

# Stärkenachweis im Blatt

## Demonstration der Notwendigkeit von Licht

### Material:

- Pflanze dünnblättrig (z.B. *Myriocarpa*, *Boehmeria*, *Pelargonium*, *Tropaeolum*; 24 – 48 Stunden verdunkelt, dann mit Schablonen versehen und 6 – 12 Stunden belichtet)
- Schablonen (Kork, Moosgummi, dunkles Naturpapier) + Stecknadeln
- Lichtquelle
- elektrische Kochplatte
- Jenaer Glasgeschirr mit Deckel
- vergällter Alkohol (Ethanol)
- Lugol'sche Lösung (Jod-Kaliumjodidlösung)
- große Petrischalen
- Holzklammern oder große Metallpinzetten



©Judith Haumann

### Durchführung:

- Vergällten Alkohol ca. 2 cm hoch in die Glasschüssel füllen und auf der Kochplatte erhitzen bis er zu sieden beginnt
- Ein Blatt mit Blattstiel ernten (Schablone entfernen), mit der Holzklammer in den heißen Alkohol legen (Vorsicht: Dämpfe so wenig wie möglich einatmen!). Chlorophyll im heißen Alkohol extrahieren, bis das Blatt nahezu vollständig entfärbt ist.
- Blatt vorsichtig in eine große Petrischale mit Lugol'scher Lösung legen, leicht schwenken. Nach 1-2 Minuten wird die vorhandene Stärke durch Einlagerung des Jods in die Amylose-Spirale durch Dunkelblau- / Violettfärbung sichtbar.



©Judith Haumann



©Doris Engelmeier

### Erweiterungsmöglichkeiten:

- Demonstration der Notwendigkeit von **Chlorophyll**

Versuch mit einem panaschierten Blatt durchführen. Verdunkelung erübrigt sich.

- Demonstration der Notwendigkeit von **Kohlenstoffdioxid**

Pflanze wird 24 – 48 Stunden verdunkelt. Danach wird mit einem Pinsel Vaseline auf die Blattoberfläche aufgetragen: auf die Blattoberseite ein „O“, auf die Blattunterseite ein „U“. Nun Belichtung und weitere Durchführung wie oben. Bei hypostomatischen Blättern wird nach Einlegen in Lugol'sche Lösung das „U“ deutlich sichtbar, das „O“ hingegen nur schwach oder gar nicht.

# Nachweis des bei der Photosynthese gebildeten Sauerstoffs: Indigokarminversuch

## Material:

- Hohes Glas + Deckel
- Große Petrischale
- (abgestandenes) Leitungswasser
- Indigokarminlösung (0.5%)
- Na-Dithionit-Lösung ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ , starkes Reduktionsmittel, 10% -ig)
- Tropfpipette
- Kochlöffel
- Wasserpflanze (z.B. *Elodea*, *Myriophyllum*, *Carbomba*)
- Metallklammer
- Lichtquelle



©Judith Haumann

## Durchführung:

- Glas langsam randvoll mit (abgestandenem) Wasser füllen, dabei grob das Volumen bestimmen.
- Indigokarmin-Lösung zusetzen (20 ml/L; Endkonz. 0.01%).
- Durch tropfenweises Zugeben der Na-Dithionitlösung unter gleichzeitigem Umrühren die tiefblaue Lösung entfärben (Vorsicht: nicht zuviel!).
- Pflanze (-nteil) am unteren Ende beschweren (Draht, Klammer) und in das Glas geben, luftblasenfrei zudecken und belichten (sonniges Fenster oder Diaprojektor).



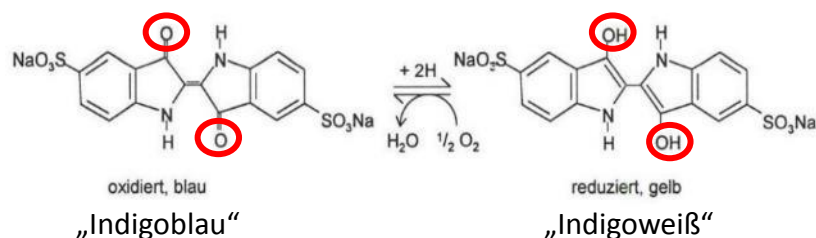
©Judith Haumann

## Ergebnis:

Nach einiger Zeit am Licht ist um Pflanze Bildung dunkelblauer Schlieren zu beobachten.

## Erklärung:

Indigokarmin ist ein Farbstoff, der in reduzierter Form blassgelb, in oxidiertem Zustand tiefblau ist. Durch Na-dithionit (starkes Reduktionsmittel) wird der Farbstoff zunächst reduziert. Der bei der Wasserspaltung gebildete Sauerstoff tritt aus der Pflanze aus und versetzt den Farbstoff wieder in den oxidierten Zustand.



## Erweiterungsmöglichkeiten:

Ansatz wiederholen mit **CO<sub>2</sub>- Zugabe** (eine Spatelspitze Na-Hydrogenkarbonat oder ca. 10 ml kohlensäurehaltiges Mineralwasser) oder in **Dunkelheit** (mit Alufolie verdunkeln).

Bei CO<sub>2</sub> Anreicherung sollte Blaufärbung schneller auftreten, im Dunkeln sollte sie unterbleiben.

# Versuche mit Chlorophyll

## 1. Extraktion der Blattpigmente

### Material:

- Spinatblätter frisch (oder tiefgekühlt)
- Reibschale + Pistill
- Quarzsand
- Aceton
- (Mg- oder Ca-Carbonat)
- Rundfilter
- Trichter
- Erlenmeyerkolben (50 ml)

### Durchführung:

- Mittelrippen größerer frischer Spinatblätter entfernen, Blätter eventuell etwas zerkleinern.
- In Reibschale mit Extraktionsmedium (Aceton) übergießen, etwas Quarzsand dazugeben, **vorsichtig** zerreiben, kurz stehen lassen.
- Extrakt in einen kleinen Erlenmeyerkolben filtrieren.

## 2. Herstellung eines konzentrierten Benzinextrakts

### Material:

- Acetonextrakt (siehe oben)
- Erlenmeyerkolben (50 ml)
- Benzin (Petroläther; Wasch-, Fleck-, Feuerzeug- oder Wundbenzin)
- 5 ml- (oder 10 ml -) Pipette mit Peleusball
- Wasser-Spritzflasche

### Durchführung:

- In 50 ml - Erlenmeyerkolben Acetonextrakt mit 3 - 5 ml Benzin übergießen (für Verseifung eventuell etwas mehr machen). Leicht schwenken.
- Dann Wasser (oder 10% Salzlösung) im Überschuss langsam und vorsichtig zufügen.
- Benzinphase scheidet sich oben im Hals des Kolbens ab und kann mit einer Pipette und einem Peleus - Ball vorsichtig abgesaugt werden.



©Judith Haumann

### Erweiterungsmöglichkeit:

kann auch mit rotem Herbstlaub (z.B. *Parthenocissus*, *Acer palmatum*) durchgeführt werden, um Reste von Chlorophyll sichtbar zu machen.



©Judith Haumann



©Judith Haumann

### 3. Dünnschicht-Chromatografie

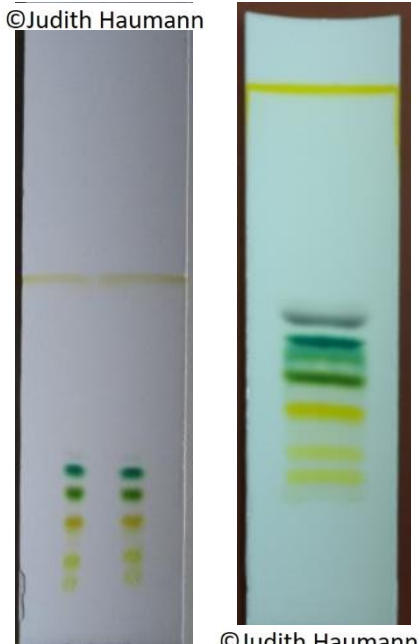
#### Material:

- Benzinextrakt (siehe oben)
- DC-Folie zugeschnitten (DC Kieselgel 60 F254, Streifen ca. 10 x 2,5cm))
- 10µl – Einweg – Mikropipetten, Glaskapillare
- Glasgefäß (Boden konkav) mit Deckel (kleine Petrischale)
- Laufmittel (100 T Benzin + 10 T Isopropanol + 0,25 T H<sub>2</sub>O)

#### Durchführung:

- Benzinextrakt punktförmig etwa 1 cm vom unteren Rand der Dünnschichtchromatographie-Folie auftragen, trocknen lassen. Mehrmals wiederholen.
- In ein verschließbares Glas etwa 5 mm hoch Laufmittel füllen und Folie mit der Auftragszone nach unten einstellen. Glas abschließen.
- Die Entwicklung des Chromatogramms benötigt etwa 10 - 15 min. Von oben nach unten trennen sich folgende Komponenten: Carotin - Phaeophytin (grau) – Chlorophyll a – Chlorophyll b - und die Xanthophylle Lutein - Zeaxanthin - Violaxanthin.

©Judith Haumann



©Judith Haumann

### 4. Verseifung des Chlorophylls

Demonstration der hydrophilen und hydrophoben Anteile des Chlorophylls

#### Material:

- Benzinextrakt (siehe oben)
- Epruvetten + Halterung
- Gesättigte methanolische KOH (in Pipettenflascherl)
- Benzin
- Wasser

#### Durchführung:

- 2-3 ml konz. Benzinextrakt in Reagenzglas tropfenweise mit gesättigter methanolischer KOH versetzen. Gründlich durchmischen (schütteln).
- Nach einiger Zeit beginnt sich das verseifte Chlorophyll abzuscheiden und am Boden der Epruvette zu sammeln.
- Die überstehende Flüssigkeit wird gelb. Sie wird vorsichtig abdekantiert.
- Das verseifte Chlorophyll bleibt zurück und kann durch Waschen mit einigen ml Benzin und nochmaligem Abdekantieren weiter gereinigt werden.
- Durch Zusatz von Wasser erhält man eine wässrige Chlorophyllid- Lösung.

©Judith Haumann



# Versuche zur Blattanatomie

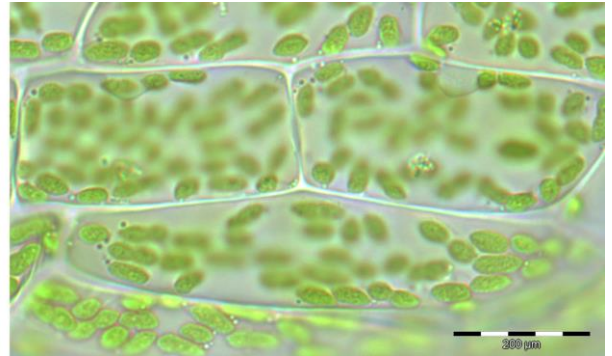
## 1. Moosblättchen

### Material:

- Lichtmikroskop, Objektive 4x, 10x (ev. 40x)
- Moos
- Objektträger
- Deckgläser
- Pipette, Leitungswasser
- Pinzette

Mit der Pinzette vorsichtig ein Moosblättchen abzupfen und in einen Tropfen Wasser auf den Objektträger legen. Deckglas darauflegen und mikroskopieren.

Da das Moosblättchen nur eine einzige Zellschicht besitzt, kann man die einzelnen Zellen aufgrund der hellen Zellwände gut erkennen. In ihrem Inneren liegen bis zu 20 Chloroplasten. Thylakoidmembranstapel der inneren Chloroplastenmembran sind als dunkle Pünktchen im Chloroplasten zu erkennen. Die Zellkerne sind durchsichtig und meist nicht zu sehen.



© Ingeborg Lang

## 2. Efeublatt, Querschnitt

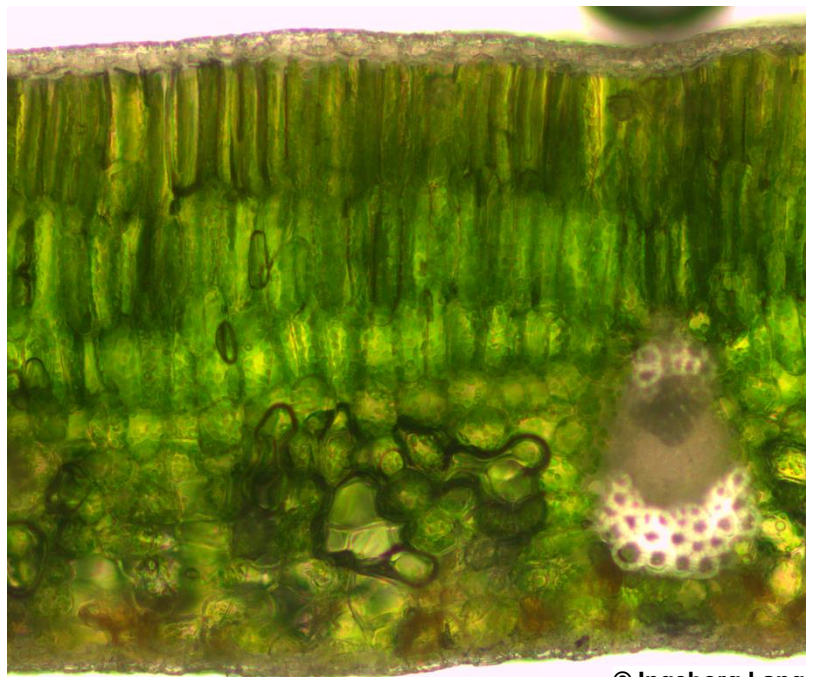
### Material:

- Blätter von Efeu (*Hedera helix*)
- Styropor (grün, rosa, hellblau)
- Rasierklinge
- Wasserschälchen mit Wasser
- Präparierzeug: Pipette, Pinzette, Objektträger, Deckgläser
- Eventuell Plastikspritze zum Entlüften des Blattes

Das Blattstück zwischen zwei kleinen Teilen Styropor einklemmen und gleichmäßig – mit ziehendem Schnitt – dünne Querschnitte anfertigen. Diese in einem wassergefüllten Schälchen sammeln.

Ein Präparat des Blattquerschnittes herstellen, wie oben für das Moosblättchen erklärt.

An dünnen Stellen des Präparates erkennt man die deutliche Schichtung eines klassischen, bifazialen Laubblattes. Von oben nach unten sind das: Kutikula (Wachsschicht, Verdunstungsschutz) – obere Epidermis (einschichtig, keine Chloroplasten) – Palisadengewebe (ein- bis mehrschichtig, längliche Zellen, senkrecht, Photosynthese) – Schwammgewebe (luftig, viele Interzellularen, Gasaustausch) – untere Epidermis (einschichtig, keine Chloroplasten, Spaltöffnungen) – dünne Kutikula. Am Übergang zwischen Palisaden und Schwammgewebe sind Gefäßbündel (Blattadern) zu erkennen; sie dienen der Wasser- und Assimilatleitung.



© Ingeborg Lang

Das Entlüften des Blattes dient dazu, die Luft aus den Zellzwischenräumen zu verdrängen um dann ein schöneres mikroskopisches Bild zu erzielen; es ist nicht unbedingt notwendig. Luftblasen sind aufgrund ihrer Phasengrenze zu Wasser durch schwarze Umrisse gut zu erkennen.

Zum Entlüften wird ein ca. 1 x 2 cm großes Stück des Efeublattes in eine Plastikspritze gelegt (Stößel ganz herausziehen). Dann die Spritze von oben zur Hälfte mit Wasser füllen und den Stößel wieder einsetzen. Die gesamte Luft aus der Spritze drücken, sodass nur noch das Wasser und das Blattstück in der Spritze sind. Dann die Öffnung der Spritze zuhalten und am Stößel ziehen und auslassen.