Zur Säuregehalts Messung wurde den zu untersuchenden Pflanzen in einer festgelegten Zeitlichen abfolge Blattmaterial entnommen. Dieses wurde gewogen um das Frischgewicht zu ermitteln, anschließend bei 100 C° für 10 Minuten gekocht um die Zellen aufzuschließen und danach mit einer Büretten mit 0,0001 Mol NaOH Lösung titriert. Als Indikator der H⁺ Konzentration verwendeten wir Phenolphthalein.

Einschließlich dem Kochen wurde das Blattmaterial in feuchten Tüchern im dunkeln gehalten, um möglichen vorzeitigen Abbau vom CAM zu vermeiden. Zur Auswertung wurden folgende Statistikverfahren verwendet: Test auf Normalverteilung, T-Test, Kolmogorov-Smirnov-Test; F-Test; Medianbildung.



Auswertung

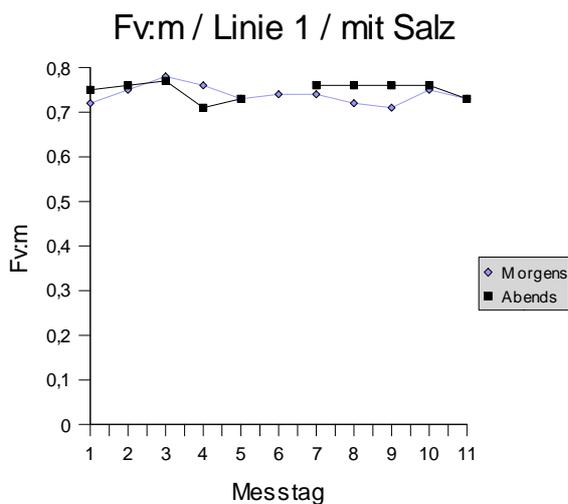


Abb.:1.1

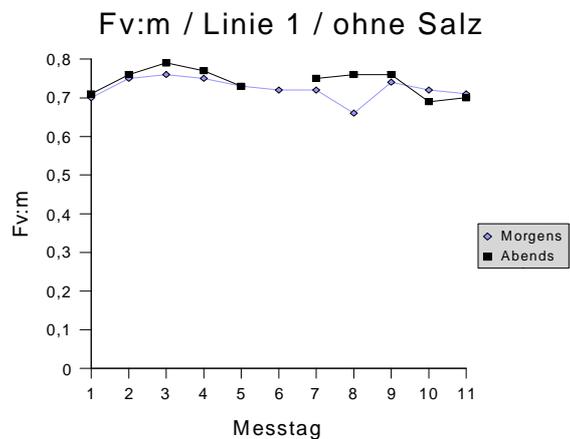


Abb.:1.2

Aus den Fv:m-Werten wird ersichtlich, dass die Pflanzen der Linie1 nicht durch die Gabe von Hoagland-Lösung + Salz gestreßt werden konnten (keine PSII Schädigung). Die Werte für Fv:m lagen über die Dauer des Versuches relativ konstant um 0,750. Die Pflanzen, die zusätzlich zur Hoaglands-Lösung kein Salz bekamen (siehe Abb.:1.2), wiesen innerhalb der ersten drei Versuchstage einen Anstieg der Fv:m-Werte von 0,700 auf ca. 0,800 auf. Im Laufe des Versuchs sanken die Werte aber wieder etappenweise auf 0,700. Der Vergleich der Morgen- und Abendwerte zeigt auf, dass die Werte am Morgen größten Teils unter den Abendwerten lagen.

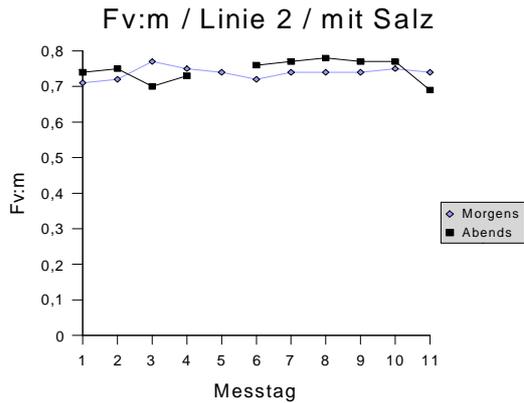


Abb.:1.3

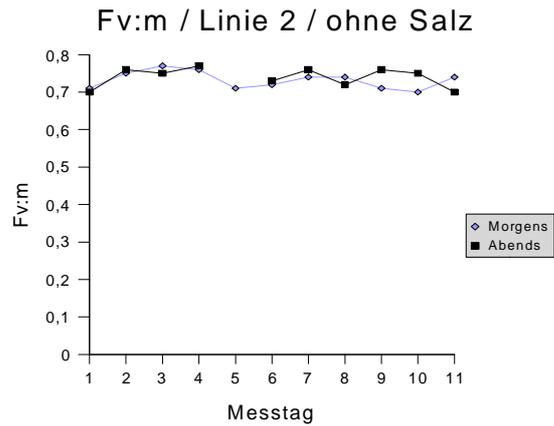


Abb.:1.4

Die Pflanzen der Linie2 verhielten sich ähnlich wie die Pflanzen der Linie1. Durch die zusätzliche Gabe von Salz konnte keine Änderung der Fv:m-Werte über die Dauer des Versuchs erreicht werden. Bei den Versuchspflanzen, die ausschließlich mit Hoaglands gegossen wurden (siehe Abb.:1.4), wurde ebenfalls ein leichter Anstieg der Fv:m-Werte innerhalb der ersten 3 Tage beobachtet.

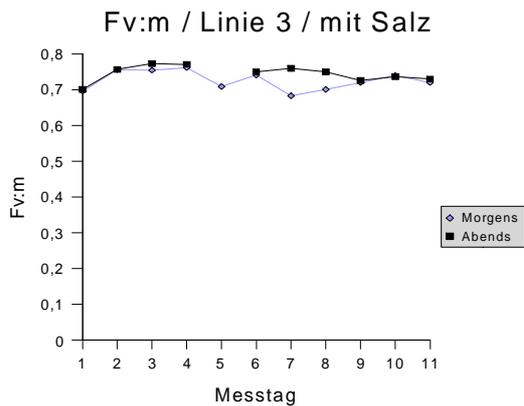


Abb.:1.5

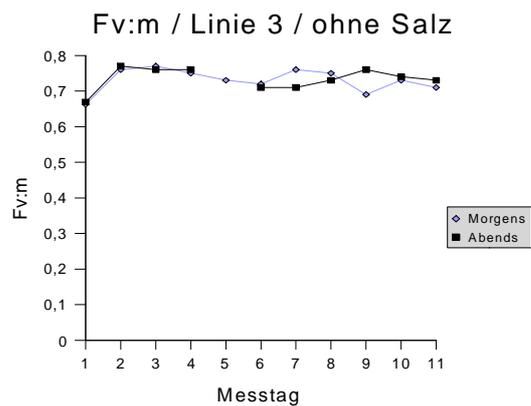


Abb.:1.6

Bei den Versuchspflanzen der Linie3 wurde bei allen Pflanzen (mit und ohne Salz) ein Anstieg der Fv:m-Werte über den Verlauf der ersten 3-4 Tage festgestellt.

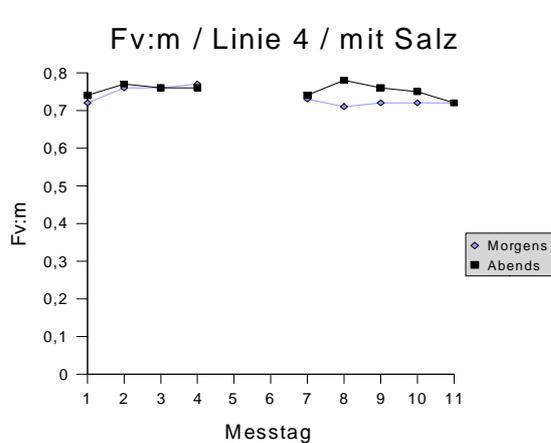


Abb.:1.7

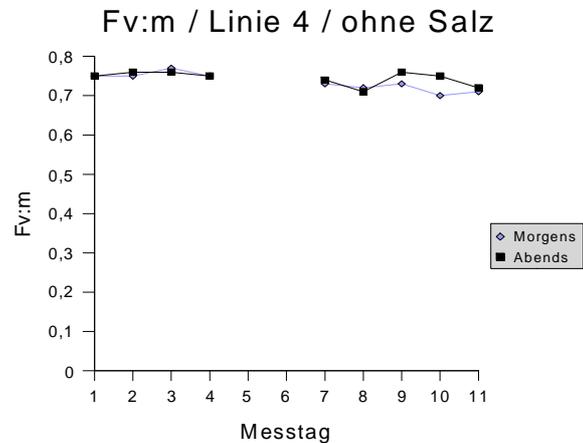


Abb.:1.8

In der Linie4 sind die Werte über die ersten vier Tage nahezu konstant geblieben. Um den 8. Messtag herum war bei den Versuchspflanzen mit Salz (siehe Abb.:1.7) ein leichter Anstieg, bei den Versuchspflanzen ohne Salz (siehe Abb.:1.8) hingegen ein leichter Abfall der Werte zu beobachten. Beide Schwankungen wurden aber in den folgenden Tagen wieder ausgeglichen.

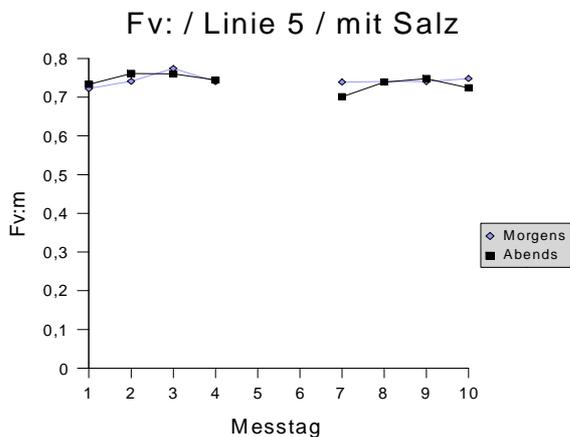


Abb.:1.9

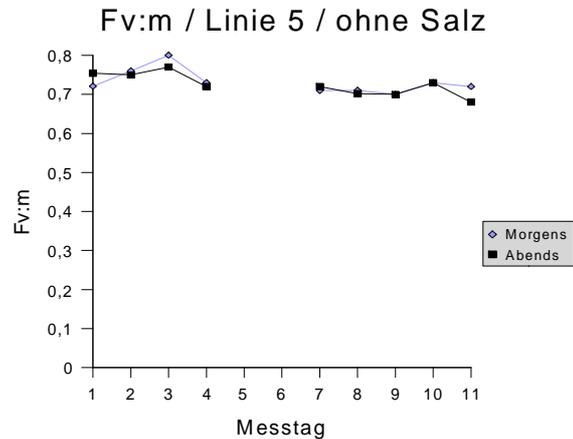


Abb.:1.10

In der Linie5 blieben die Werte für Fv:m über den Tag relativ konstant. Bei den Pflanzen, die ausschließlich mit Hoaglands gegossen wurden(siehe Abb.:1.10) konnte bis zum dritten Tag ein Anstieg der Fv:m-Werte beobachtet werden. Über den gesamten Versuchszeitraum betrachtet waren die Werte aber auch bei dieser Linie recht konstant.

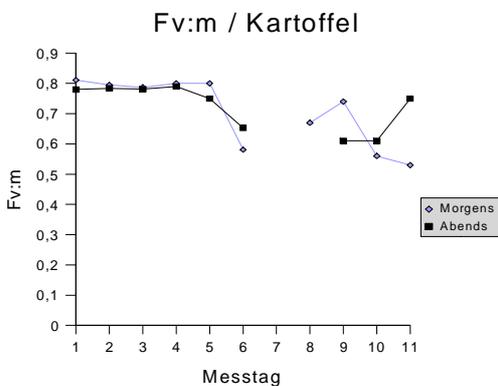


Abb.:1.11

Innerhalb der ersten 6 Messtage sank die maximale Quantenausbeute der Kartoffel von ca. 0,8 auf ca. 0,65. Am Messtag 9 war eine Verbesserung der Quantenausbeute am Morgen zu verzeichnen, über den Tag verschlechterte sie sich aber wieder.

Im Gegensatz zu den Versuchspflanzen der Linien1-5 konnte bei der Kartoffelkontrolle ein tendenzieller Abfall von Fv:m über den gesamten Zeitraum des Versuches beobachtet werden.

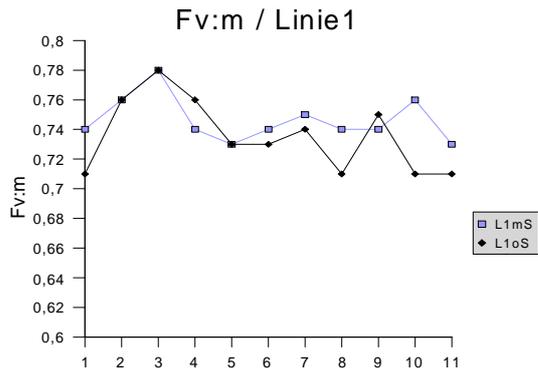


Abb.:1.12

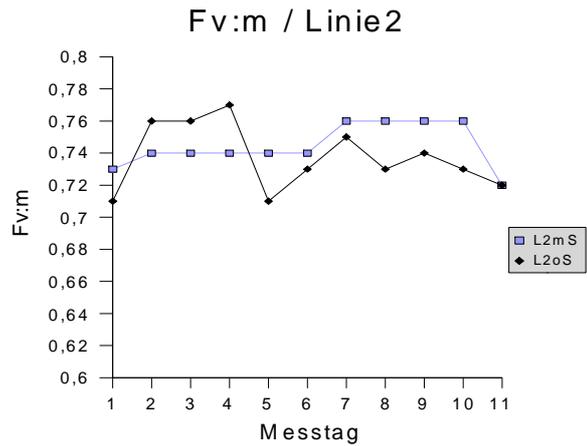


Abb.:1.13

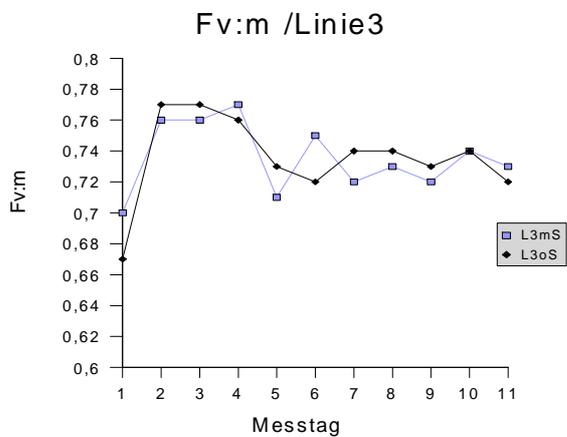


Abb.:1.14

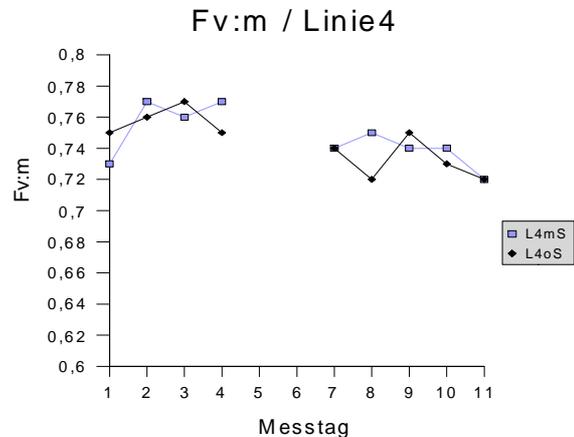


Abb.:1.15

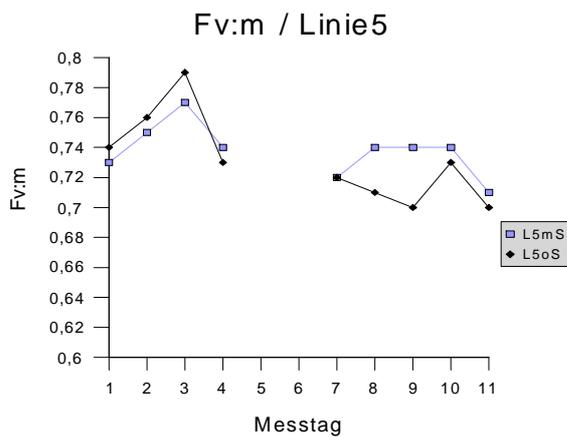


Abb.:1.16

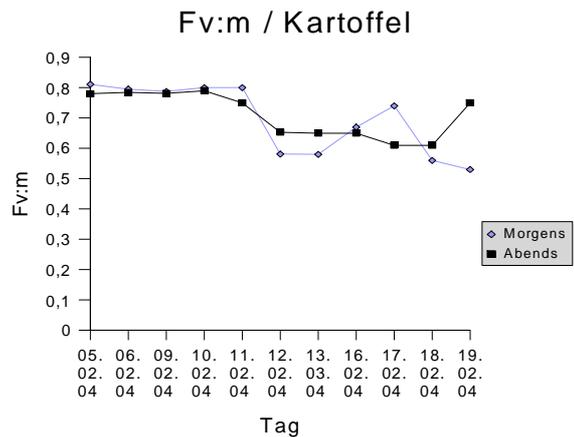


Abb.:1.17

Im direkten Vergleich der Pflanzen der Linien 1-5 (mit und ohne Salz) wird ersichtlich, dass es keine großen Unterschiede zwischen den mit reinem Hoaglands und den mit Hoaglands+Salz behandelten Pflanzen gibt. Die verabreichten Salzmengen wurden problemlos akzeptiert und reichten nicht aus um die Pflanzen wie geplant unter Salzstreß zu setzen . Unter Betrachtung der Fv:m-Werte wurden die Versuchspflanzen nicht durch zu hohe Salzkonzentrationen gestreßt.

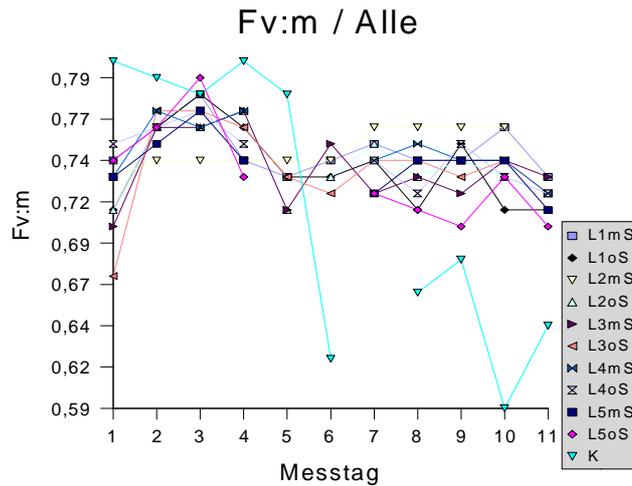


Abb.:1.18

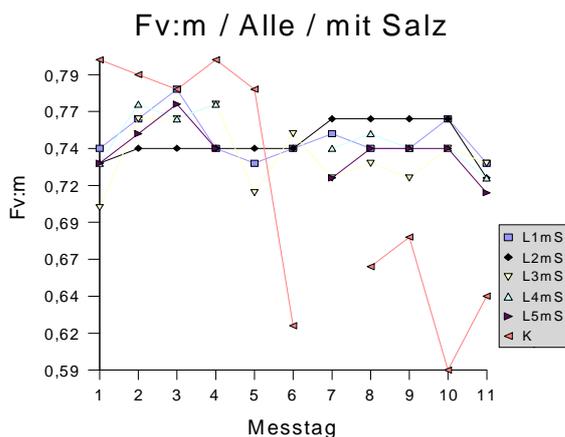


Abb.:1.19

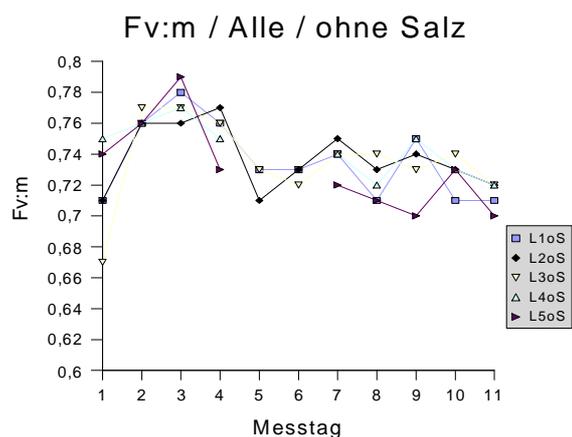


Abb.:1.20

Unter Betrachtung aller Linien kann gesagt werden, das offensichtlich keine der Versuchslinien durch die Gabe von Hoaglands+Salz einem derart großem Salzstreß ausgesetzt werden konnte, dass die Fv:m-Werte signifikant abfielen.

Hingegen wiesen die Versuchspflanzen die mit reiner Hoaglands gegossen wurden alle bis zum 3. Versuchstag steigende Fv:m-Werte auf, die dann aber bis zum Versuchsende stetig abfielen.

Ein eindeutiges Abfallen von Fv:m konnte nur bei der Kartoffel beobachtet werden.

Die *Mesembryanthemum crystallinum* kommt im Gegensatz zur Kartoffel bestens mit den verabreichten Salzkonzentrationen zurecht. Es konnten weder im C3- noch im CAM-Stadium Verschlechterungen in der maximalen Quantenausbeute des PS II nachgewiesen werden.

Bei der Kartoffel hingegen hat sich die maximale Quantenausbeute des PS II (Fv:m) über die Versuchsdauer sichtlich verschlechtert. Ob dieses Abfallen der Quantenausbeute allein auf die verabreichte Salzmenge zurückzuführen ist, ist fraglich. Wir hätten noch mindestens eine zweite Kartoffelpflanze in den Versuchskasten stellen und diese Pflanze nur mit reiner Hoaglands-Lösung gießen sollen.

Ergebnisse und Diskussion der Säurekonzentrations-Messungen

Zu Beginn sollen die einzelnen Linien im Verlauf des Untersuchungszeitraumes gezeigt werden:

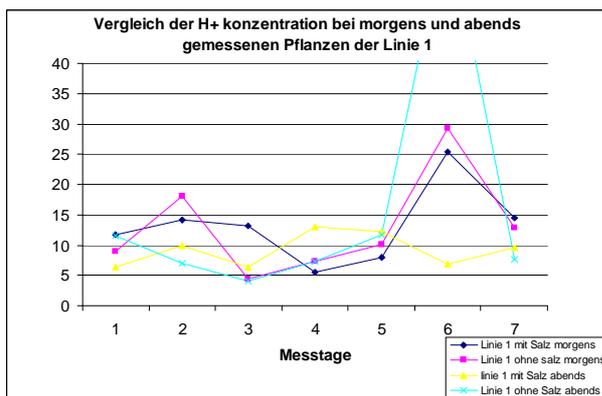


Abb.:1.21

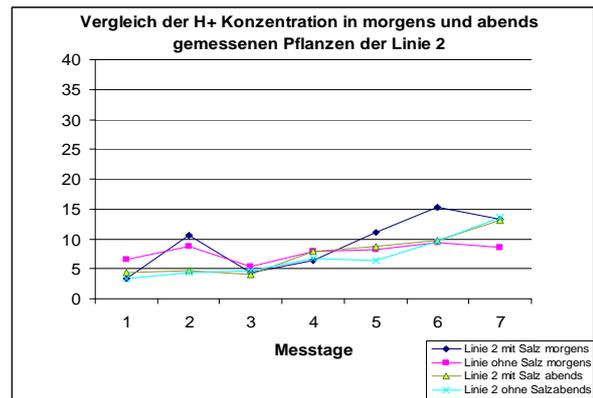


Abb.:1.22

In der Abb.:1.21 ist deutlich zu erkennen, das bis auf den Ausreißer der hellblauen Linie die Säure Werte bei mit Salz gegossenen Pflanzen und bei den ohne Salz gegossenen Pflanzen Zwischen 5 und 15 schwanken.

Es ist kein signifikanter Unterschied zu erkennen.

In der Abb.1.2 wird nochmals deutlich, das bei Fig.1 nur ein Ausreißer die starke Abweichung von den anderen Werten erklären kann.

Im Verlauf der Untersuchungszeitraumes ist eine leichte Erhöhung der Säurewerte sowohl bei den mit Salz als auch ohne Salz behandelten Pflanzen zu erkennen (Abb.:1.22).

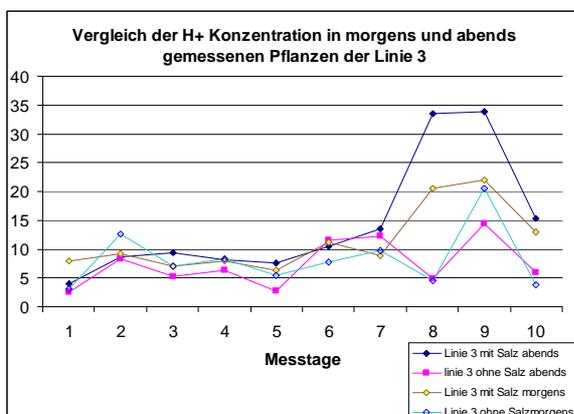


Abb.:1.23

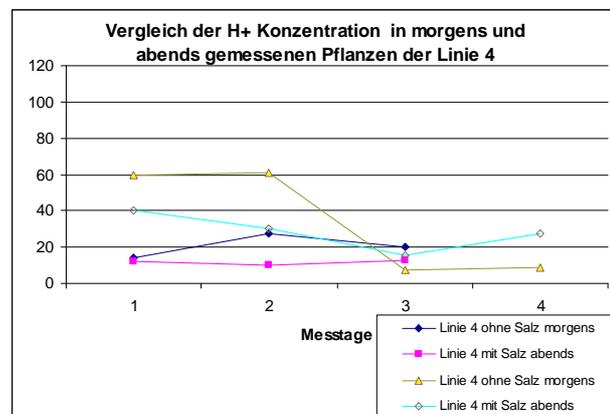


Abb.:1.24

In Abb.:1.23 sieht man deutlich, das Der Säuregehalt im Vergleich zu den jüngeren Linien 1 und 2 deutlich ansteigt. Bei den ohne Salz behandelten Linien ist lediglich eine Ansäuerung

über den gesamten Untersuchungszeitraum zu erkennen beobachten. Bei den mit Salz behandelten Linien können wir ab dem 8 Untersuchungstag auch eine Absäuerung am Abend beobachten.

Verglichen mit der Linie 4 (Abb.:1.24), die nachweislich auf CAM umgestellt hat, sehen wir aber eine deutlich geringere Säurekonzentration (Veränderte Skala bei Abb.:1.24 dient der besseren Auflösung).

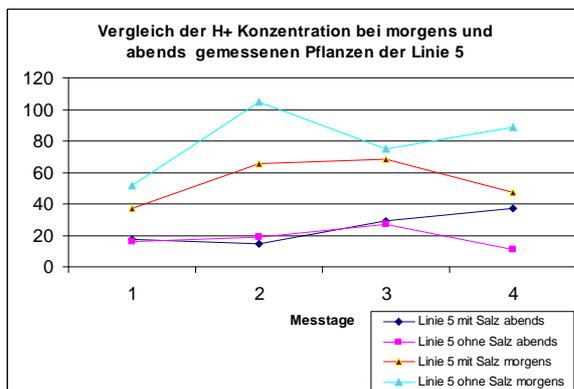


Abb.:1.25

Die Abbildung Abb.:1.25 zeigt nochmals den Verlauf bei einer CAM bildenden Linie, wodurch die Unterschiede zu Linie 3 nochmals deutlich hervorgehoben werden. Hier wird auch die Absäuerung am Abend nochmals deutlich.

Um die biologische und individuelle Diversität der Pflanzen zu untersuchen wurden von einer Pflanze alle Blätter gewogen und titriert.

Nach einer statistischen Auswertung wurde deutlich gezeigt, dass die Werte Normalverteilt sind (Abb.:1.26).

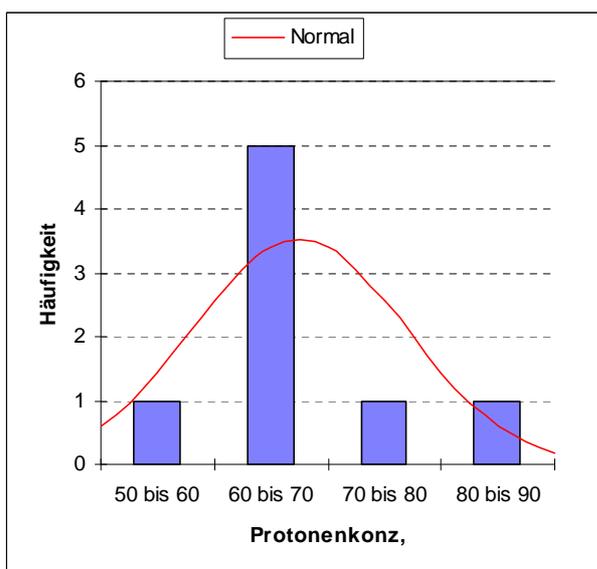


Abb.:1.26 Protonenkonzentration von einzelnen Blättern einer Pflanze

Test auf Normalverteilung			
Kolmogorov-Smirnov-Test für kontinuierliche Variable			
	N	D	P
Protonenkonz.,	8	0,18487829	0,94737188

Häufigkeiten			
	Häufigkeit	Prozent	Prozent kumuliert
Protonenkonz.,			
50 bis 60	1	12,50	12,50
60 bis 70	5	62,50	75,00
70 bis 80	1	12,50	87,50
80 bis 90	1	12,50	100,00

Um zu untersuchen, ob die Linie 3 nicht schon nachweislich komplett auf CAM umgestellt

wurde mit Hilfe des Statistischen T-Test die Linie 3 mit der Linie 5 verglichen. Dabei wurden die Messungen für den gleichen Zeitraum zusammengefasst und es wurden Mediane gebildet, die anschließend mit dem T-Test untersucht wurden.

Das Ergebnisse der Rechnung zeigt deutlich, das die Linie 3 noch nicht auf CAM umgestellt hat (Abb.:1.27und 28).

2. Teil: Untersuchung der quenching Parameter der Linie 3 und Vergleich mit einer C₃- und einer CAM- Form von *Mesembryanthemum crystallinum*

Einleitung

In diesem Versuch wurden die quenching Parameter (qP, qN und qS) der Linie 3 an mehreren aufeinander folgenden Tagen mit dem PAM- Fluorimeter aufgenommen und mit denen der Linie 1 (C₃- Form) und denen der Linie 4 (CAM- Form) verglichen Da im Verlauf der Untersuchungszeit eine Umstellung der Pflanzen der Linie 3 von C₃- auf CAM- Stoffwechsel erwartet wurde, sollte untersucht werden, ob sich diese Umstellung im Verhalten der quenching Parameter widerspiegelt.

Hierzu sollten die Experimente von Keiller *et al.* (1993)¹ nachempfunden und weitergeführt werden das heißt, die Durchführung erfolgte wie im Paper angegeben. Keiller konnte sowohl im zeitlichen Verlauf des gesamt-nichtphotochemischen quenchings qN, als auch für dessen langsam abklingende Komponente qS Unterschiede für die C₃- Form und die CAM- Form von *Mesembryanthemum crystallinum* feststellen. Danach zeigten die CAM- Formen wesentlich höhere Werte für qN als C₃ (ca. doppelt so hoch, in der ersten Stunde der Belichtung noch höhere Werte). Dieser hohe qN war mit einem höheren Reduktionsstatus von Q über die Belichtungszeit (wiederum v.a. in der ersten Stunde der Belichtung) verbunden. Bezüglich der langsam abklingenden Komponente von qN (qS) zeigen C₃- Formen ebenfalls niedrigere Werte an, die zudem über die Photoperiode leicht abfallen. Die CAM- Formen dagegen zeigen einen Anstieg von qS über die Belichtungszeit. Dieser Anstieg ist besonders stark während der ersten 1,5 Stunden der Belichtung ausgeprägt. Nach etwa 5 Stunden Belichtungszeit fallen die Werte langsam ab, so daß sich graphisch ein glockenförmiger Kurvenverlauf ergibt.

Material und Methoden

Zunächst wurden die quenching Parameter für je eine Pflanze der Linie 1 und der Linie 4 als Vergleichswerte für eine C₃ und eine CAM- Pflanze aufgenommen (die Zuordnung erfolgte anhand der Ergebnisse der Säuremessung).

Die untersuchte Pflanze der Linie 3 wurde vor Beginn der Messung bereits seit 9 Tagen mit Hoaglands solution + 400 mM NaCl gewässert (Salzinduktion). Über den Meßzeitraum wurde diese Bewässerung fortgesetzt.

Alle Pflanzen wurden in einem verdunkelbaren Glaskasten bei einer Belichtungszeit von 8:00 bis 17:00 und einer Lichtstärke von etwa 200 µEinstein herangezogen.

Die Messung erfolgte mit der Faseroptik des PAM- Fluorimeters bei Meßlichtintensität 15 und aktinischer Lichtintensität 4. Dies entspricht einem PAR von 56 µmol x m⁻¹ x s⁻². Dabei wurde die Pflanze aus dem Glaskasten entnommen und die Faseroptik mit Hilfe eines Stativs auf ein frisches Blatt gerichtet. Vor Beginn der Messung wurde die Pflanze durch Abdeckung mit einer schwarzen Folie 5 min lang verdunkelt. Es folgte ein Sättigungspuls mit der Taste M, der einen f₀- Wert und Fv/Fm angibt. Anschließend wurde die Pflanze aufgedeckt und

über einen Zeitraum von 15-20 min alle 30 Sekunden ein Sättigungspuls (Intensität 10) gegeben bis die aufgezeichneten quenching Parameter qP und qN etwa konstante Werte zeigten.

Nun wurden Sättigungspulse, aktinisches Licht und Meßlicht abgeschaltet und die Pflanze für 3 min mit der schwarzen Folie verdunkelt. Nach einem einmaligen Sättigungspuls (Taste S) wurde der Wert qN (nach 3 min) aufgenommen. Dieser dient der Abschätzung der langsamen Komponente des nichtphotochemischen quenchings qN .

Zur Auswertung wurden Mittelwerte der letzten 5 aufgenommenen qP - und qN - Werte gebildet.

Bei Linie 3 wurde im Laufe eines Tages dasselbe Blatt untersucht, an den einzelnen Tagen jedoch z.T. unterschiedliche Blätter, da diese schnell welkten.

Ergebnisse

Tabelle 2.1.: Bestimmung der quenching Parameter für Linie 4 am 11.02.04

Zeit	Fv/Fm	qP	qN	qN nach 3 min	
08:46		0,715	0,990	0,442	0,176
09:30		0,659	1,000	0,885	0,785
10:40		0,706	0,866	0,645	0,034
11:30		0,663	0,846	0,382	0,002
12:30		0,752	0,982	0,521	0,104
13:45		0,752	0,930	0,438	0,145
15:00		0,745	0,952	0,363	0,113
16:00		0,757	0,901	0,449	0,150

Tabelle 2.2.: Bestimmung der quenching Parameter für Linie 1 am 17.02.04

Zeit	Fv/Fm	qP	qN	qN nach 3 min	
08:55		0,720	0,884	0,318	0,002
10:00		0,734	0,916	0,411	0,063
10:55		0,716	1,000	0,449	0,117
12:15		0,725	0,961	0,495	0,158
13:10		0,731	1,000	0,432	0,170
14:20		0,725	0,972	0,375	0,094
15:00		0,717	0,983	0,357	0,085

Tabelle 2.3.1.: Bestimmung der quenching Parameter für Linie 3 am 12.02.04

Zeit	Fv/Fm	qP	qN	qN nach 3 min	
08:45		0,627	0,753	0,423	0,002
09:15		0,624	1,000	0,201	0,145
09:40		0,629	0,850	0,619	0,020
11:10		0,642	0,769	0,420	0,002
12:20		0,585	0,782	0,294	0,002
13:10		0,303	0,743	0,002	0,002
14:10		0,679	0,810	0,371	0,124
15:10		0,666	0,823	0,385	0,002

Zeit	Fv/Fm	qP	qN	qN nach 3 min	
16:10		0,725	0,965	0,365	0,170

Tabelle 2.3.2.: Bestimmung der quenching Parameter für Linie 3 am 13.02.04

Zeit	Fv/Fm	qP	qN	qN nach 3 min	
08:40		0,627	0,752	0,275	0,002
09:40		0,605	0,791	0,002	0,002
10:40		0,607	0,879	0,367	0,002
11:40		0,710	0,888	0,452	0,233
12:50		0,699	0,994	0,526	0,074
13:40		0,723	0,938	0,462	0,120
14:55		0,668	1,000	0,956	0,772

Tabelle 2.3.3.: Bestimmung der quenching Parameter für Linie 3 am 16.02.04

Zeit	Fv/Fm	qP	qN	qN nach 3 min	
08:30		0,763	0,829	0,401	0,180
08:55		0,776	0,880	0,450	0,141
09:55		0,761	0,928	0,542	0,117
10:55		0,759	0,974	0,515	0,002
11:55		0,750	0,948	0,499	0,062
12:55		0,765	0,936	0,487	0,131
13:55		0,736	0,875	0,463	0,241
14:55		0,769	0,988	0,514	0,138

Tabelle 2.3.4.: Bestimmung der quenching Parameter für Linie 3 am 18.02.04

Zeit	Fv/Fm	qP	qN	qN nach 3 min	
08:50		0,754	0,892	0,604	0,058
09:50		0,758	0,997	0,331	0,152
10:50		0,691	0,906	0,170	0,002
11:50		0,736	0,903	0,231	0,002
12:35		0,704	1,000	0,381	0,051
14:13		0,755	0,959	0,466	0,087
15:18		0,770	0,926	0,388	0,133

Tabelle 2.3.5.: Bestimmung der quenching Parameter für Linie 3 am 19.02.04

Zeit	Fv/Fm	qP	qN	qN nach 3 min	
08:40		0,751	0,831	0,462	0,125
09:55		0,753	0,911	0,536	0,106
11:05		0,761	0,774	0,577	0,178
12:05		0,736	0,783	0,538	0,055
13:05		0,759	0,879	0,487	0,048
14:05		0,762	0,863	0,466	0,082
15:00		0,727	0,964	0,529	0,200

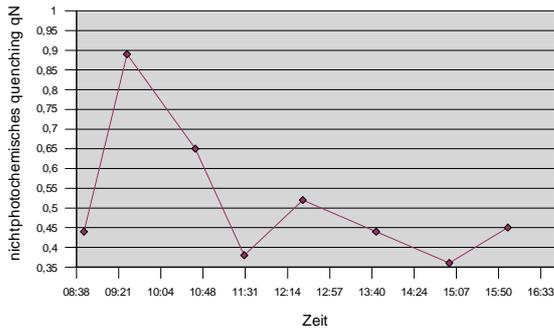


Abb.2.1.: Linie 4

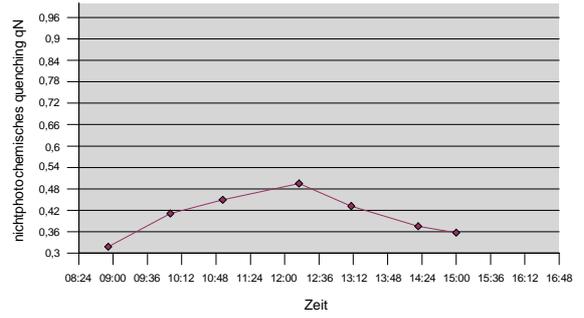


Abb.2.2.: Linie 1

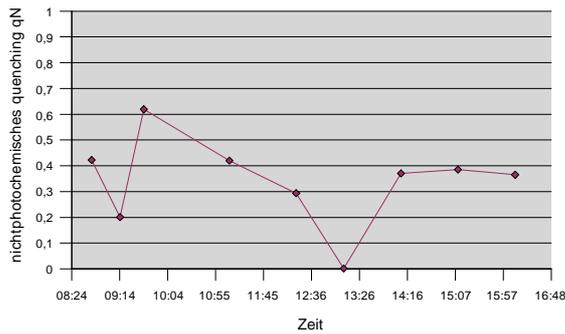


Abb.2.3.1.: Linie 3., 1. Meßtag

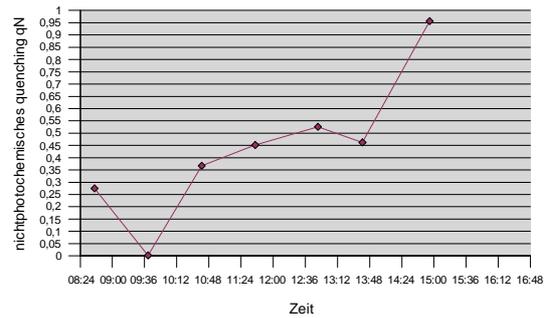


Abb.2.3.2.: Linie 3., 2. Meßtag

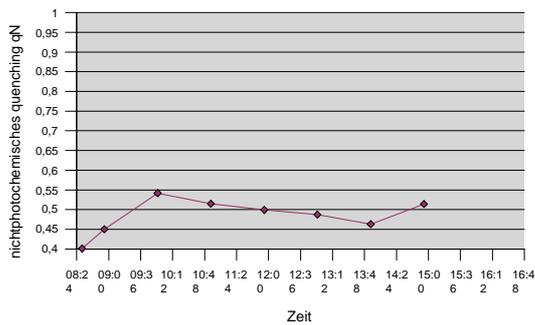


Abb.2.3.3.: Linie 3., 3. Meßtag

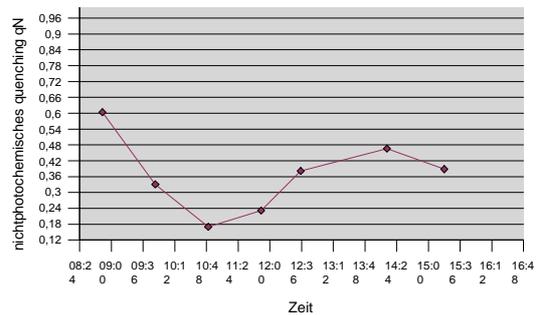


Abb.2.3.4.: Linie 3., 4. Meßtag

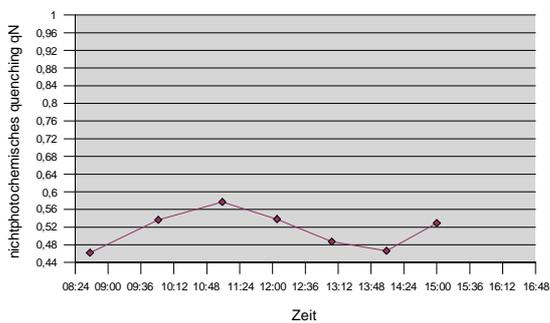


Abb.2.3.5.: Linie 3., 5. Meßtag

Abb. 2.1.- 2.3.5.: Darstellung des nichtphotochemischen quenchings qN in Abhängigkeit von der Belichtungszeit für Linie 1 und 4, und für Linie 3 an den einzelnen Meßtagen (Abb. 2.3.1.-2.3.5.)

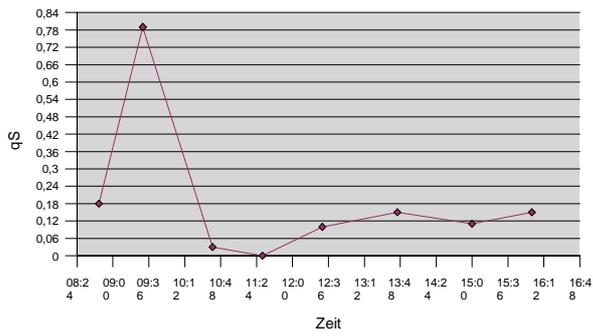


Abb.2.4.: Linie 4

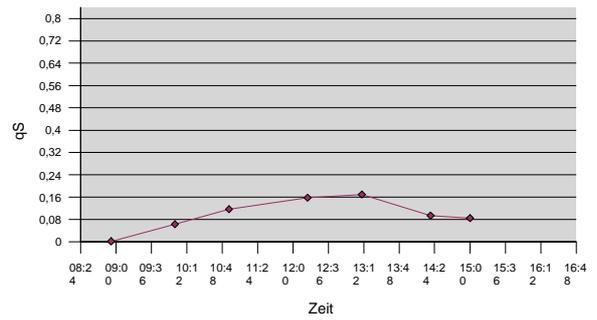


Abb.2.5.: Linie 1

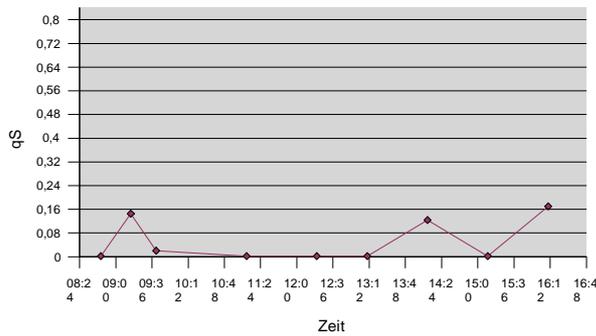


Abb.2.6.1.: Linie 3., 1. Meßtag

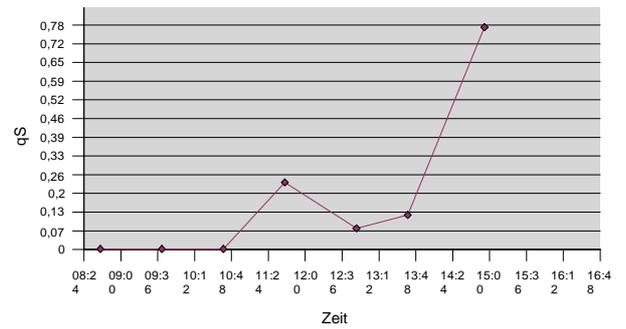


Abb.2.6.2.: Linie 3., 2. Meßtag

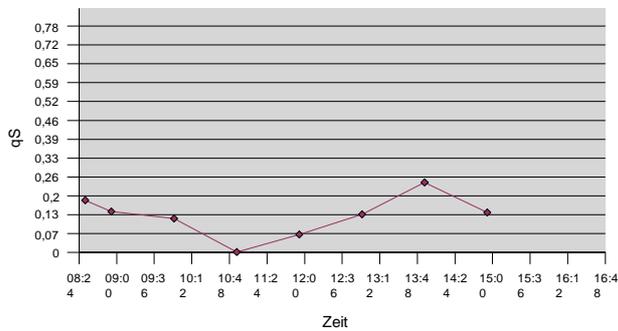


Abb.2.6.3.: Linie 3., 3. Meßtag

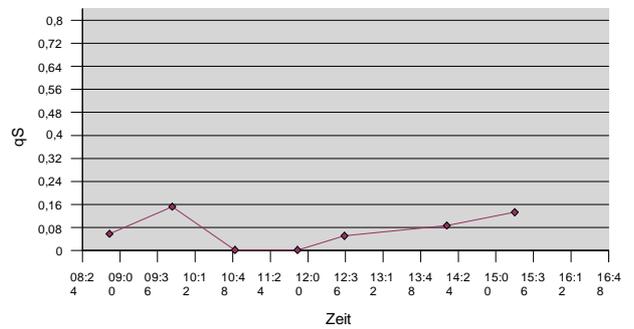


Abb.2.6.4.: Linie 3., 4. Meßtag

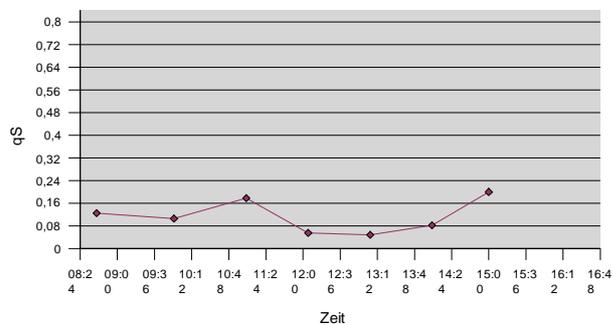


Abb.2.6.5.: Linie 3., 5. Meßtag

Abb. 2.4.-2.6.5.: Darstellung der langsam abklingenden Komponente des nichtphotochemischen quenchings q_N in Abhängigkeit von der Belichtungszeit für Linie 1 und 4, und für Linie 3 an den einzelnen Meßtagen (Abb. 2.6.1.-2.6.5.)

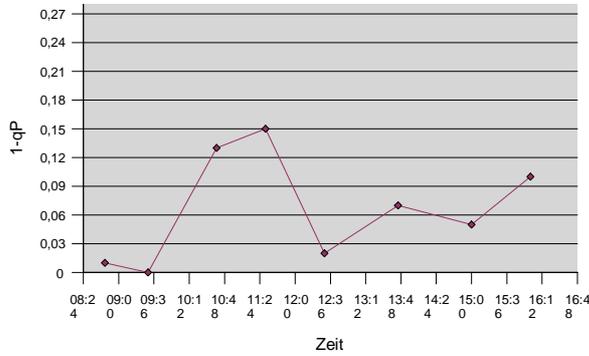


Abb 2.7.: Linie 4

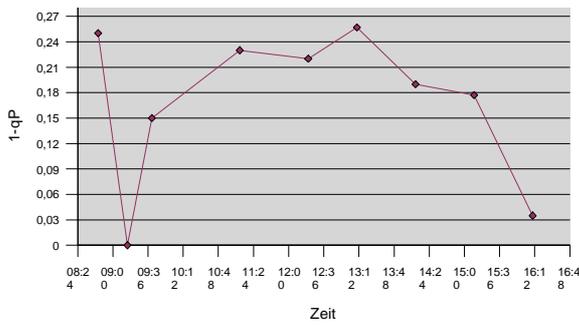


Abb. 2.9.1.: Linie 3., 1. Meßtag

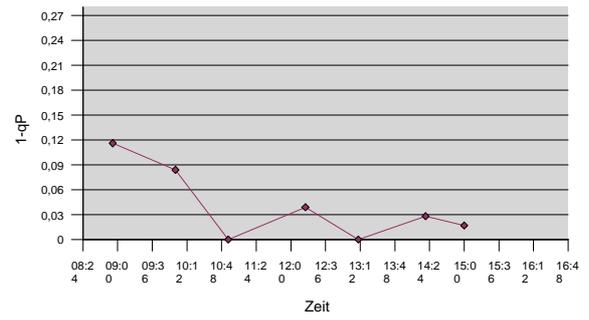


Abb.2.8.: Linie 1

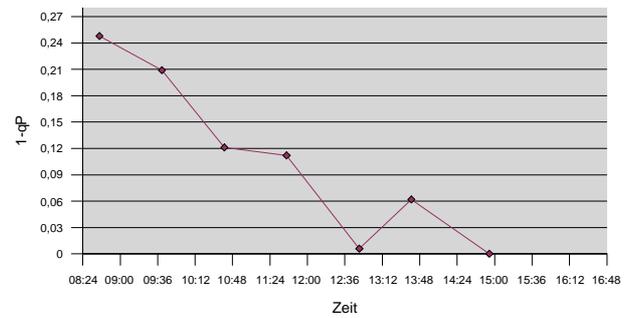


Abb.2.9.2.: Linie 3., 2. Meßtag

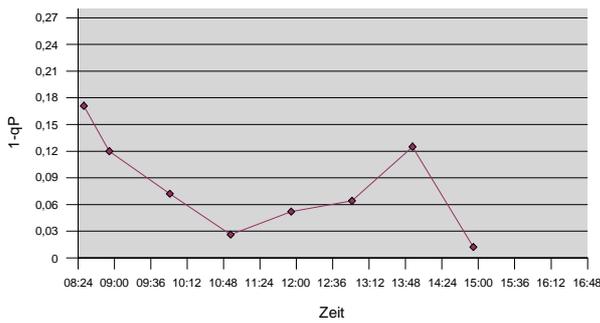


Abb. 2.9.3.: Linie 3., 3. Meßtag

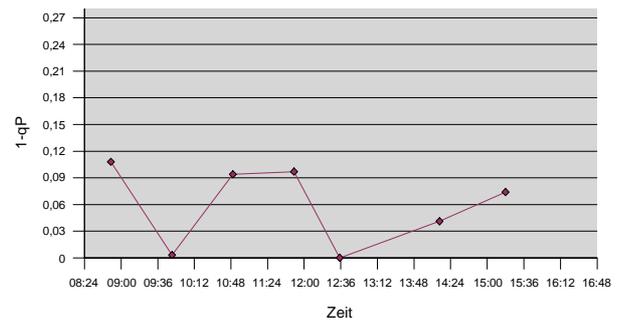


Abb.2.9.4.: Linie 3., 4. Meßtag

Abb. 2.4.-2.6.5.: Darstellung der langsam abklingenden Komponente des nichtphotochemischen quenchings q_N in Abhängigkeit von der Belichtungszeit für Linie 1 und 4, und für Linie 3 an den einzelnen Meßtagen (Abb. 2.6.1.-2.6.5.)

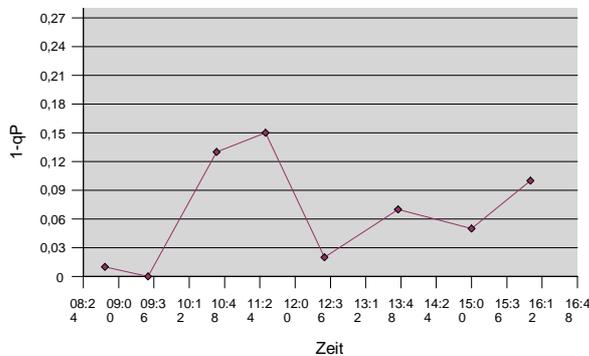


Abb 2.7.: Linie 4

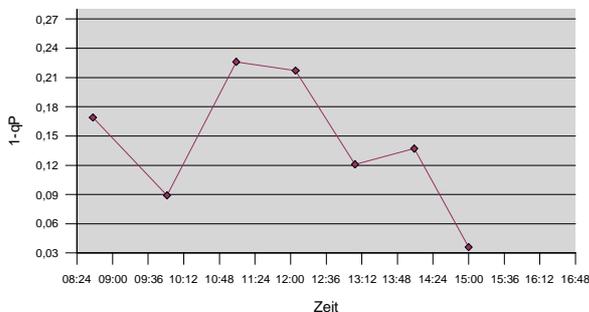


Abb.2.9.5.: Linie 3., 5. Meßtag

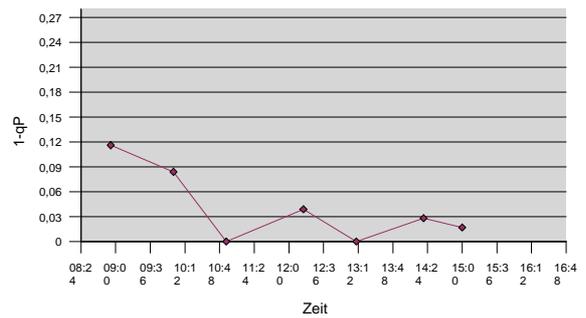


Abb.2.8.: Linie 1

Abb. 2.7.-2.9.5.: dargestellt ist der Reduktionsstatus des primären Elektronenakzeptors Q ($1-qP$) in Abhängigkeit von der Belichtungszeit für Linie 1 und 4, und für Linie 3 an den einzelnen Meßtagen (Abb. 2.9.1.-2.9.5.)

Diskussion

Die Vergleichsgraphen von Linie 4 (CAM) und Linie 1 (C_3) für das nichtphotochemische quenching über die Belichtungszeit (Ab. 2.1.-2.3.5.) zeigen nicht die von Keiller vorgefundenen Unterschiede (siehe Einleitung). Vielmehr ergibt sich für Linie 1 (C_3) ein flach glockenförmiger Kurvenverlauf (Abb.2.2.) das heißt, die Werte steigen bis 4,5 Stunden nach Belichtungsbeginn kontinuierlich bis auf einen Wert von 0,495 an und fallen anschließend wieder ab.

Ein solches Verhalten zeigt auch die Linie 3 am 3. und 5. Meßtag (Abb.2.3.3. Und 2.3.5.). Der Graph der Linie 4 (Abb.2.1.) ist dagegen durch einen schnellen Anstieg bis auf einen Wert von 0,885 ca. 1,5 Stunden nach Belichtungsbeginn und anschließenden schnellen Abfall auf 0,382 etwa 3,5 Stunden nach Belichtungsbeginn gekennzeichnet.

Ähnlichkeit mit diesem Kurvenverlauf besitzt die Linie 3 am 1. Meßtag (Abb.2.3.1.). Das würde jedoch bedeuten, daß die Linie 3 am 1. Meßtag CAM- Stoffwechsel zeigt, am 3. und 5. aber C_3 - Stoffwechsel. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte in der Meßmethode liegen, da pro Versuchstag jeweils ein anderes Blatt gemessen wurde und davon ausgegangen werden

muss, daß nicht alle Blätter gleichzeitig auf CAM umstellen. Da zwischen dem 1. und 5. Meßtag aber eine Woche lag erscheint diese Erklärung eher unwahrscheinlich. Die Graphen der Abb. 2.3.2. und 2.3.4. lassen sich mit keinem der Referenzgraphen übereinbringen. Eine Umstellung des Stoffwechsels auf CAM konnte anhand des nichtphotochemischen quenchings nicht festgestellt werden.

Die langsam relaxierende Komponente q_S ist eng mit dem ATP- Bedarf verbunden . Dieser schwankt bei CAM- Formen in den einzelnen CAM- Phasen in Abhängigkeit von der Decarboxylierungsrate des Malats (Keiller, 1994). Daher sind für C_3 - Pflanzen weitgehend konstante Werte über die Belichtungszeit zu erwarten, für CAM- Pflanzen dagegen ein zunehmender Anstieg, analog der zunehmenden Decarboxylierungsrate und langsamer Abfall. In Abb. 2.5. zeigt der Graph der Linie 1 einen geringen Anstieg von 0 auf einen maximalen Wert von 0,17 und anschließenden Abfall auf 0,08. Es handelt sich also um einen relativ konstanten Kurvenverlauf, v.a. im Vergleich zur Linie 4. Deren Kurvenverlauf zeigt einen sehr schnellen Anstieg auf einen Maximalwert von 0,79 und einen ebenso schnellen Abfall auf 0,03. Dabei vollzieht sich der Anstieg im Verlauf von ca. 1 Stunde. Dies entspricht den Ergebnissen im Keiller- Paper (Fig. 7)., bei denen ein schneller Anstieg der langsam relaxierenden Komponente q_S für CAM- Pflanzen innerhalb der ersten 65 Belichtungsminuten beobachtet wurden.

Der Graph der Abb. 2.6.4. zeigt einen ähnlichen Kurvenverlauf wie die Linie 4 (Abb.2.4.). Wobei der Maximalwert von 0,152 deutlich unter dem der Vergleichslinie (0,785) liegt und insgesamt niedrigere Meßwerte ermittelt wurden. Die übrigen Graphen lassen sich keiner der beiden Linien sicher zuordnen, so daß die Umstellung auf CAM- Stoffwechsel auch hier nicht nachgewiesen werden konnte.

Der Reduktionsstatus von Q gibt an, wieviele Moleküle des primären Elektronenakzeptors zu einem bestimmten Zeitpunkt reduziert vorliegen und nicht für den Elektronentransport zur Verfügung stehen. Die Oxidation von Q erfolgt letztlich durch die Bildung von Reduktionsäquivalenten, die für die CO_2 - Assimilation benötigt werden. Da die interne CO_2 - Konzentration bei CAM- Pflanzen zu Beginn der Photoperiode sehr gering ist und die Decarboxylierung des Malats erst beginnt, ist zu erwarten, daß dieser Reduktionsstatus bei CAM- Formen zu Beginn der Belichtungszeit höher ist als bei C_3 - Formen (Linie 1). Mit zunehmender Decarboxylierung sollte der Reduktionsstatus dann auf niedrigere Werte absinken und im folgenden annähernd konstant bleiben.

Der Graph der Linie 4 zeigt zu Beginn der Messung sehr niedrige Werte und nach ca. 1,5 Stunden nach Belichtungsbeginn einen Anstieg auf 0,15 und anschließenden Abfall (4 Std. Belichtung). Entgegen ihren natürlichen Bedingungen standen die Pflanzen sehr feucht, da eine CAM- Induktion durch Trockenstreß ausgeschlossen werden sollte. Dieser Faktor wurde durch das Treibhausklima im Glaskasten noch unterstützt. Der Tag/Nacht- Temperaturunterschied war v.a. im Glaskasten nur gering ausgeprägt. Aufgrund dessen wird vermutet, daß die Spaltöffnungen der Pflanzen zumindest teilweise auch tagsüber geöffnet waren und eine C_3 - Photosynthese (eventuell neben CAM- Photosynthese) ablief. Dies könnte die sehr niedrigen Werte von $1-q_P$ der Linie 4 zu Beginn der Photoperiode erklären. Demnach lag zu diesem Zeitpunkt zwar eine geringe interne CO_2 - Konzentration vor, es konnte aber atmosphärisches CO_2 genutzt werden.

Die Linie 1 zeigt vom ersten Meßpunkt (0,116) ausgehend stark abfallende Werte bis ca. 3 Stunden nach Belichtungsbeginn (0).

Die Abb.2.9.2. läßt einen ähnlichen Kurvenverlauf wie Linie 1 erkennen, wobei jedoch höhere Meßwerte und ein deutlich höherer Maximalwert von 0,25 vorliegen. Auch am 3.

Meßtag zeigt die Linie 3 (Abb.2.9.3.) v.a. in den ersten 3,5 Belichtungsstunden einen mit Linie 1 vergleichbaren Verlauf und ließe sich somit der C₃- Form zuordnen.

Die Graphen 2.9.4. und 2.9.5. zeigen beide den bei Linie 4 vorgefundenen Anstieg der Meßwerte etwa 1,5 Stunden nach Belichtungsbeginn und anschließenden Abfall. Sie könnten daher der Linie 4 (CAM) zugeordnet werden, obwohl sie im weiteren Kurvenverlauf und in den erreichten Maximalwerten von der Abb.2.7. abweichen.

Weitere Messungen diesbezüglich erscheinen auf jeden Fall sinnvoll.

Zusammenfassend ist zu bemerken, daß für keinen der drei untersuchten Parameter eindeutig eine Umstellung auf CAM nachgewiesen werden konnte. Nur bei der Untersuchung des Reduktionsstatus^h von Q kann für die Linie 3 am 4. und 5. Meßtag eine Umstellung vermutet werden. Da die Graphen der Linie 3 oftmals nicht mit denen der Referenzlinien vergleichbar waren, erscheint es möglich, daß sie sich in einem Übergangszustand befand, der eine genaue Zuordnung zu C₃ oder CAM nicht möglich macht oder daß die Meßergebnisse durch die Lebensbedingungen der Pflanzen während des Experiments verfälscht wurden (siehe oben).

Teil 3. Auswirkung konstanter Lichtverhältnisse auf den diurnalen Säurerhythmus CAM-aktiver *Mesembryanthemum crystallinum*

Dauerbelichtung stellt für jede Pflanze eine anormale Situation dar, die nicht mit dem natürlichen Tag Nacht Rhythmus übereinstimmt.

Da bei CAM Pflanzen die Photosynthese an den Wechsel von Tag und Nacht gebunden ist, stellt die Dauerbelichtung nicht nur eine Überbelichtung dar sondern zusätzlich werden die externen Steuerungssignale der CO₂ Fixierung ausgeschaltet.

Fragestellung des Versuches war ob die zeitlich getrennte CO₂ Fixierung durch das Dauerlicht gestört wird oder ob es sich um einen endogenen Rhythmus handelt der auch ohne externe Signale gemäß einer physiologischen Uhr geregelt ist.

Daneben wurde der durch die Überbelichtung hervorgerufene Stress untersucht.

Material und Methoden

Um sicher zu gehen, dass es sich um CAM-Pflanzen handelt wurden zwei Pflanzen der Linie 4 (Alter nach Aussaat 17 Wochen) verwendet.

Der Versuch ging vom 10.02.04, bis zum 19.02.03, die Pflanzen wurden dem Versuchsaufbau des Hauptversuches entnommen.

Pflanze 1 wurde mit salzhaltiger Hoagland Lösung (Hoagland + 400mM NaCl) gegossen, Pflanze 2 mit ungesalzener Hoagland Lösung.

Die Pflanzen wurden jeden Tag gegossen.

Die Pflanzen wurden in einem Lichtkasten gehalten und so konstanten Lichtverhältnissen ausgesetzt.

Die ersten 4 Tage der insgesamt 10 Versuchstage betrug die Lichtintensität aufgrund zu schwacher Lampen nur $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, die Lichtintensität wurde danach auf ca. $570 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ erhöht (eine genauere Intensitätsangabe ist nicht möglich da die Lichtintensität innerhalb des Lichtkastens schwankte).

Folgende Parameter wurden täglich aufgenommen:

Säuregehalt, $F_v:F_m$, q_P , q_N und q_S sowie q_F .

Zur Bestimmung des Säuregehalts wurden um ca. 9.00 h und um ca. 14 h pro Pflanze zwei Blätter gepflückt und titriert (genaue Angaben zur Titration im ersten Teil des Protokolls)

Die Fluoreszenz Parameter wurden um ca. 9.00 h, 13.00 h und 16.00 h bestimmt.

für die Messung eines Tages wurde dasselbe Blatt gemessen, an verschiedenen Tagen wurden zum Teil verschiedene Blätter gemessen

Die Fluoreszenzparameter wurden wie im Versuchsteil „Untersuchung der quenching Parameter“ gemessen.

Wenn möglich wurden die Daten mit Daten von bei einem Tag und Nacht Rhythmus wachsenden Pflanzen gleichen Alters verglichen. Nachfolgend werden diese Pflanzen „Tag/Nacht“ Pflanzen genannt.

Ergebnisse & Diskussion

Säuregehalt

Die Säurekonzentration bzw. die Absäuerung über den Tag ist ein Hinweis auf CAM. Falls die Versuchspflanzen durch die Dauerbelichtung von CAM auf C3-Stoffwechsel umstellen würden, wären zum einem sehr niedrige Säurewerte am Morgen zu erwarten die sich außerdem über den Tag nicht viel verändern würden.

Es wurde der Säureverlauf sowie die Säuredifferenzen über die Versuchstage untersucht.

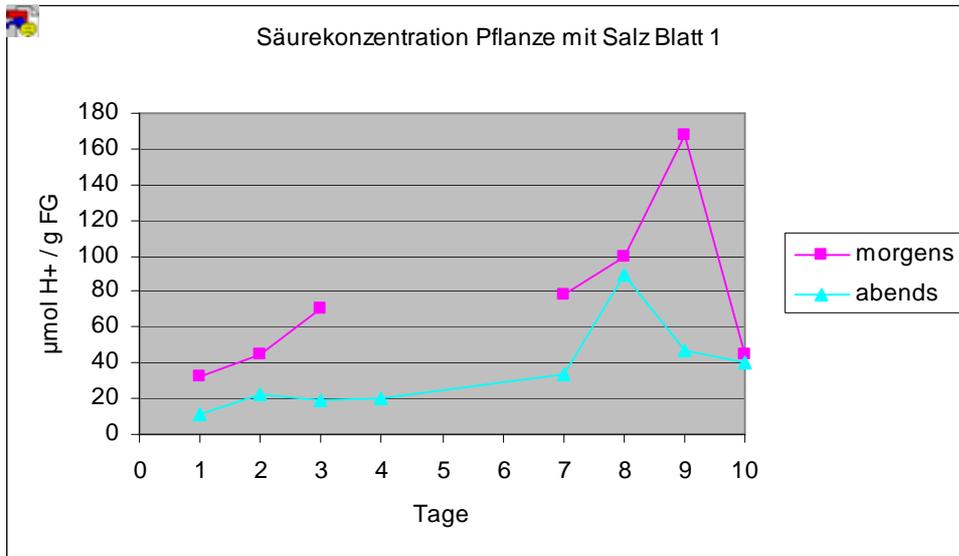


Abb.3.1 Verlauf der Säurekonzentration über die Versuchstage 1 bis 10 (keine Messung an Tag 5 und 6) bei der mit Salz gegossenen Pflanze (Pflanze 1). Die Lichtintensität betrug $42 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bis einschließlich Tag 4 dann ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, der Morgen-Wert des vierten Tages fehlt

Die Säurekonzentration ist morgens deutlich höher als abends, nur für Tag 8 und 10 trifft dies nicht zu:

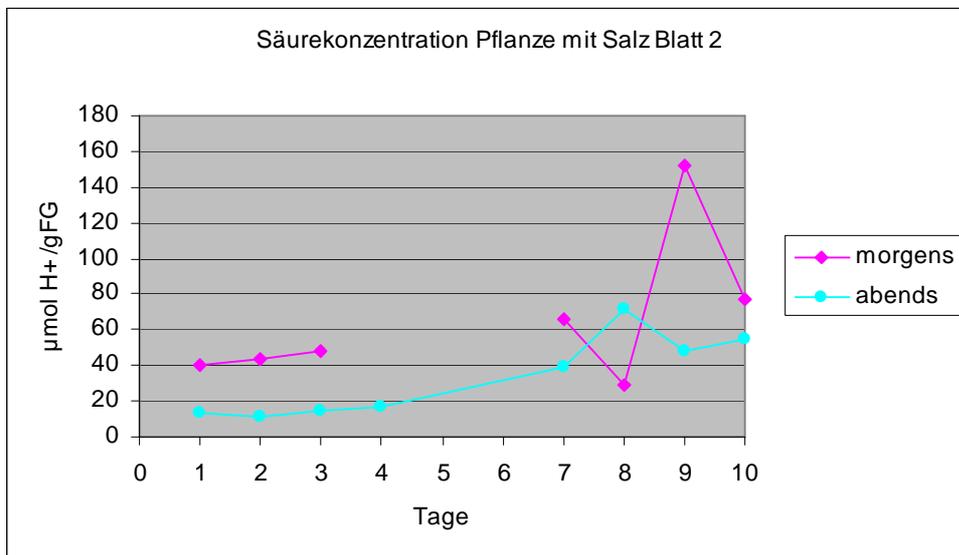


Abb. 3.2 Verlauf der Säurekonzentration über die Versuchstage 1 bis 10 (keine Messung an Tag 5 und 6) bei der mit Salz gegossenen Pflanze (Pflanze 1). Die Lichtintensität betrug $42 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bis einschließlich Tag 4 dann ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, der Morgen-Wert des vierten Tages fehlt

Die Säurekonzentration ist morgens deutlich höher als abends, nur am 8. Versuchstag ist sie abends höher als morgens.

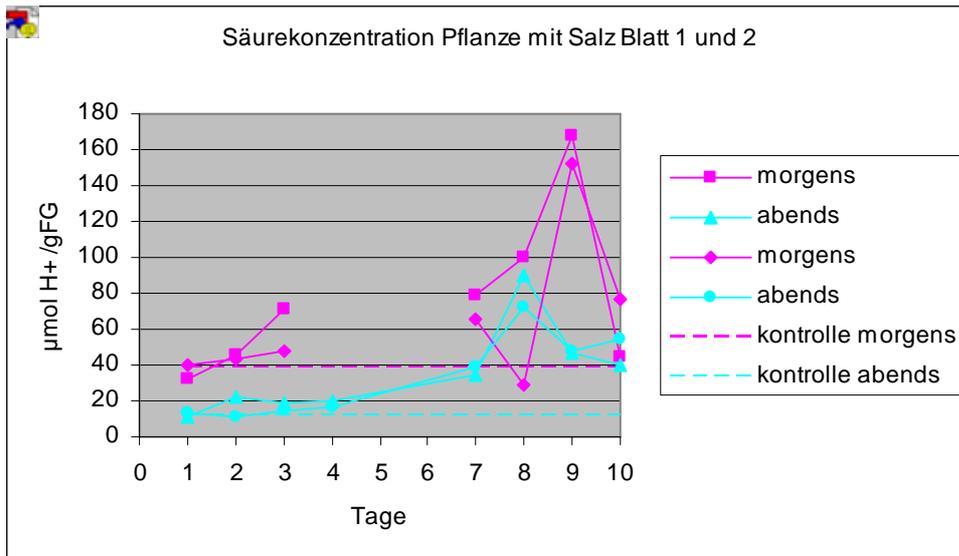


Abb. 3.3

Verlauf der Säurekonzentration über die Versuchstage 1 bis 10 (keine Messung an Tag 5 und 6) von zwei Blättern pro Tag der mit Salz gegossenen Pflanze (Pflanze 1). Die Lichtintensität betrug $42 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bis einschließlich Tag 4 dann ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, der Morgen-Wert des vierten Tages fehlt. Zusätzlich sind die durchschnittlichen Säurekonzentrationen von Tag/Nacht Pflanzen eingetragen (gestrichelte Linien). Die Durchschnitte wurden aus je drei verschiedenen Pflanzen von zwei Messtagen ermittelt.

Der Säureverlauf der beiden Blätter deckt sich weitgehend. Nur am 8. Versuchstag liegt der Morgen-Wert des zweiten Blattes sehr viel niedriger als der des ersten Blattes.

Da er aber auch unter dem am Abend bestimmten Säuregehalt des gleichen Blattes liegt (negative Säuredifferenz) und auch im Vergleich mit den anderen am Morgen gemessenen Säurekonzentrationen sehr abweicht; ist es wahrscheinlich dass es sich hierbei um einen Messfehler handelt. Da auch der Morgen-Wert des ersten Blattes an diesem Tag fast gleich dem am Abend bestimmten Wert ist, ist es möglich, dass die Messung des 8. Versuchstages am Morgen fehlerhaft durchgeführt wurde.

Die Morgenwerte unterscheiden sich mehr als die am Abend gemessenen.

Bis zum 4. Versuchstag stimmen die gemessenen Werte mit dem errechneten Durchschnitt der Tag/Nacht Pflanzen überein. Danach liegen sowohl Morgen- als auch Abendwerte um mindestens $20 \mu\text{mol H}^+$ über den Durchschnittswerten. Diese Abweichung fällt mit der Erhöhung der Lichtintensität zusammen.

Die Pflanzen säuern über den Tag nicht mehr so gut ab.

Am 9. Versuchs Tag ist die am Morgen gemessene Säurekonzentration maximal und am 10. Tag bei Blatt 1 minimal (siehe Abb. 3.4).

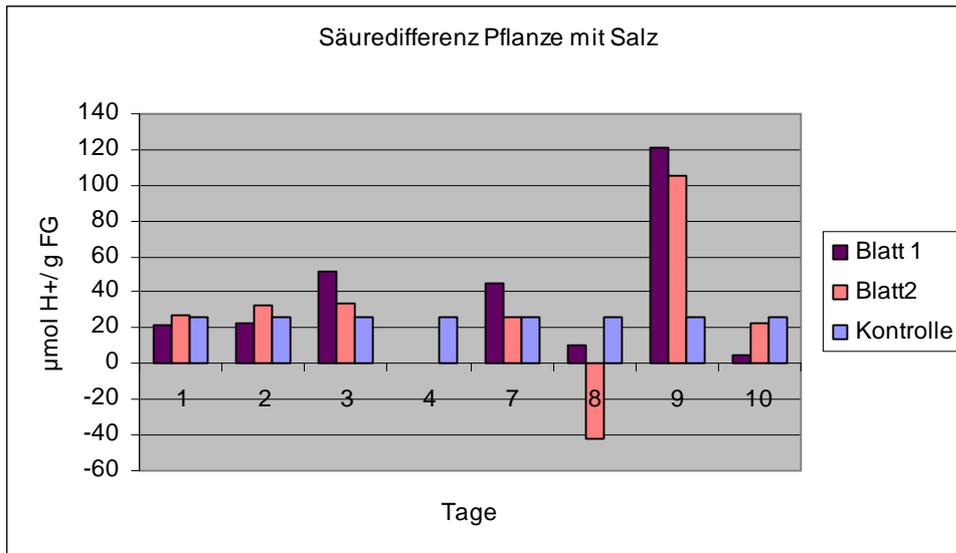


Abb.3.4 Säuredifferenzen über die Versuchstage 1-10 (keine Messung an Tag 5 und 6) beider Blätter der mit Salz gegossenen Pflanze (Pflanze 1). Die Lichtintensität betrug $42 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bis einschließlich Tag 4 dann ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, die Säuredifferenz des 4. Tages fehlt. Zusätzlich ist die durchschnittliche Säuredifferenz von Tag/Nacht Pflanzen eingetragen (blaue Balken). Der Durchschnitt wurde aus Messwerten von je drei verschiedenen Pflanzen von zwei Messtagen ermittelt.

Die Säurekonzentration des einen Blattes ist etwas höher als die des Anderen. Da es sich aber jeden Tag um andere Blätter der gleichen Pflanze handelt hat dies keine Aussagekraft. Der Unterschied zwischen den beiden Blättern (und damit die innerpflanzliche Schwankung) ist jedoch meistens höher als der der verschiedenen Tage.

Die Säuredifferenz variiert von Tag zu Tag, sie ist nicht sehr konstant. Es fehlt ein Vergleich mit dem Verlauf der Säuredifferenz über zehn Versuchstage von Tag/Nacht Pflanzen, da deren Säuregehalt nur an zwei Tagen vollständig gemessen wurde.

Vergleicht man den Konzentrationsverlauf (Abb.3.3) bei der ab dem 7. Tag eine Erhöhung der Werte zu beobachten war mit den Säuredifferenzen so sieht man dass es sich dabei um eine Verschiebung der Kurven nach oben handelt. Bei den Differenzen ist nur eine leichte Abnahme zu erkennen. Da den minimalen Differenzen des letzten Versuchstages eine maximale Differenz vorangeht wären weitere Versuchstage nötig um eine Abnahme (oder nicht) der Säuredifferenz zu bestätigen.

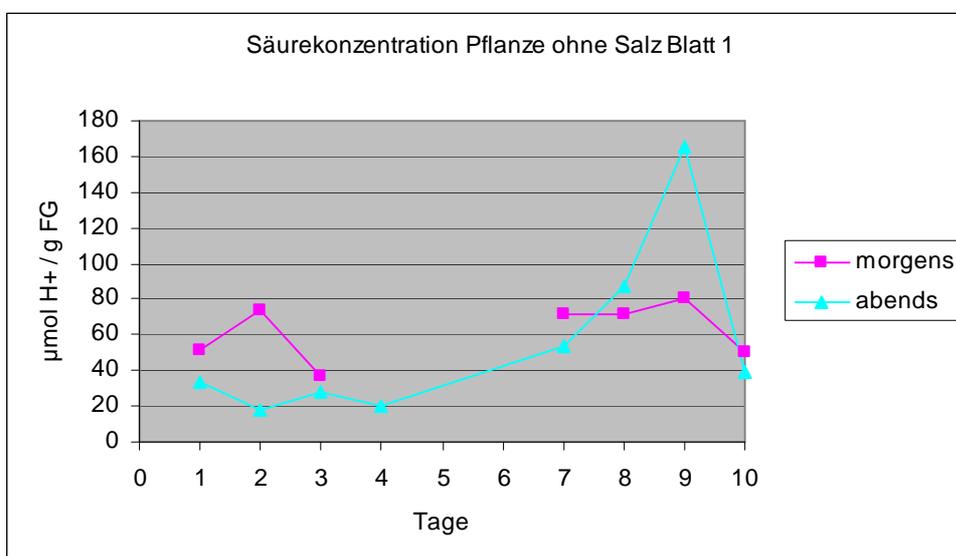


Abb. 3.5 Verlauf der Säurekonzentration über die Versuchstage 1 bis 10 (keine Messung an Tag 5 und 6) bei der ohne Salz gegossenen Pflanze (Pflanze 2). Die Lichtintensität betrug $42 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bis einschließlich Tag 4 dann ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, der Morgen-Wert des vierten Tages fehlt

Bis zum 7. Versuchstag und am 10. Versuchstag liegen die am Morgen gemessenen Konzentrationen über den am Abend gemessenen Werten, die Unterschiede sind allerdings klein. Am 8. und 9. Tag liegen die am Abend gemessenen Konzentrationen über den Morgen Werten.

Betrachtet man nur die Säurekonzentrationen dieser Abbildung, also nur von einem Blatt pro Tag, so scheint das An- und Absäuern gemäß einem endogenen Rhythmus gestört zu sein.

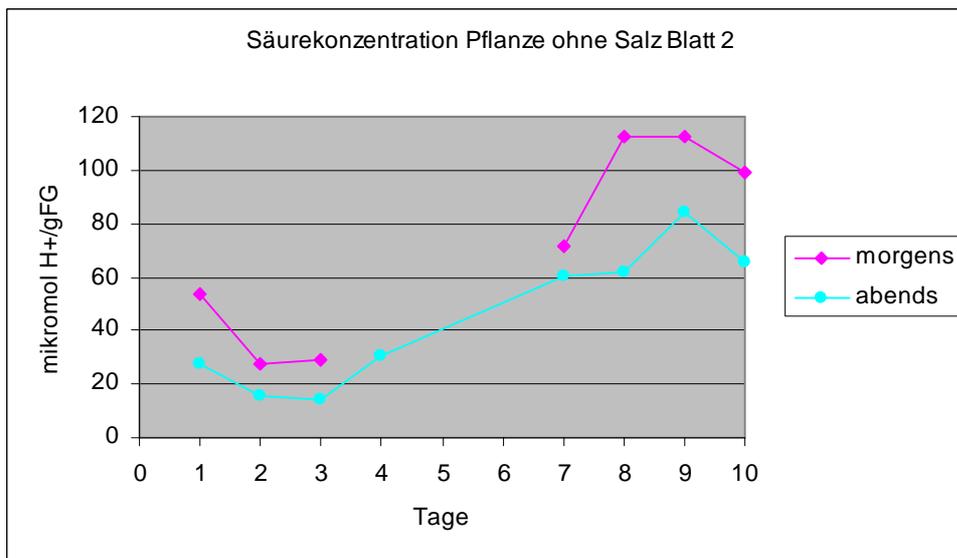


Abb. 3.6 Verlauf der Säurekonzentration über die Versuchstage 1 bis 10 (keine Messung an Tag 5 und 6) bei der ohne Salz gegossenen Pflanze (Pflanze 2). Die Lichtintensität betrug $42 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bis einschließlich Tag 4 dann ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, der Morgen-Wert des vierten Tages fehlt

Die Säurekonzentration ist morgens höher als abends. Ein deutlicher Anstieg der Werte ist wieder ab dem 7. Tag zu beobachten.

Die in Abb. 3.5 beobachtete Störung des CAM Stoffwechsels bestätigt sich nicht.

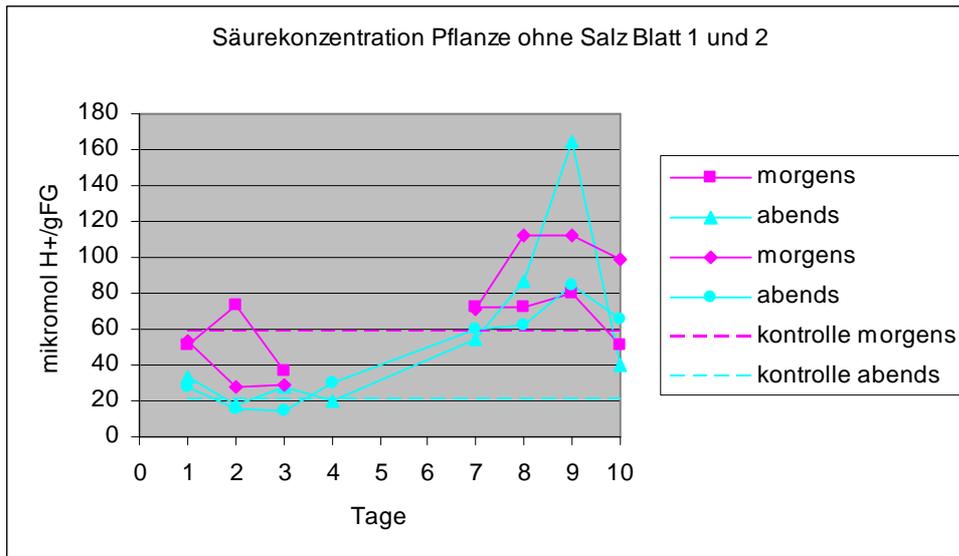


Abb. 3.7 Verlauf der Säurekonzentration über die Versuchstage 1 bis 10 (keine Messung an Tag 5 und 6) von zwei Blättern pro Tag der ohne Salz gegossenen Pflanze (Pflanze 2). Die Lichtintensität betrug $42 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bis einschließlich Tag 4 dann ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, der Morgen-Wert des vierten Tages fehlt. Zusätzlich sind die durchschnittlichen Säurekonzentrationen von Tag/Nacht Pflanzen eingetragen (gestrichelte Linien). Die Durchschnitte wurden aus je drei verschiedenen Pflanzen von zwei Messtagen ermittelt.

Die am Abend gemessenen Säurekonzentrationen unterscheiden sich von einem Blatt zum anderen nur geringfügig (Ausnahme der 9. Tag). Wie auch bei der mit Salz gegossenen Pflanze erhöhen sich die Abend-Konzentrationen nach dem 4. Tag, also nach Steigerung der Lichtintensität. es bestätigt sich, dass die Pflanzen mit zunehmender Intensität und Länge der Dauerbelichtung über den Tag weniger absäuern.

Die am Morgen gemessenen Konzentrationen schwanken so stark von einem Blatt zum Anderen, dass eine Aussage zum Verlauf über die Versuchstage nicht möglich ist (die innerpflanzlichen Schwankungen sind größer oder gleich der Unterschiede von einem Tag zum anderen).

Bei einer Wiederholung des Versuches wäre es notwendig eine größere Anzahl an Blättern pro Tag zu titrieren, soweit die Blattanzahl der Pflanze dies zulässt. Wie auch bei der mit Salz gemessenen Pflanze fehlt ein Vergleich mit dem Verlauf der Säurekonzentrationen über zehn Versuchstage von Tag/Nacht Pflanzen.

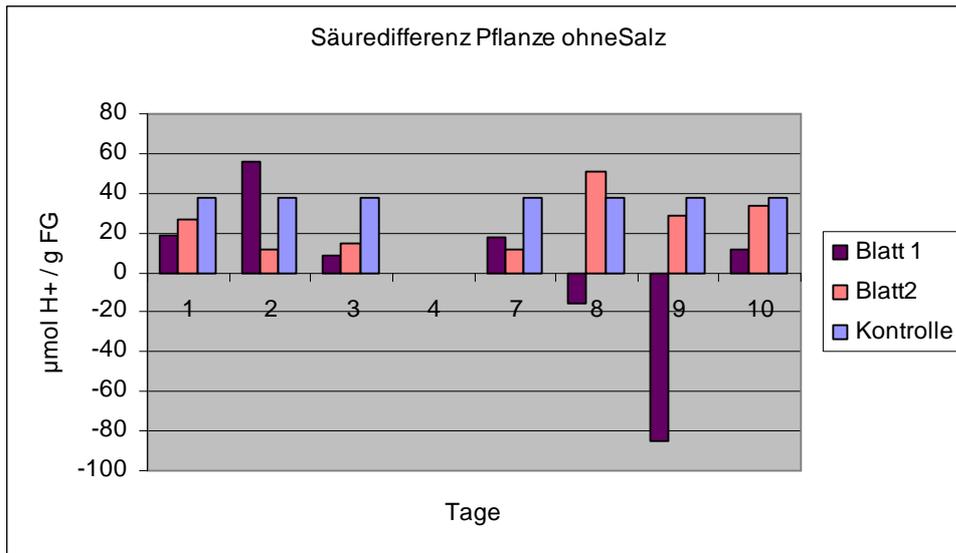


Abb.3.8 Säuredifferenzen über die Versuchstage 1-10 (keine Messung an Tag 5 und 6) beider Blätter der ohne Salz gegossenen Pflanze (Pflanze 2). Die Lichtintensität betrug $42 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bis einschließlich Tag 4 dann ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, die Säuredifferenz des 4. Tages fehlt. Zusätzlich ist die durchschnittliche Säuredifferenz von Tag/Nacht Pflanzen eingetragen (blaue Balken). Der Durchschnitt wurde aus Messwerten von je drei verschiedenen Pflanzen von zwei Messtagen ermittelt.

Die Säuredifferenzen der beiden Blätter unterscheiden sich zu stark voneinander (starke Schwankung der Morgen-Werte) als dass man den Verlauf der Differenzen auswerten könnte.

Sowohl bei der Pflanze die mit Salz gegossen als auch bei der Pflanze die ohne Salz gegossen wurde eine Abnahme der Absäuerung (höhere Abend Konzentrationen) über den Tag in Folge der Dauerbelichtung bei einer Lichtintensität von ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ festgestellt. Ein damit verbundener Einbruch des CAM Stoffwechsels konnte aber nicht beobachtet werden. Die Säurekonzentration war morgens immer noch höher als Abend.

Fv:Fm

Fv:Fm bezeichnet die maximale PS II Quantenausbeute nach einer Dunkelperiode. Die Abnahme von Fv:Fm kann man auf die Schädigung des PS II zurückführen, hauptsächlich durch Photoinhibition.

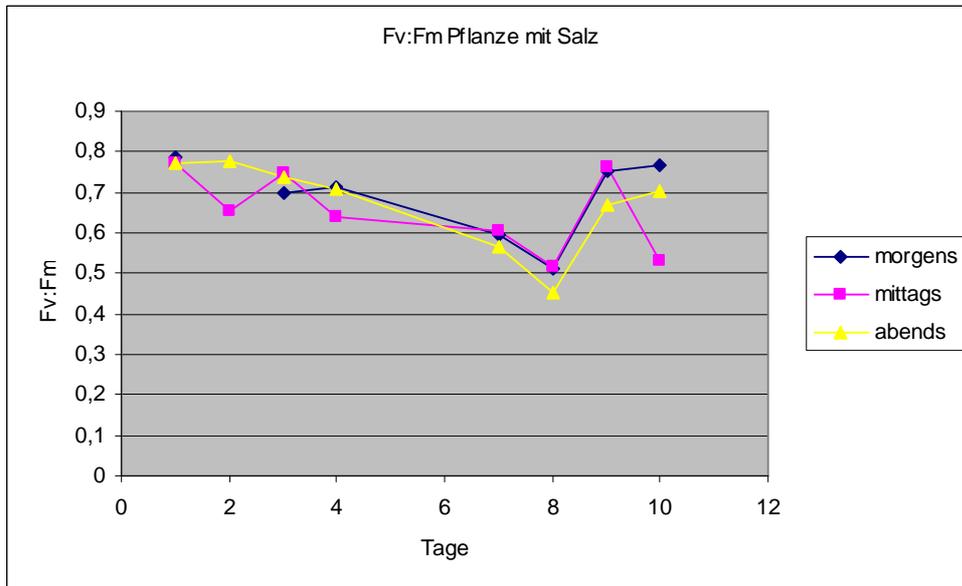


Abb.3.9 Verlauf von Fv:Fm über die Versuchstage 1 bis 10 (keine Messung an Tag 5 und 6) bei der mit Salz gegossenen Pflanze (Pflanze 1). Die Lichtintensität betrug $42 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bis einschließlich tag 4 dann ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

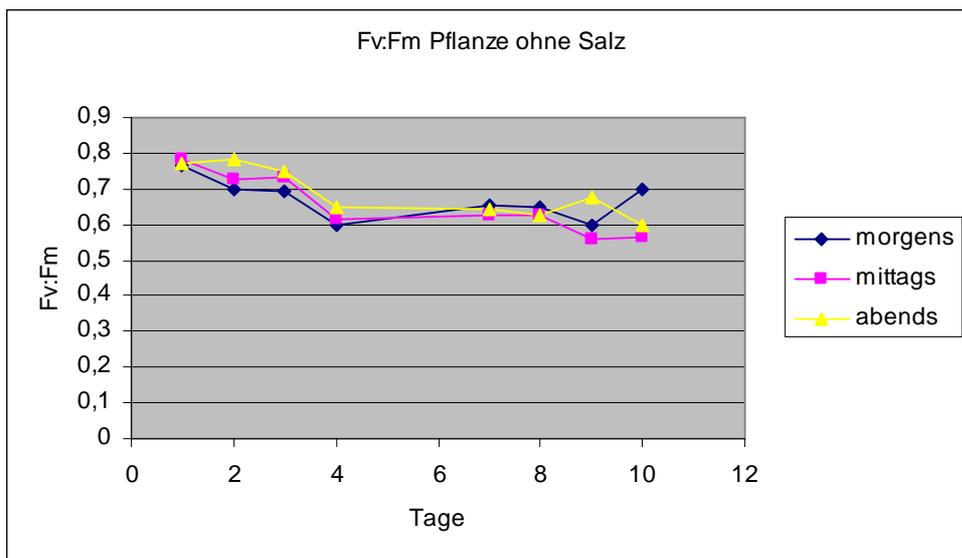


Abb.3.10 Verlauf von Fv:Fm über die Versuchstage 1 bis 10 (keine Messung an Tag 5 und 6) bei der ohne Salz gegossenen Pflanze (Pflanze 1). Die Lichtintensität betrug $42 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bis einschließlich Tag 3 dann ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

Bei beiden Pflanzen unterscheiden sich die die Messwerte der drei Tageszeiten nicht wesentlich voneinander. Eine Ausnahme bildet der zehnte Versuchstag. Sieht man von dieser Abweichung ab so kann man die drei Tageszeiten mitteln um so einen Vergleich zwischen den beiden Pflanzen zu machen (Abb. 3.11), und die dauerbelichteten Pflanzen mit Pflanzen gleichen Alters die mit Tag/Nacht Rhythmus wachsen zu vergleichen.

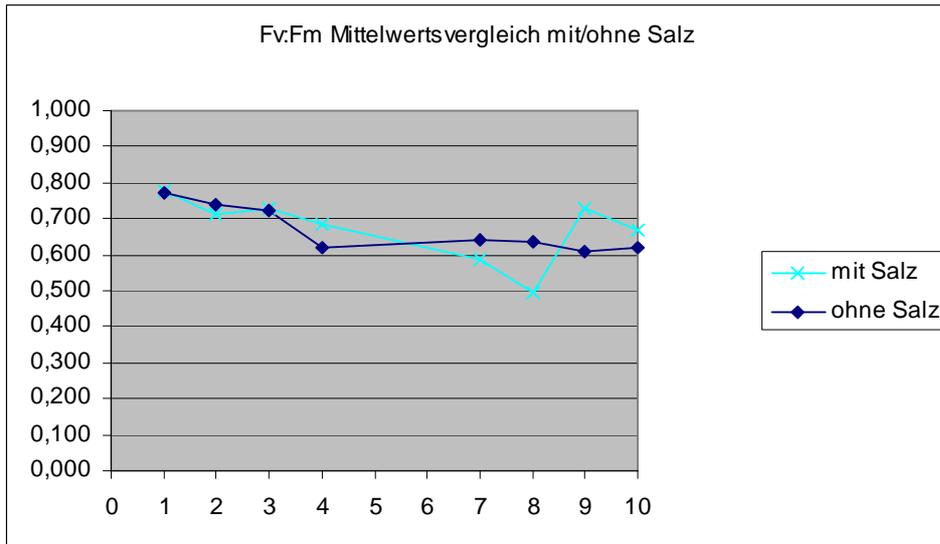


Abb.3.11 Verlauf der Tagesmittelwerte von Fv:Fm über die Versuchstage der mit Salz und der ohne Salz gegossenen Pflanze im Vergleich. Die Lichtintensität betrug $42 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bis einschließlich Tag 3 dann ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

Die ohne Salz gegossene Pflanze hat einen konstanteren Fv:Fm Verlauf als die mit Salz gegossenen Pflanze. Wäre die Lichtintensität nach dem dritten Tag erhöht worden, könnte man einen direkten Zusammenhang zwischen gesteigerter Intensität und Fv:Fm Abfall sehen, also eine auf die hohe Intensität zurückzuführende Photoinhibition. Da die Intensität aber erst ab dem 5. Versuchstag erhöht wurde ist dies nicht so. Nach dem dritten Tag sieht man allerdings bei der Pflanze die ohne Salz gegossen wurde einen Abfall um 0,1. Die Dauerbelichtung führt also selbst bei sehr niedriger Intensität nach einer Weile zur Schädigung des PS II. Allerdings ist auch nach Erhöhung der Intensität keine weitere Abnahme von Fv:Fm zusehen.

Bei der mit Salz gegossenen Pflanze nehmen die Werte bis zum 8. Versuchstag stetig ab. Danach erholt sich das PS II wieder. Möglicherweise hat sich die Pflanze an die neue Situation angepasst. Da pro Tag nur ein Blatt gemessen wurde ist es nicht auszuschließen, dass die Blätter der letzten beiden Tage in besserem Zustand waren als die der anderen Tage. Der Werteverlauf ist im Vergleich zu der anderen Pflanze weniger konstant, was vielleicht daran liegt dass durch das Salz eine weitere Stresssituation entsteht die die Pflanze zum Messzeitpunkt unterschiedlich gut kompensiert.

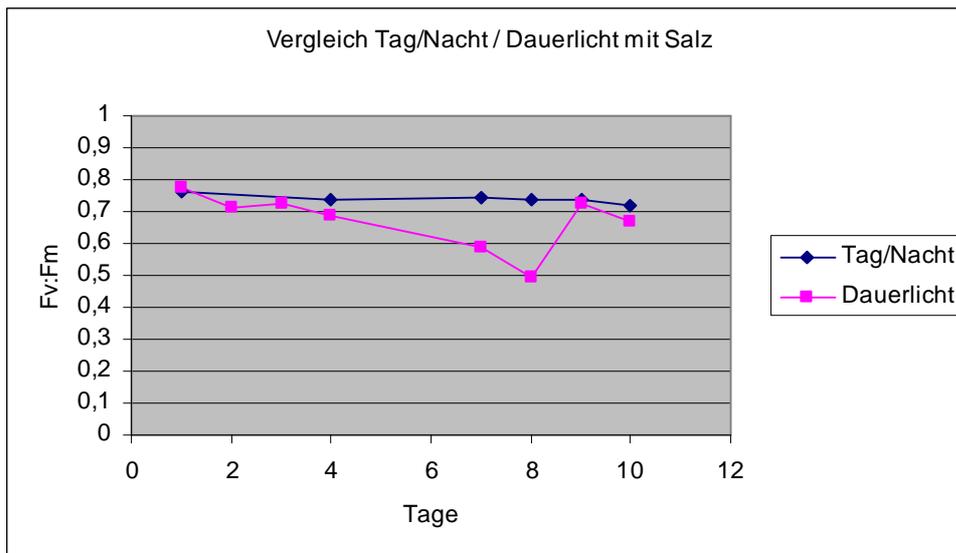


Abb.3.12 Vergleich der Tagesmittelwerte der Dauerbelichteten mit Salz gegossenen Pflanze und der zusammengefassten Tagesmittelwerte (je zwei Blätter und zwei Tageszeiten) von zwei mit Salz gegossenen bei einem Tag/Nacht Rhythmus wachsenden Pflanzen

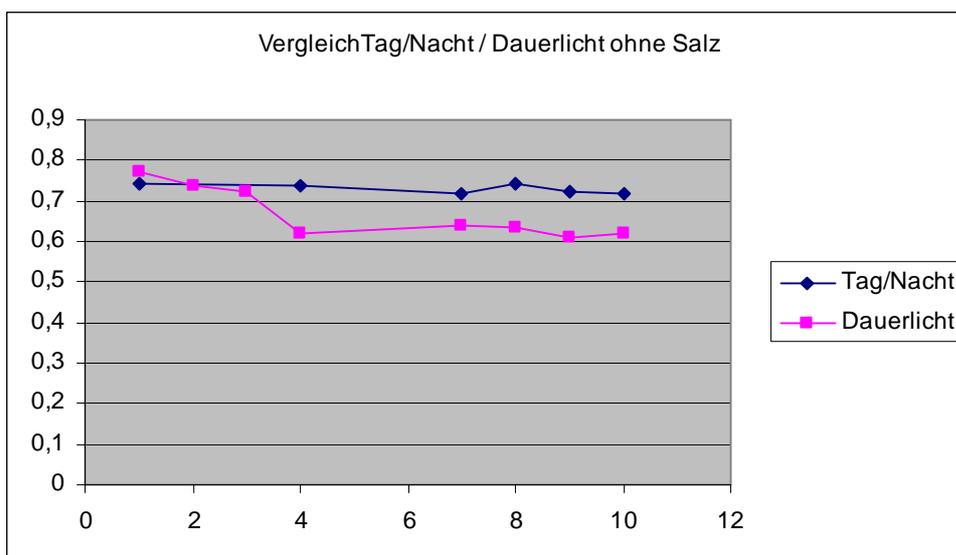


Abb.3.13 Vergleich der Tagesmittelwerte der Dauerbelichteten ohne Salz gegossenen Pflanze und der zusammengefassten Tagesmittelwerte (je zwei Blätter und zwei Tageszeiten) von zwei ohne Salz gegossenen bei einem Tag/Nacht Rhythmus wachsenden Pflanzen

Im Vergleich zu entsprechenden Tag/Nacht Pflanzen die einen konstanten Verlauf der Fv:Fm Werte haben, sieht man dass die Dauerbelichtung einen negativen Effekt auf das PS II hat, d.h. zu Photoinhibition führt.

Es ist jedoch zu beachten, dass die Tag/Nacht Pflanzen bei einer Intensität von ca. $200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ gewachsen sind. Für einen aussagekräftigen Vergleich hätte man Tag/Nacht Pflanzen bei $570 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ betrachten müssen.

Abschließend kann man sagen dass Dauerbelichtung (auch bei geringer Intensität) zu Photoinhibition führt.

Die ohne Salz gegossene Pflanze zeigt konstantere Werte als die mit Salz gegossene Pflanze was an der zusätzlichen Stresssituation (Salzstress) liegen kann.

Reduktionsstatus von Q

Der Reduktionsstatus von Q berechnet sich aus dem Wert des photochemischen Quenchings ($1-qP$) und gibt Auskunft wie viel Prozent der Elektronen Akzeptoren Q die dem PS II die Elektronen abnehmen geschlossen, also in reduziertem Zustand vorliegen.

Ist der Reduktionsstatus hoch, kann dies bedeuten, dass der Elektronentransport zwischen den Photosystemen gestört ist, bzw. die nachgeschaltete Elektronenabnahme durch den Calvin Zyklus (verminderter ATP-Bedarf, geringe Enzym Aktivität). Sollte die Dauerbelichtung zu einer Verminderung des Elektronentransportes führen wäre dies anhand einer Erhöhung des Reduktionsstatus von Q sichtbar. Da die Messungen mit einem aktinischen Licht Stufe 4 gemessen, wie sich im nachhinein herausgestellt hat ist diese Intensität viel zu gering um das PS II auszulasten. Bei zu geringem Lichtdruck wird eine zu geringe Anzahl offener Akzeptoren benötigt um eine verminderte Elektronentransportkapazität zu bemerken, bzw. der Elektronentransport muss fast zum Erliegen kommen um eine Erhöhung des Reduktionsstatus zu messen.

Messungen in Versuchsteil 2 (Untersuchung der Quenching Parameter) haben gezeigt das bei aktinischem Licht der Intensität 4 (hier verwendete Intensität) der Lichtdruck zu gering ist. Aufgrund der zu geringen Intensität des aktinischen Lichts kann nicht gesagt werden ob die Dauerbelichtung einen Einfluss auf den Elektronentransport hatte.

Die Versuchsdaten wurden im folgenden der Form halber ausgewertet, wenngleich sie nicht aussagekräftig sind.

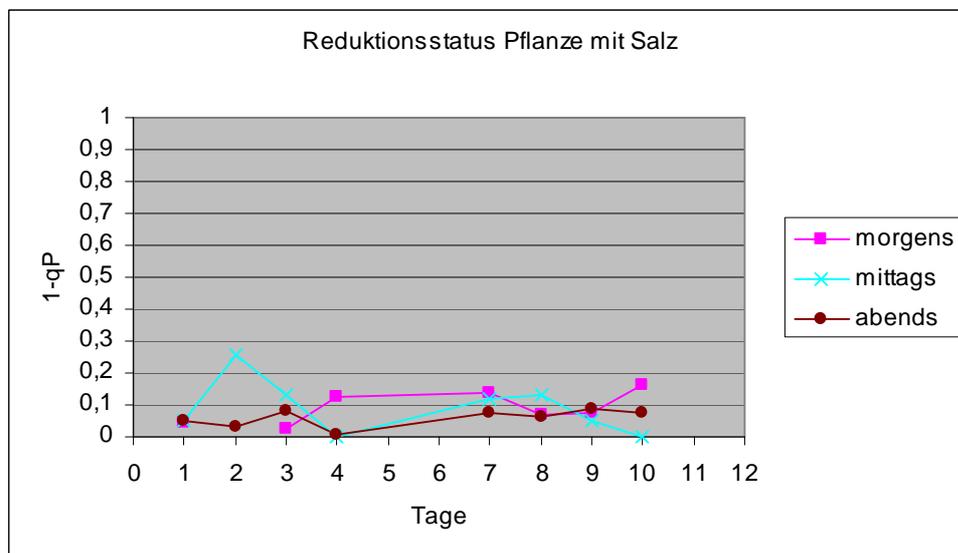


Abb.3.14 Verlauf von $1-qP$ über die Versuchstage 1 bis 10 (keine Messung an Tag 5 und 6) bei der mit Salz gegossenen Pflanze (Pflanze 1). Die Lichtintensität betrug $42 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bis einschließlich Tag 3 dann ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

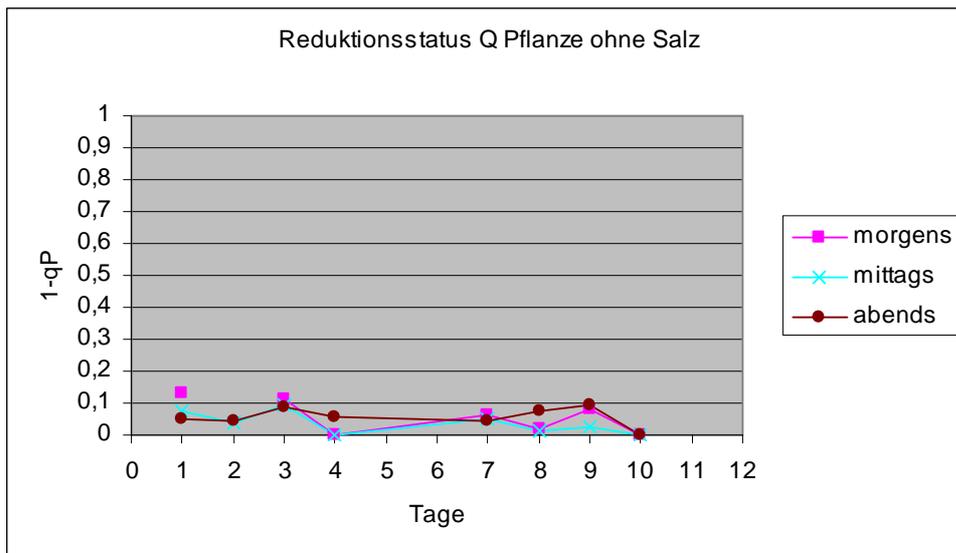


Abb.3.15 Verlauf von 1-qP über die Versuchstage 1 bis 10 (keine Messung an Tag 5 und 6) bei der ohne Salz gegossenen Pflanze (Pflanze 1). Die Lichtintensität betrug $42 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bis einschließlich Tag 3 dann ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

Eine Tendenz im Verlauf des Reduktionsstatus während der Dauerbelichtung ist nicht zu erkennen. Betrachtet man die Werte eines Tages, also morgens im Vergleich zu mittags und abends so unterscheiden die Werte sich nicht sehr, und die Reihenfolge (also z.B. morgens höherer Wert als mittags, als abends) ist nicht konstant.

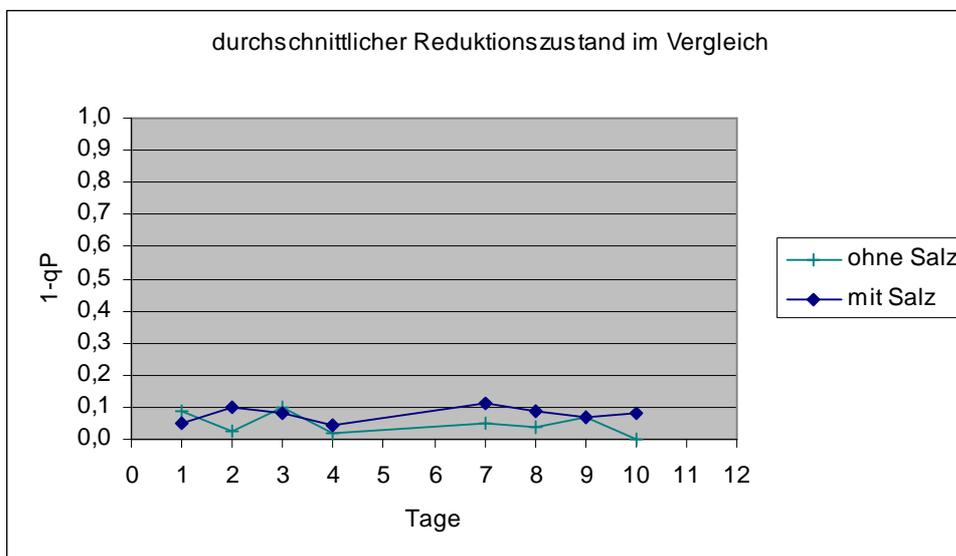


Abb.3.16 Verlauf der Tagesmittelwerte von 1-qP über die Versuchstage der mit Salz und der ohne Salz gegossenen Pflanze im Vergleich. Die Lichtintensität betrug $42 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bis einschließlich Tag 3 dann ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

Auch der Vergleich der mit bzw. ohne Salz gegossenen Pflanzen ergab keine signifikanten Unterschiede.

Nicht-Photochemisches Quenching

Das nicht Photochemische Quenching ist der Teil der Fluoreszenzlöschung der nicht durch das "wegfangen" der Quanten durch die Photosynthesepigmente verursacht wird.

Es wird durch den Protonengradienten und die Phosphorelierung des PS II beeinflusst. Die Phosphorelierung tritt bei Lichtstress erhöht ein.

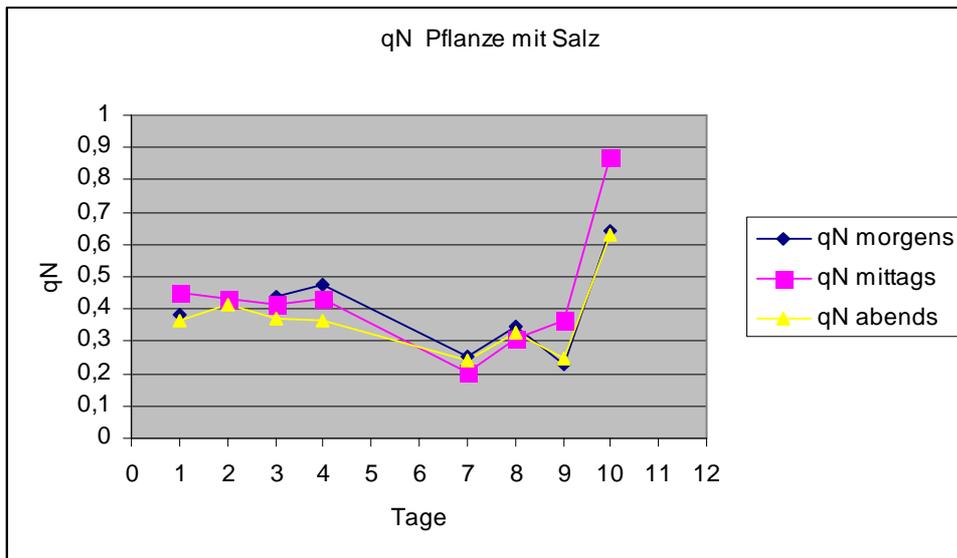


Abb. 3.17 Verlauf von qN über die Versuchstage 1 bis 10 (keine Messung an Tag 5 und 6) bei der mit Salz gegossenen Pflanze (Pflanze 1). Die Lichtintensität betrug $42 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bis einschließlich Tag 3 dann ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

Die Messwerte der drei Tageszeiten sind sehr ähnlich. Bis zum 4. Messtag war qN vergleichsweise konstant bei ca. 0,4. Danach fällt es zunächst ab und steigt dann auf einen Maximalwert von ca. 0,7.

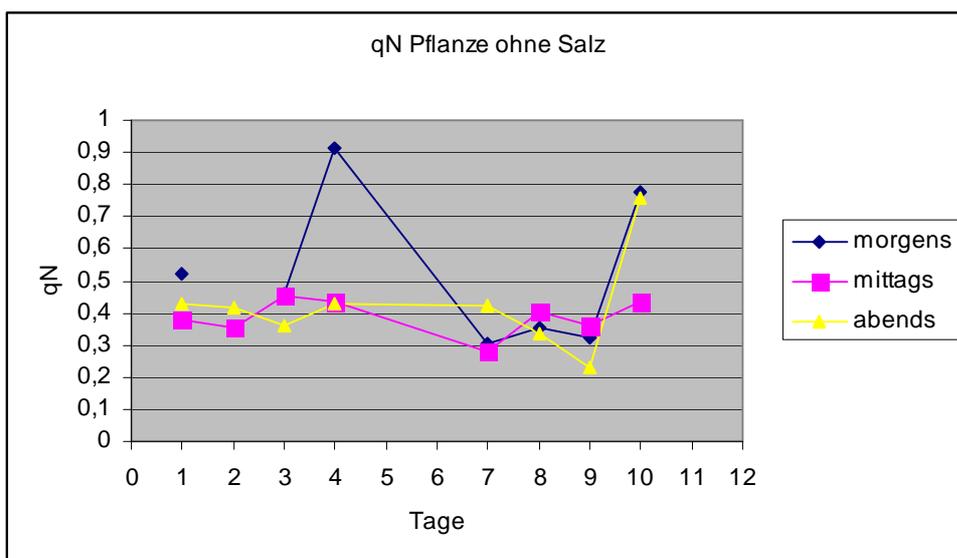


Abb. 3.18 Verlauf von qN über die Versuchstage 1 bis 10 (keine Messung an Tag 5 und 6) bei der ohne Salz gegossenen Pflanze (Pflanze 1). Die Lichtintensität betrug $42 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bis einschließlich Tag 3 dann ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

Die Messwerte der drei Tageszeiten sind weniger ähnlich als bei der mit Salz gegossenen Pflanze, tendenziell haben sie jedoch den gleichen Verlauf.

Eine Ausnahme bildet der am Morgen des 4. Tages gemessene Wert.

Da die Messwerte der verschiedenen Tageszeiten sich ansonsten kaum unterscheiden und der Wert zudem unverhältnismäßig hoch ist wird er als Ausreißer angesehen und auf Messfehler zurückgeführt.

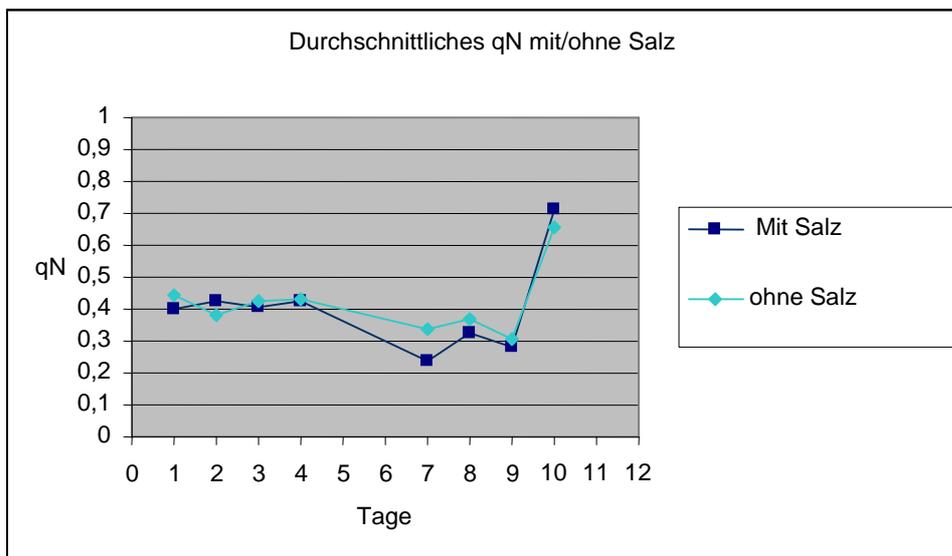


Abb.3.19 Verlauf der Tagesmittelwerte von qN über die Versuchstage der mit Salz und der ohne Salz gegossenen Pflanze im Vergleich. Die Lichtintensität betrug $42 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ bis einschließlich Tag 3 dann ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ der Mittelwert der Pflanze ohne Salz des 4. Tages wurde nur aus dem Mittags und Abends-Messwert berechnet da der Morgenwert als Ausreißer angesehen wurde.

Beide Pflanzen zeigen einen sehr ähnlichen Verlauf. Der zusätzliche Salzstress macht sich nicht im nichtphotochemischen Quenching bemerkbar.

Der konstante Verlauf der ersten vier Messtage stimmt wieder mit der niedrigen Lichtintensität der Dauerbelichtung überein.

Der nach der Erhöhung der Intensität beobachtete Abfall von qN (7, 8,9 Tag) und der Anstieg auf einen maximalen Wert am 10. Tag könnte mit der Heterogenität von QN zusammenhängen. Um den Kurvenverlauf interpretieren zu können wären eingehende Untersuchungen der einzelnen Komponenten des nicht-photochemischen Quenching erforderlich.

Auf diese wurde hier verzichtet da diese sich über den Tag stark verändern und somit durch drei Messungen pro Tag nicht erfassbar sind.

Ein erweiternder Versuch in dem nicht nur die Entwicklung über mehrere Tage untersucht wird sondern auch der Verlauf der einzelnen Komponenten wäre sinnvoll.

In dem vorliegenden Fall kann man nur sagen, dass die Dauerbelichtung bei einer Intensität von ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ qN zunächst erniedrigt und dann erhöht. Wobei die Ergebnisse weiterer Versuchstage interessant wären, um den Anstieg gegebenen falls zu bestätigen.

4 Teil :Streuungsversuch

Einleitung

Ziel dieses Telexperimentes war es, sich die Schwankungen der Fluoreszenzwerte und des Säuregehaltes innerhalb eines Pflanzenindividuums anzuschauen. Dabei haben wir die Protonenkonzentration, F_v/F_m und die Quenchingparameter Q_p und Q_n vergleichend betrachtet.

Material und Methoden

Es wurde wie gewohnt verfahren (s.h. MM Versuchsteil 1 bzw.2). Die Ausnahme bestand darin, dass wir im Laufe der Messungen immer 8 Blätter derselben Pflanze betrachtet haben. Es wurden Blätter unterschiedlichen Alters von den Seitentrieben stammend verwendet. Bei den Pflanzen der Linie 5 hätte man zwar je 8 gleichalte Blätter wählen können bei anderen Linien war dies im Verlauf der Versuche nicht möglich. Deshalb war es wichtig, im Streuungsversuch die altersbedingten und zufallsbedingten Unterschiede aufzuzeigen.

Ergebnisse

Tab.4.1: Fluoreszenz- und Titrationsergebnisse morgens bei einer Pflanze der Linie 5

Morgens						
Blatt	f_v/m	Q_p	Q_n	FG in Gramm	ml NaOH	Protonenkonz.,
1	0,795	0,586	0,113	0,1	9,3	93
2	0,782	0,649	0,146	0,19	12,3	64,7368421
3	0,778	0,698	0,257	0,19	14,1	74,2105263
4	0,74	0,802	0,28	0,15	11,2	74,6666667
5	0,749	0,8	0,21	0,16	14,3	89,375
6	0,78	0,705	0,197	0,13	8,7	66,9230769
7	0,757	0,753	0,162	0,18	13,7	76,1111111
8	0,745	0,732	0,202	0,29	20,4	70,3448276

Tab.4.2: Fluoreszenz- und Titrationsergebnisse mittags bei einer Pflanze der Linie 5

Mittags						
Blatt	f_v/m	Q_p	Q_n	FG in Gramm	ml NaOH	Protonenkonz.,
1	0,781	0,785	0,12	0,061	4,7	77,0491803
2	0,751	0,694	0,145	0,063	4,4	69,8412698
3	0,699	0,724	0,12	0,094	5,9	62,7659574
4	0,754	0,742	0,192	0,088	4,6	52,2727273
5	0,769	0,735	0,216	0,115	7,4	64,3478261
6	0,745	0,832	0,139	0,097	6,7	69,0721649
7	0,747	0,825	0,152	0,247	20,7	83,805668
8	0,739	0,863	0,14	0,192	12,9	67,1875

Abbildung 4.1: Vergleich von F_v/m bei 8 Blättern einer Pflanze der Linie 5

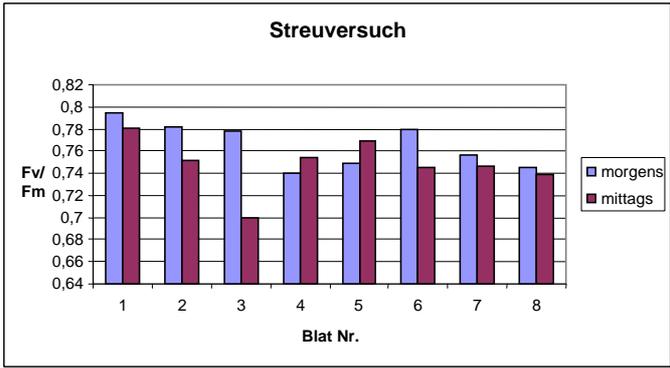


Abbildung 4.2: Vergleich von qP bei 8 Blättern einer Pflanze der Linie 5

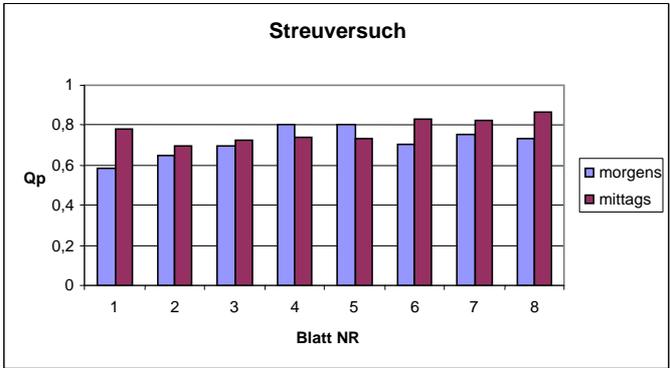


Abbildung 4.3: Vergleich von qN bei 8 Blättern einer Pflanze der Linie 5

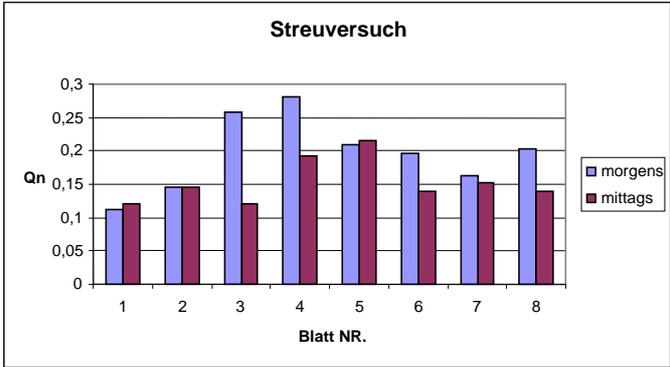
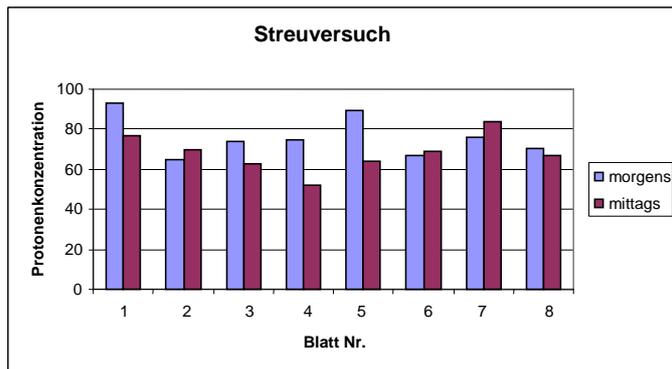


Abbildung 4.4: Vergleich der Protonenkonzentration bei 8 Blättern einer Pflanze der Linie 5



Diskussion

Anhand unserer Ergebnisse ist es deutlich zu erkennen, dass die einzelnen Blätter ein und derselben Pflanze sehr individuell sind. In den Abbildungen 4.1-4.4 ist eine hohe Variabilität verdeutlicht. Die Abbildung 4.1 zeigt, dass sich innerhalb der 8 untersuchten Blättern einige Blätter in einem relativ schlechtem Photosyntheseleistungszustand ($Fv/m = 0,699$, Blatt 3 mittags) befinden. Einige dagegen zeigen zum gleichen Zeitpunkt eine ziemlich hohe Quantenaubeute des PSII ($Fv/m = 0,781$, Blatt 1 mittags). Wird das photochemische Quenching betrachtet (Q_p , Abb.4.2), so fallen relativ geringe Schwankungen ins Auge. Ganz anders verhält es sich bei Untersuchungen des nichtphotochemischen Quenchings. Abbildung 4.4 veranschaulicht, dass sich einzelne Blätter einer Pflanze sogar in verschiedenen Stoffwechselzuständen befinden können. Die Blätter 1, 3, 4 und 5 haben offensichtlich schon den CAM-Stoffwechsel, die Blätter 2, 6, 7 und 8 betreiben anscheinend noch keinen CAM. Mit diesem Versuch konnte erfolgreich gezeigt werden, dass die Blätter der untersuchten Pflanzen als Individuen betrachtet werden müssen. Als Ursache dafür, können mehrere Gründe aufgeführt werden. Wichtig ist, dass sich die Blätter (ausgenommen der sich gegenüberstehenden) alle unterschiedlich alt sind und sich somit nicht im gleichen Leistungszustand befinden. Ein anderer Grund ist der unterschiedliche Abstand zum Licht, bzw. die Lage allgemein.

5. Teil : Auswertung zur photosynthetischen Quantenausbeute (Yield)

5.1 Einleitung

Die Photonenwirksamkeit der Photosynthese d.h. die verbrauchte bzw. abgegebene Menge an CO_2 bzw. O_2 pro eingestrahler Lichtmenge gibt ein Maß dafür mit welcher Effektivität die Photosynthese abläuft.

Da CAM-Pflanzen ihre Spaltöffnungen Tagsüber geschlossen halten sind sie für Gaswechsellmessungen nicht zugänglich weshalb die umgesetzten Mengen an CO_2 bzw. O_2 nicht registriert werden können.

Durch Chlorophyllfluoreszenzmessungen lassen sich dennoch Aussagen über die Photonenwirksamkeit der Photosynthese machen da zwischen der Quantenausbeute des Elektronentransports durch PS II (Yield) und der Photonenwirksamkeit des CO_2 - bzw. O_2 -Austausches eine lineare Beziehung besteht.

Da die Quantenausbeute am voll lichtadaptierten Blatt gemessen wird haben die weiteren Photosynthesestoffwechselwege wie z.B. der Calvin-Zyklus einen Einfluß auf die gemessenen Werte. Da CAM-Pflanzen ihren Bedarf an CO₂ am Tage nicht direkt aus der Umgebungsluft sondern aus dem Nachts gespeicherten Malat beziehen sollte sich hier die Aktivität des Calvin-Zyklus von der einer C₃-Pflanze unterscheiden und somit in den Messwerten widerspiegeln.

5.2 Material und Methoden

Die Messwerte für die Quantenausbeute wurden bei der Messung der Quenchingparameter protokolliert und wurden den vom PAM-Fluorimeter abgespeicherten Tabellen entnommen.

Zu Material und Methoden sei deshalb auf den entsprechenden Teil im Abschnitt der Quenchingparameter verwiesen.

5.3 Messwerte

Die Messwerte wurden aus den Protokolldateien der Fluorimeter entnommen und zur Auswertung in die folgenden Tabellen eingetragen. Als Orientierung dienen dabei die Tage (und damit die Kalenderdaten) an denen die jeweiligen Linien gemessen wurden.

Die Messung für Linie 3.1 erfolgte an Messtag 4,
für Linie 3.2 an Messtag 5,
für Linie 3.3 an Messtag 6,
für Linie 3.4 an Messtag 7,
für Linie 3.5 an Messtag 8.

Tabelle 1: Fv/Fm der Linien 1, 3 und 4

Linie 1		Linie 3.1		Linie 3.2		Linie 3.3		Linie 3.4		Linie 3.5		Linie 4	
Uhrzeit	Fv/Fm	Uhrzeit	Fv/Fm	Uhrzeit	Fv/Fm	Uhrzeit	Fv/Fm	Uhrzeit	Fv/Fm	Uhrzeit	Fv/Fm	Uhrzeit	Fv/Fm
8:53:47	0,720	8:45:07	0,627	8:40:52	0,627	8:28:13	0,763	8:49:45	0,754	8:40:13	0,751	8:46:06	0,715
10:07:50	0,734	9:15:14	0,624	9:40:07	0,605	8:54:46	0,776	9:52:08	0,758	10:02:48	0,753	9:29:54	0,659
11:02:23	0,716	9:40:09	0,629	10:52:19	0,607	9:55:05	0,761	10:56:11	0,691	11:04:52	0,761	10:40:33	0,706
12:14:42	0,725	11:10:41	0,612	11:52:57	0,710	10:55:07	0,759	11:51:55	0,736	12:11:11	0,736	11:31:07	0,663
13:13:52	0,731	12:12:08	0,600	12:55:41	0,699	11:56:07	0,750	12:41:45	0,704	13:10:11	0,759	12:54:26	0,719
14:24:48	0,725	14:15:10	0,697	13:49:10	0,723	13:02:03	0,765	14:03:04	0,755	14:07:57	0,762	13:56:44	0,752
15:35:51	0,717	15:14:12	0,666	15:02:42	0,668	13:53:37	0,736	15:18:33	0,770	15:02:19	0,727	15:08:44	0,745
		16:30:26	0,725			14:55:07	0,769					16:13:13	0,757

Tabelle 2: Quantenaubeute (Yield) der Linien 1, 3 und 4

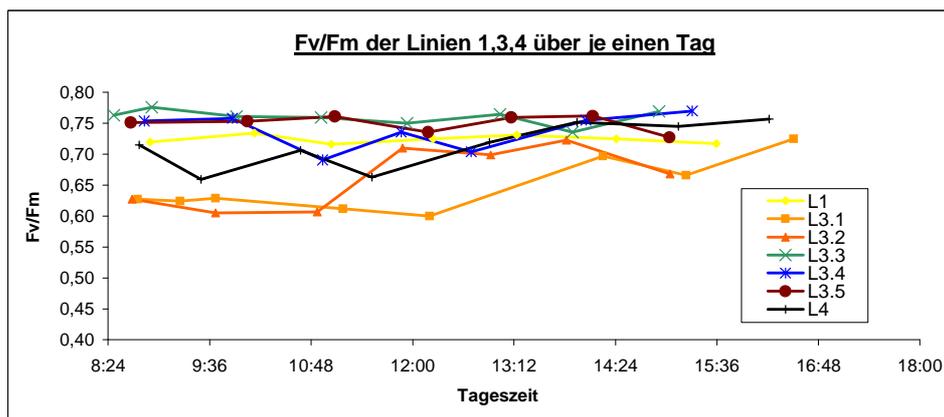
Linie 1		Linie 3.1		Linie 3.2		Linie 3.3		Linie 3.4		Linie 3.5		Linie 4	
Uhrzeit	Yield	Uhrzeit	Yield	Uhrzeit	Yield	Uhrzeit	Yield	Uhrzeit	Yield	Uhrzeit	Yield	Uhrzeit	Yield
8:53:47	0,561	8:45:07	0,368	8:40:52	0,401	8:28:13	0,570	8:49:45	0,485	8:40:13	0,515	8:46:06	0,579
10:07:50	0,562	9:15:14	0,106	9:40:07	0,489	8:54:46	0,577	9:52:08	0,674	10:02:48	0,527	9:29:54	0,395
11:02:23	0,581	9:40:09	0,328	10:52:19	0,426	9:55:05	0,548	10:56:11	0,587	11:04:52	0,460	10:40:33	0,406
12:14:42	0,548	11:10:41	0,361	11:52:57	0,504	10:55:07	0,584	11:51:55	0,616	12:11:11	0,438	11:31:07	0,469
13:13:52	0,614	12:12:08	0,416	12:55:41	0,527	11:56:07	0,562	12:41:45	0,620	13:10:11	0,539	12:54:26	0,541
14:24:48	0,604	14:15:10	0,476	13:49:10	0,549	13:02:03	0,585	14:03:04	0,595	14:07:57	0,545	13:56:44	0,584
15:35:51	0,606	15:14:12	0,450	15:02:42	0,339	13:53:37	0,525	15:18:33	0,619	15:02:19	0,535	15:08:44	0,623
		16:30:26	0,603			14:55:07	0,611					16:13:13	0,567

Tabelle 3: Quantenausbeute (Yield) nach 3 minütiger Verdunklung

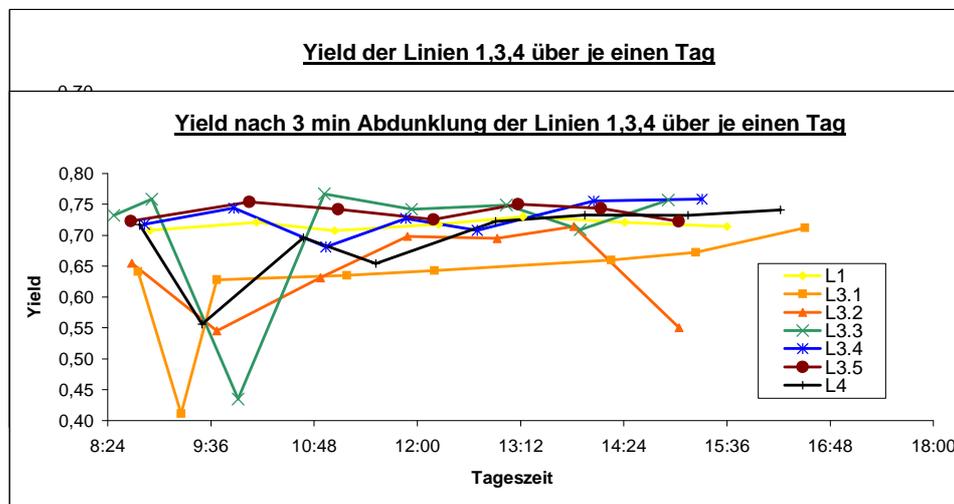
Linie 1		Linie 3.1		Linie 3.2		Linie 3.3		Linie 3.4		Linie 3.5		Linie 4	
Uhrzeit	Yield	Uhrzeit	Yield	Uhrzeit	Yield	Uhrzeit	Yield	Uhrzeit	Yield	Uhrzeit	Yield	Uhrzeit	Yield
8:53:47	0,708	8:45:07	0,641	8:40:52	0,655	8:28:13	0,732	8:49:45	0,718	8:40:13	0,723	8:46:06	0,717
10:07:50	0,721	9:15:14	0,411	9:40:07	0,545	8:54:46	0,758	9:52:08	0,744	10:02:48	0,754	9:29:54	0,556
11:02:23	0,707	9:40:09	0,628	10:52:19	0,631	9:55:05	0,435	10:56:11	0,681	11:04:52	0,742	10:40:33	0,696
12:14:42	0,718	11:10:41	0,635	11:52:57	0,698	10:55:07	0,767	11:51:55	0,727	12:11:11	0,725	11:31:07	0,654
13:13:52	0,730	12:12:08	0,643	12:55:41	0,695	11:56:07	0,742	12:41:45	0,708	13:10:11	0,750	12:54:26	0,722
14:24:48	0,721	14:15:10	0,660	13:49:10	0,714	13:02:03	0,749	14:03:04	0,755	14:07:57	0,743	13:56:44	0,733
15:35:51	0,714	15:14:12	0,672	15:02:42	0,550	13:53:37	0,709	15:18:33	0,758	15:02:19	0,722	15:08:44	0,732
		16:30:26	0,712			14:55:07	0,757					16:13:13	0,741

5.4 Auswertung

Zur Auswertung der Fv/Fm-Werte wurden die aus den Quenchingparameter-Bestimmungen erhaltenen Fv/Fm-Werte gegen die Uhrzeit aufgetragen, so daß deren Verlauf über den jeweiligen Messtag ersichtlich wird.



Zum Auftragen der Yield-Werte wurden die letzten 8 Werte der stationären Endphase der Messung gemittelt und die Mittelwerte analog den Fv/Fm-Werten gegen die Uhrzeit aufgetragen. Dadurch ergab sich ebenfalls deren Verlauf über den jeweiligen Messtag.



Mit den Yield-Werten nach dreiminütiger Verdunklungsphase wurde analog zu Fv/Fm verfahren.

5.5 Interpretation

Es lässt sich erkennen, daß sich für Fv/Fm keine signifikanten Änderungen ergeben, sich der Streßzustand der Pflanzen über den Tag hinweg also nicht ändert. Dies gilt für alle betrachteten Linien. Es wäre zu erwarten gewesen, daß sich zumindest bei der, anhand der Säuremessungen als CAM-Aktiv identifizierten, Linie 4 eine Änderung zeigt.

Es ist jedoch ersichtlich, daß die Linien 3.1 und 3.2 gestreßter sind als die restlichen. Da alle Pflanzen gleich behandelt wurden und vor Beginn der Messung schon einige Tage im Gewächskasten standen, wurden vermutlich stärker getreßte Blätter vermessen. Bei beiden Linien ist im Verlauf des Tages eine Erholung festzustellen.

Bei der Betrachtung der Yield-Werte fällt auf, daß die noch C₃ betreibende Linie 1 (gelb) keine signifikanten Schwankungen aufweist. Die CAM-aktive Linie 4 dagegen durchläuft im ersten Drittel des "Licht-Tages" ein Minimum, was auf eine verringerte Photosyntheserate schließen lässt. Da die Pflanzen sehr stark gewässert wurden und in einer Umgebung mit sehr hoher Luftfeuchtigkeit wuchsen ist nicht auszuschließen, daß die Pflanzen, trotz CAM-Aktivität, ihre Spaltöffnungen bei Absinken der Malatkonzentration geöffnet haben. Dadurch könnte die zur Verfügung stehende Menge an CO₂ gesteigert werden und so der Anstieg der Quantenausbeute zu erklären sein.

Da die Fv/Fm-Messungen für die Linien 3.1 und 3.2 auf größeren Streß hinweisen, werden diese für die weiteren Betrachtungen nicht herangezogen.

Linie 3.4 (blau) verhält sich wie Linie 1, d.h. die Quantenausbeute der Photosynthese bleibt über den Tag hinweg relativ konstant. Das läßt darauf schließen, daß diese Pflanze noch immer C₃-Stoffwechsel betreibt. Die Quantenausbeute liegt allerdings leicht über der von Linie 1. Es könnte sich hierbei entweder um natürliche Schwankungen handeln oder ein Indiz

dafür sein, daß dem Stoffwechsel durch gespeichertes Malat eine gesteigerte Menge an CO₂ zur Verfügung steht wodurch die Photosynthese effektiver ablaufen kann.

Linie 3.5 (braun) weist einen ähnlichen Verlauf der Quantenausbeute auf wie Linie 4. Es kommt auch hier zu einem über etwa 3 Stunden dauernden Einbruch der Quantenausbeute von etwa 20%. Dieses Minimum fällt zwar etwas schwächer aus als bei Linie 4 ist aber deutlich zu erkennen und kann als Hinweis auf CAM-Aktivität gedeutet werden.

Die nach 3 minütiger Verdunklungsphase gemessenen relativen Quantenausbeuten zeigen einen den Fv/Fm-Werten ähnlichen Verlauf, was nicht verwunderlich ist, da sich die Verdunklungszeiten von 5 bzw. 3 Minuten nicht wesentlich unterscheiden. Zu erwarten gewesen wäre hier eine unterschiedlich stark ausgeprägte Erholung von C₃-und CAM-Pflanzen. Die stark ausgeprägten negativen Peaks, die meist beim zweiten Messwert auftreten, lassen sich nicht sinnvoll interpretieren und deuten eher auf Handhabungsfehler beim Umgang mit dem Fluorimeter hin. Insgesamt liegen die Werte jedoch alle etwas unterhalb der Fv/Fm-Werte.

5.6 Diskussion

Das größte Manko an den gefundenen Ergebnissen besteht darin, daß Aufgrund mangelnder Erfahrung mit einer viel zu geringen aktinischen Lichtintensität gemessen wurde. Das führte dazu, daß die den photochemischen Reaktionen folgenden Stoffwechselforgänge nicht ausgelastet waren und daher keinen limitierenden Faktor darstellten. Aufgrund des zeitlichen Aufwandes konnten auch keine Doppelbestimmungen am gleichen oder anderen Blättern der jeweiligen Pflanze durchgeführt werden um biologische Varianzen auszuschließen. Aus dem gleichen Grunde mußten leider auch die Verdunklungsphasen sehr kurz gehalten werden, was vermuten lässt, daß die Pflanzen nicht wirklich dunkeladaptiert waren.

Literatur:

- [1] von Willert, Dieter J.: Experimentelle Pflanzenökologie - Stuttgart : Thieme Verlag, 1995
- [2] Schreiber, Ulrich: Chlorophyllfluoreszenz und photosynthetische Energieumwandlung – Effeltrich : Heinz Walz GmbH, 1997

Anmerkung:

Ich war mir mit den Messtagen nicht mehr so sicher. Kannst Du auf S.1 unten mal schaun ob das so stimmt? Linie 3.5 ist der 19. Also der letzte Messtag, die anderen entsprechend jeweils einen Messtag früher.

Fazit:

Es kann gesagt werden, dass über die Messung der Fv.M-Werte kein Umstellen der C₃-Photosynthese auf CAM-Photosynthese nachgewiesen werden konnte. Laut Keiller(XXXX) sollten die Fv:m-Werte , von Pflanzen mit CAM-Photosynthese, signifikant unter den Fv:m-Werten von Pflanzen mit C₃-Photosynthese liegen.

Den *Mesembryanthemum crystallinum* hätten höhere Salzkonzentrationen verabreicht werden müssen um Salzstreß auszulösen. Wenn uns mehr Versuchspflanzen, von *Mesembryanthemum crystallinum*, zur Verfügung gestanden hätten, hätten wir die Pflanzen mit unterschiedlichen Salzkonzentrationen behandeln können. Dies war aber nicht der Fall.

Zusammenfassend ist zu bemerken, daß für keinen der drei untersuchten Parameter eindeutig eine Umstellung auf CAM nachgewiesen werden konnte. Nur bei der Untersuchung des Reduktionsstatus` von Q kann für die Linie 3 am 4. und 5 Meßtag eine Umstellung vermutet werden.

Die Dauerbelichtung zweier Pflanzen der Linie 4 über einen Zeitraum von 10 Tagen ergab folgendes:

Die minimale Säurekonzentration der Pflanzen stieg an, der cicadieane Säurerhythmus wurde jedoch aufrecht gehalten.

Die Untersuchung der Fv:Fm Werte zeigte dass die Dauerbelichtung bei einer Intensität von ca. $580 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ zu Photoinhibition geführt hat.

In Bezug auf den Reduktionsstatus und das nicht photochemische Quenching konnten keine eindeutigen Ergebnisse erzielt.

Mit Hilfe unseres Streuversuches konnte gezeigt werden, dass zwischen den Blättern einer Pflanze eine hohe Variabilität herrscht und sie als Individuen betrachtet werden müssen.

Für den Verlauf der Yield-Werte konnte, im Einklang mit den Ergebnissen aus den anderen Teilen, zumindest am letzten Messtag eine Veränderung im Verlauf der Yield-Werte gefunden werden, die auf die einsetzende Umstellung auf den CAM-Stoffwechsel hindeutet.

Des Weiteren hätten mehrere Kartoffelpflanzen, in allen Teilexperimenten, als Kontrollpflanzen eingesetzt werden müssen.

Anhang:

¹Keiller, Slocombe, Cockburn: „Analysis of chlorophyll a fluorescence in C3 and CAM forms of *Mesembryanthemum crystallinum*“; *Journal of Experimental botany*, Vol.45 No. 272; pp.325-334, March 1994

Literatur:

- [1] von Willert, Dieter J.: *Experimentelle Pflanzenökologie - Stuttgart* : Thieme Verlag, 1995
 [2] Schreiber, Ulrich: *Chlorophyllfluoreszenz und photosynthetische Energieumwandlung – Effeltrich* : Heinz Walz GmbH, 1997

Anhang

Dauerbelichtete
 Pflanze
 Säurewerte
 ohne Salz

Datum	Blatt 1	Blatt 2	Blatt 1	Blatt 2	Säuredifferenz				
	morgens	morgens	abends	abends	Blatt 1	Blatt2	Kontrolle	kontrolle morgens	kontrolle abends
1	51,481	53,77	33,077	27,447	18,404	26,323	38,1885	59,032	20,84
2	73,384	27,259	17,6	15,789	55,784	11,47	38,1885	59,032	20,84
3	36,364	28,824	27,632	14,388	8,732	14,436	38,1885	59,032	20,84
4			20	30,415				59,032	20,84
7	71,97	71,25	54,194	60,123	17,776	11,127	38,1885	59,032	20,84
8	71,765	112,222	86,861	61,871	-15,096	50,351	38,1885	59,032	20,84
9	80	112,5	165	84	-85	28,5	38,1885	59,032	20,84
10	50,725	98,947	39,597	65,363	11,128	33,584	38,1885	59,032	20,84

Dauerbelichtete Pflanze Säurewerte

mit Salz mit Salz

Tage	Blatt 1	Blatt 2	Blatt1	Blatt2	Säuredifferenz					
	morgens	morgens	abends	abends	Blatt 1	Blatt2	Kontrolle	kontrolle morgens	kontrolle abends	
1		32,609	39,934	11,563	13,333	21,046	26,601	26,224	38,515	12,29
2		45,063	43,677	22,571	11,379	22,492	32,298	26,224	38,515	12,29
3		70,714	47,632	18,634	14,108	52,08	33,524	26,224	38,515	12,29
4			19,835	16,374				26,224	38,515	12,29
7		78,571	65,909	34	39,437	44,571	26,472	26,224	38,515	12,29
8		100	29,333	89,63	71,805	10,37	-42,472	26,224	38,515	12,29
9		168,182	152,5	46,667	47,692	121,515	104,808	26,224	38,515	12,29
10		44,253	76,991	40	54,667	4,253	22,324	26,224	38,515	12,29

Tag/Nacht Pflanzen, Säurewerte

Datum	mit Salz		
05,02,04	morgens	abends	differenz
	32,764	19,137931	13,626
	40,113	6,17283951	33,940
	62,7586207	12,1518987	50,607
09,02,04	39,0909091	18,421052	20,670
	26,3636364	10,169491	16,194
	30	7,6923076	22,308
Summe	231,090	73,74551981	157,344
durchschnitt	38,515	12,29	26,224
	ohne Salz		
05,02,04	86,9198312	19,8529414	67,067
	31,7965024	8,51926978	23,277
09,02,04	82,66667	35	47,667
	34,7435897	20	14,744
summe	236,1265933	83,37221118	152,754
durchschnitt	59,032	20,84	38,1885

Dauerbelichtete Pflanzen Fv:Fm

mit salz

	morgens	mittags	abends	Dauerlicht
1	0,786	0,771	0,772	0,776
2		0,653	0,775	0,714
3	0,698	0,747	0,738	0,728
4	0,712	0,639	0,707	0,686
7	0,595	0,605	0,567	0,589
8	0,51	0,514	0,453	0,492
9	0,752	0,764	0,667	0,728
10	0,769	0,533	0,701	0,668

Dauerbelichtet Pflanzen Fv:Fm

ohne salz

Tage	morgens	mittags	abends	Dauerlicht
1	0,765	0,783	0,771	0,773
2	0,7	0,726	0,784	0,737
3	0,691	0,733	0,75	0,725
4	0,6	0,613	0,649	0,621
7	0,652	0,627	0,645	0,641
8	0,649	0,625	0,628	0,634
9	0,6	0,559	0,674	0,611
10	0,7	0,565	0,597	0,621

Tag/Nacht Pflanzen

Mittelwerte (morgens mittags)

Tage	mit salz	ohne salz
	Tag/Nacht	Tag/Nacht
1	0,764	0,745
4	0,735	0,737
7	0,743	0,716
8	0,735	0,743
9	0,735	0,724
10	0,719	0,716

Pflanze

mit Salz 1-qP

Tage	1-qP		1-qP		1-qP		Mittelwert mit Salz
	morgens	morgens	mittags	mittags	abends	abends	
1	0,957	0,043	0,951	0,049	0,9	0,053	0,048
2			0,744	0,256	1,0	0,033	0,096
3	0,972	0,028	0,868	0,132	0,9	0,08	0,08
4	0,874	0,126	1	0	1,0	0,007	0,044
7	0,863	0,137	0,88	0,12	0,9	0,076	0,111
8	0,932	0,068	0,869	0,131	0,9	0,06	0,086
9	0,928	0,072	0,95	0,05	0,9	0,089	0,070
10	0,84	0,16	1	0	0,923	0,077	0,079

Pflanze ohne Salz

Datum	qP	1-qP	1-qP	1-qP	1-qP	Mittelwert
-------	----	------	------	------	------	------------

	morgens	morgens	mittags	mittags	abends	abends	ohne Salz
1	0,867	0,133	0,928	0,072	0,9	0,052	0,086
2			0,963	0,037	1,0	0,044	0,027
3	0,887	0,113	0,905	0,095	0,9	0,085	0,09766667
4	1	0	1	0	0,9	0,059	0,020
7	0,936	0,064	0,952	0,048	1,0	0,042	0,051333333
8	0,98	0,02	0,99	0,01	0,9	0,074	0,035
9	0,917	0,083	0,974	0,026	0,9	0,093	0,067
10	1	0	1	0	1,0	0	0

Pflanze mit Salz quenching

Datum	qN	nach 3 min	qF	qN	nach 3min	qF	qN	nach 3min	qF	qs durchschnitt	qn durchschnitt
	morgens	morgens	morgens	mittags	mittags	mittags	abends	abends	abends	mit Salz	mit Salz
1	0,38	0,198	0,182	0,449	0,168	0,281	0,4	0,145	0,222	0,170	0,39866667
2				0,432	0,002	0,430	0,4	0,163	0,249	0,055	0,422
3	0,441	0,122	0,319	0,416	0,096	0,320	0,4	0,123	0,245	0,114	0,408333333
4	0,475	0,564	-0,089	0,43	0,154	0,276	0,4	0,116	0,251	0,278	0,424
7	0,255	0,002	0,253	0,206	0,002	0,204	0,2	0,030	0,213	0,011	0,23466667
8	0,343	0,164	0,179	0,307	0,002	0,305	0,3	0,002	0,325	0,056	0,32566667
9	0,227	0,136	0,091	0,365	0,099	0,266	0,250	0,17	0,080	0,135	0,28066667
10	0,643	0,145	0,498	0,87	0,651	0,219	0,629	0,131	0,498	0,309	0,714

Pflanze ohne Salz Quenching

Datum	qN	nach 3 min	qF	qN	nach 3 min	qF	qN	nach 3 min	qF	qs durchschnitt	qn durchschnitt
	morgens	morgens		mittags	mittags		abends	abends	qF	ohne Salz	ohne Salz
1	0,52	0,104	0,416	0,378	0,144	0,234	0,4	0,165	0,262	0,138	0,44166667
2				0,354	0,029	0,325	0,4	0,150	0,264	0,060	0,384
3	0,458	0,002	0,456	0,453	0,066	0,387	0,4	0,081	0,277	0,050	0,423
4	0,914	0,104	0,81	0,435	0,036	0,399	0,4	0,067	0,364	0,069	0,433
7	0,305	0,056	0,249	0,277	0,086	0,191	0,4	0,171	0,252	0,104	0,335
8	0,356	0,153	0,203	0,406	0,034	0,372	0,3	0,002	0,334	0,063	0,366
9	0,321	0,019	0,302	0,362	0,002	0,36	0,231	0,002	0,229	0,008	0,30466667
10	0,777	0,205	0,572	0,436	0,012	0,424	0,758	0,221	0,537	0,146	0,657

Ohne Salz morgens Messung

Test auf Normalverteilung

normalverteilt

Kolmogorov-Smirnov-Test für kontinuierliche Variable

	N	D	P
C4	10	0,2522935	0,54768993
CAM	4	0,27219943	0,92833053

Ein niedriger Wert P-Wert (< 0.05) dagegen würde signifikante Unterschiede bedeuten.

t-Test für unverbundene Stichproben

	N	Mittelwert	95% Vertrauen	Std.Fehler	Std.Abw.
			95%		
C4	10	8,27248803	3,71398285	1,64176304	5,1917106
CAM	4	80,0812548	35,4434196	11,1371512	22,2743025
gesamte Stichprobe	14	28,7892785	20,5479083	9,5110903	35,5872413

F-Test:

F	P
18,4071807	0,00070285

t-Test:

Varianzschätzung	T	Freiheits- grade	P	
Homogen	-	10,1060916	12	3,195E-07
Heterogen	-	6,37874352	3,13130767	0,00684742

Abb.:1.27

Mit Salz morgens Messung

Test auf Normalverteilung

normalverteilt

Kolmogorov-Smirnov-Test für kontinuierliche Variable

	N	D	P
C4	10	0,2522935	0,54768993
CAM	4	0,27219943	0,92833053

Ein niedriger Wert P-Wert (< 0.05) dagegen würde signifikante Unterschiede bedeuten.

t-Test für unverbundene Stichproben

	N	Mittelwert	Vertrauen (±)	Std.Fehler	Std.Abw.
C4	10	11,405142	3,96778828	1,75395752	5,5465007
CAM	4	54,56815	23,7713105	7,46950163	14,9390033
gesamte Stichprobe	14	23,73743	12,6798452	5,86916928	21,9604206

F-Test:

F	P
7,25446016	0,01787136

t-Test:

Varianzschätzung	T	Freiheits- grade	P
Homogen	8,21546601	12	2,8613E-06
Heterogen	5,62555458	3,33657038	0,0082997

Abb.:1.28

