

Alp-Flix Exkursion 2016

PAM-Analyse zur Reaktion auf Lichtstress in der alpinen Pflanze *Alchemilla vulgaris* im Vergleich zu *Arabidopsis thaliana*

Michaela Hauke, Kilian Dorbath, Paula Rotter

1. Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	2
2. Material und Methoden	6
2.1. Allgemeine Informationen zum Versuch	6
2.2. Versuchsablauf	7
2.3. Erläuterung eines für den Versuch typischen photochemischen Fluoreszenzverlauf (Walz GmbH, 2007) 8	
2.4. Informationen zu den Standorten und der Wetterlage an den Untersuchungstagen	9
3. Ergebnisse	10
3.1. Maximale Quantenausbeute von <i>Alchemilla vulgaris</i> und <i>Arabidopsis thaliana</i> auf verschiedenen Höhenstufen	10
3.2. Non-photochemical quenching (nicht-photochemische Löschung) von <i>Alchemilla vulgaris</i> und <i>Arabidopsis thaliana</i> auf verschiedenen Höhenstufen	11
4. Diskussion	12
5. Literatur	14

1. Einleitung

Die Lebensbedingungen für Pflanzen im alpinen Raum werden mit zunehmender Höhenlage ungünstiger. Aus diesem Grund haben alpine Pflanzenarten entsprechende Anpassungen entwickelt, um diesen Lebensraum dauerhaft besiedeln zu können. Faktoren, die sich in der Höhe verändern schließen Temperatur, Wind, Niederschlag, Schnee und die Sonneneinstrahlung (UV-Strahlung) ein. So nimmt die Temperatur ungefähr um $0,5^{\circ}\text{C}$ pro 100 Höhenmeter ab, der Wind wird stärker, genauso wie der Niederschlag in vielen Bereichen mit zunehmender Höhe zunimmt. Allerdings ist die Niederschlagsmenge auch stark beeinflusst von anderen Einflüssen wie zum Beispiel der Hangausrichtung. Die Kombination aus Temperaturabsenkung und erhöhten Niederschlag führt außerdem zu einer dickeren und langanhaltenderen Schneedecke mit zunehmender Höhenlage (Tranquillini, 1964). Zusätzlich nimmt die Sonneneinstrahlung mit der Höhe zu, da die Atmosphäre dünner wird und damit weniger Trübung aufweist. Dadurch wird die Streuung und Absorption weniger (Turner, 1958). In manchen Fällen kann auch die Horizontabschirmung und die Reflexion von Schneefeldern und Gletschern die Strahlungsintensität stark beeinflussen (Tranquillini, 1964).

Morphologische Anpassungen der Pflanzenarten an diese alpinen Bedingungen sind zum Beispiel eine stärkere Behaarung, um die Transpiration herabzusetzen, Zwergenwuchs, um Windschäden zu reduzieren oder Rosettenwuchs, um den extremen Temperaturschwankungen durch Bildung eines eigenen Mikroklimas auszugleichen (Billings, 1974).

Die hohe Sonneneinstrahlung hat dazu geführt, dass es auch auf subzellulärer Ebene Anpassungen gibt. So können zum Beispiel manche Arten durch Bewegung ihrer Chloroplasten eine Selbstbeschattung induzieren, wobei sich die obersten Chloroplasten für die anderen opfern (Kagawa, 2001).

Betrachtet man die Photosynthese Abläufe in den Chloroplasten, wurden Mechanismen gefunden, wie die Pflanzen mit photooxidativem Stress umgehen. Die lichtabhängige Generation von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) wird photooxidativer Stress genannt. ROS werden durch zwei verschiedene Wege induziert: (1) Durch photosynthetische Aktivität können Energie oder Elektronen direkt auf Sauerstoff übertragen werden (2) und durch die Exposition von Pflanzengewebe mit ultravioletter Strahlung. Während der Photosynthese hat die Pflanze Mechanismen entwickelt, um die Formation von reaktiven Sauerstoffspezies zu minimieren. Die Entstehung von reaktiven Sauerstoffspezies sind Teil einer Alarm-Signal Kaskade und führen zu Modifikationen im Metabolismus und der Genexpression, so dass die Pflanze auf die ungünstigen Umweltbedingungen, zum Beispiel erhöhte UV-Strahlung, reagieren kann. Wenn das induzierte antioxidative Abwehrsystem nicht ausreicht, führt dies zur Entstehung von Radikalen, wodurch der Metabolismus unmittelbar gestört wird. Oxidative Schäden bei starker Lichtintensität werden vor allem dann hervorgerufen, wenn dies in Kombination mit anderen Stressfaktoren wie zum Beispiel niedrigen Temperaturen einhergeht (Foyer et al., 1994).

Damit Alpenpflanzen in hohen Lagen dem zunehmenden UV-Stress, oft in Kombination mit niedrigen Temperaturen, ohne letale Schäden überleben, wird angenommen, dass Alpenpflanzen

verstärkte Schutzmechanismen auf Ebene der Photosynthese ausgeprägt haben (Streb et al., 1998). Neben der Möglichkeit die Lichtabsorption anzupassen, haben Pflanzen auch Mechanismen, die schon absorbierte, überschüssige Energie los zu werden. Diese beschützenden, nicht-photochemischen Mechanismen „löschen“ Singulett Chlorophyll und leiten die überschüssige Anregungsenergie als Hitze ab (non-photochemical quenching, NPQ) (Müller et al., 2001).

Für die Absorption von Licht sind Lichtsammelkomplexe (LHCs) zuständig, die mit den Reaktions-Zentren assoziiert sind. Die Licht Absorption führt dazu, dass Chlorophyll a angeregt und in den Singulett Zustand überführt wird ($^1\text{Chl}^*$). Durch folgende Wege kann das angeregte Chlorophyll wieder in den Grundzustand zurückführt werden: (1) Die Anregungsenergie kann als Chlorophyll

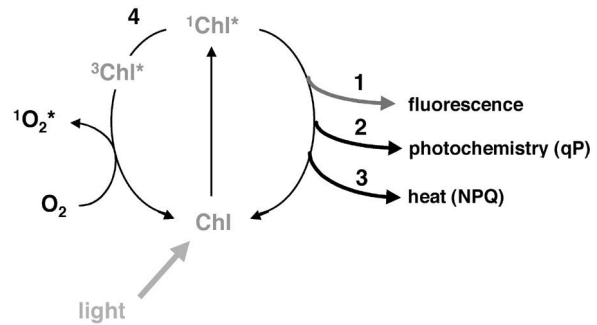


Abbildung 1: Dargestellt sind die drei konkurrierenden Prozesse, wie das durch Lichtenergie angeregte Chlorophyll in seinen Grundzustand zurück überführt werden kann (Müller et al., 2001)

Fluoreszenz abgestrahlt werden, (2) sie kann an die Reaktionszentren des Photosystem II weitergegeben werden, um photochemische Reaktionen anzutreiben (3) sie kann durch Prozesse (NPQ) als Hitze abgeleitet werden (4) oder das Singulett Chlorophyll kann in das Triplett Stadium zerfallen ($^3\text{Chl}^*$). $^3\text{Chl}^*$ kann Energie auf O_2 übertragen und damit Sauerstoff in Singulett Sauerstoff ($^1\text{O}_2^*$) überführen, eine extrem reaktive und schädigende Sauerstoffspezies (Abb. 1).

Die oben beschriebenen Prozesse konkurrieren miteinander. Das bedeutet, dass die Erträge (yields) von $^3\text{Chl}^*$ und die Fluoreszenz von den Beträgen der anderen Prozesse abhängt. Zum Beispiel resultiert ein hoher Anteil an Photochemie während begrenzter Lichteinstrahlung in einer Absenkung (quenching) der Fluoreszenz. Dies wird photochemical quenching (qP, photochemisches Löschen) genannt. Non-photochemical quenching, (NPQ, nicht-photochemisches Löschen) leiten Anregungsenergie ab und löschen auch Chlorophyll Fluoreszenz .

NPQ beinhaltet verschiedene Mechanismen, um die überschüssige Energie, die nicht zur Photochemie beiträgt, ohne Schädigung anzuleiten. Bei Lichtstress wird die überschüssige Energie zunächst verstärkt in den zyklischen Elektronentransport eingespeist, um die überschüssige Energie möglichst schnell zu verteilen (Müller et al., 2001).

Im zyklischen Elektronentransport ist nur das PS I beteiligt. Ferredoxin gibt in diesem Fall die Elektronen nicht an die Ferredoxin-NADP-Reduktase weiter (wie im linearer Elektronentransport), sondern überträgt sie wieder auf den Cytochrom b 6, f-Komplex. Dabei werden weitere Protonen in das Lumen des Thylakoids abgegeben, wodurch der Protonengradient verstärkt wird und der pH-Wert absinkt. Durch den Protonengradienten wird die Protonenpumpe

angetrieben und ATP erzeugt, nicht aber $\text{NADPH}^+ + \text{H}^+$ und O_2 (Abb. 2).

Als Reaktion auf den verstärkt, induzierten, niedrigen pH-Wert im Lumen werden Xanthophylle synthetisiert, vor allem Zeaxanthin. Der Xanthophyll-Zyklus ist für einen Großteil des NPQ verantwortlich, da Zeaxanthin überschüssige Energie aufnehmen kann und somit verhindert das reaktive Sauerstoffspezien entstehen (Campbell, 2000).

Diese beiden Prozesse, zyklischer Elektronentransport und die Synthese von Zeaxanthin sind die beiden Hauptkomponenten des NPQ. Wie schon aufgezeigt, hängen die Prozesse unmittelbar zusammen, da die Zeaxanthin Synthese nur bei einem niedrigen pH-Wert induziert wird.

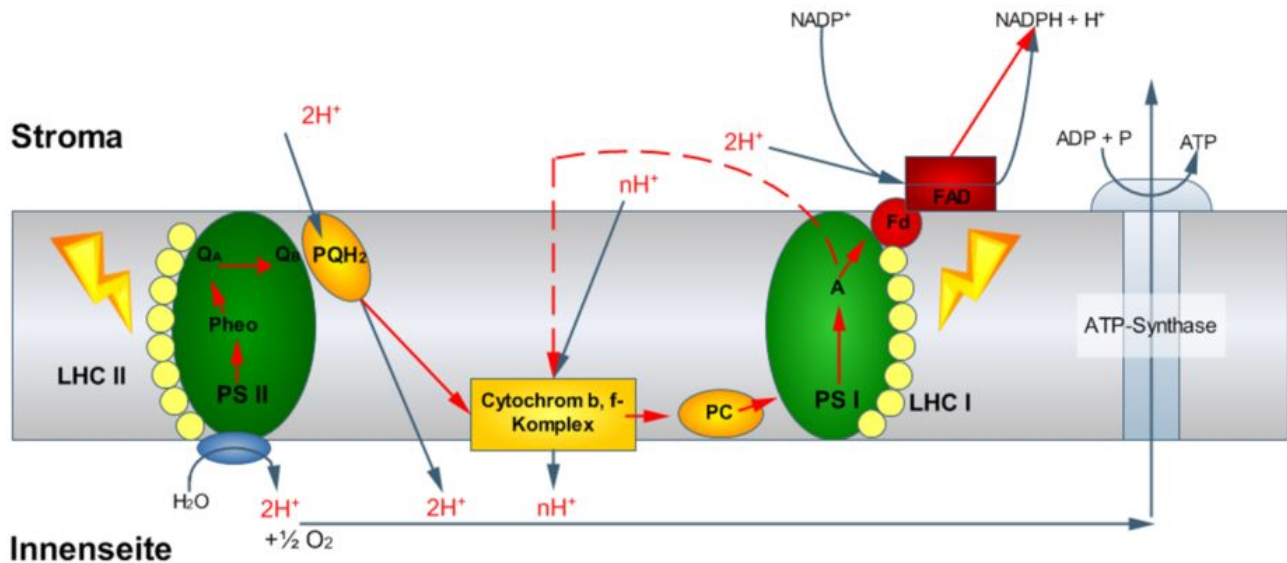


Abb. 2: Linearer (durchgezogene Striche) und zyklischer Elektronentransport (rot gestrichelte Linien) in der Thylakoidmembran während Lichteinstrahlung .

Bei unserer Exkursion auf die Alp Flix in Graubünden, beschäftigten wir uns mit Anpassungen an erhöhten UV-Stress in Alpenpflanzen. Unser Ziel war es zu untersuchen, ob Alpenpflanzen erhöhte Schutzmechanismen (NPQ) als Anpassung an den erhöhten UV-Stress in Höhenlagen aufweisen im Vergleich zu Pflanzenarten, die an niedrigere Höhenlagen vorkommen und damit weniger an UV-Stress angepasst sind. Beispielhaft schauten wir uns zwei Pflanzenarten an: *Alchemilla vulgaris*, als Alpenpflanze und *Arabidopsis thaliana*, die im Gewächshaus gezüchtet wurde, weshalb keine Anpassung an erhöhten UV-Stress zu erwarten sind.

Wir maßen auf verschiedenen Höhenstufen die maximale Quantenausbeute und die Ausprägung der Schutzmechanismen beider Arten, wobei *Arabidopsis thaliana* zwei bis vier Tage vor der Messung an den gleichen Standort in unmittelbarer Nähe gebracht wurde (in Töpfen) wie *Alchemilla vulgaris*, die dort natürlicherweise gewachsen ist. Im Folgenden stellen wir drei Hypothesen auf, wie sich die maximale Quantenausbeute und die Schutzmechanismen auf den verschiedenen Höhenstufen zwischen den beiden Arten unterscheiden.

(1) Die maximale Quantenausbeute und die Ausprägung der Schutzmechanismen von *Alchemilla vulgaris* und *Arabidopsis thaliana* unterscheiden sich unabhängig von der Höhenlage.

Wir erwarten, dass *Alchemilla vulgaris* eine höhere maximale Quantenausbeute und stärkere Schutzmechanismen aufweist im Vergleich zu *Arabidopsis thaliana*. Diese Hypothese lässt sich dahingehend begründen, dass die beiden Pflanzenarten an sehr unterschiedliche Standorte und Umweltbedingungen angepasst sind. Während *Alchemilla vulgaris* extremen Witterungsbedingungen, Temperaturschwankungen und hohem UV-Stress ausgesetzt ist, wurde *Arabidopsis thaliana* unter idealen und konstanten Bedingungen seit Generationen im Gewächshaus gezüchtet. Aus diesen Gründen erwarten wir unterschiedliche Werte der beiden Pflanzenarten bezogen auf die maximale Quantenausbeute und die Ausprägung der Schutzmechanismen.

(2) Die maximale Quantenausbeute von *Alchemilla vulgaris* ändert sich mit zunehmender Höhenstufen im Vergleich zu *Arabidopsis thaliana*.

Wir erwarten, dass sich die maximale Quantenausbeute bei *Alchemilla vulgaris* mit der Höhe zunimmt, während *Arabidopsis thaliana* gleiche Ausbeuten aufweist. Da mit zunehmender Höhe die Aperaturzeit und damit die Vegetationsperiode abnimmt, erwarten wir, dass sich bei *Alchemilla vulgaris* die maximale Quantenausbeute mit zunehmender Höhe erhöht. Eine kürzere Vegetationsperiode bedeutet, dass *Alchemilla vulgaris* so schnell wie möglich Wachsen und Blühen muss. Daraus folgt, dass sie die Energie mit zunehmender Höhe effektiver nutzen muss, um den Prozess schnell zu durchlaufen. Dagegen kommt *Arabidopsis thaliana* nicht in verschiedenen Höhen vor (zumindest die Gewächshauslinie nicht) und hat damit längere Zeit zum Wachsen und Blühen. Aus diesem Grund erwarten wir keine Anpassung und damit keine Veränderung der maximalen Quantenausbeute in *Arabidopsis thaliana*.

(3) Die Ausprägung der Schutzmechanismen von *Alchemilla vulgaris* ändert sich mit zunehmender Höhenstufen im Vergleich zu *Arabidopsis thaliana*.

Wir erwarten, dass mit zunehmender Höhe die Schutzmechanismen bei *Alchemilla vulgaris* stärker ausgeprägt sind, während die Schutzmechanismen von *Arabidopsis thaliana* unverändert bleiben. Da die UV-Strahlung mit zunehmender Höhenlage stärker wird, erwarten wir, dass *Alchemilla vulgaris* als Reaktion verstärkte Schutzmechanismen aufweist, um letale Schäden durch photooxidativen Stress zu vermeiden. Dagegen ist *Arabidopsis thaliana* nicht an starke UV-Strahlung angepasst, was sich vermutlich an einer niedrigeren Ausprägung der Schutzmechanismen widerspiegelt.

2. Material und Methoden

2.1. Allgemeine Informationen zum Versuch

Wir haben im Rahmen der diesjährigen Alp Flix Exkursion am 24. und 26.06.2016 ein Experiment zu den Auswirkungen von Lichtstress auf das Photosystem II von Pflanzen durchgeführt. Die Messungen fanden auf vier verschiedenen Höhengniveaus (1600 m am 24.06., 1800 m am 24.06., 2000 m am 26.06. und 2200 m am 26.06., alle Standorte am selben Hang mit gleicher Exposition) nahe des Hochplateaus Alp Flix (nähe Sur, Graubünden, Schweiz) statt. Bei den Versuchsobjekten handelte es sich um die alpine und heimische Art *Alchemilla vulgaris* und die Vergleichsart *Arabidopsis thaliana*. Letztere wurde von Rosa Witty gezüchtet und zur Standortadaptation am 22.06.2016 ausgebracht. Die Pflanztöpfe wurden hierbei nur auf die Wiese gestellt und nicht eingegraben.

Die Experimente wurden mit *Alchemilla vulgaris* durchgeführt, da diese Art auf allen untersuchten Höhenstufen häufig vorkommt und als typische alpine Pflanze der Alp Flix anzusehen ist. Außerdem eignen sich die relativ großen Blätter gut für Anwendung des zur Verfügung stehenden Fluorometers. Als Vergleichsart wurde *Arabidopsis thaliana* herangezogen. Diese Art gilt als typische Modellspezies und ist unter anderem in Europa weit verbreitet (Meinke et al., 1998). Ein großer Vorteil stellt dabei die Laborzüchtung der Versuchsexemplare im Vorfeld der Untersuchung dar, da diese für Freilanduntersuchungen typische Unsicherheiten stark reduziert. Es wurde der Grundlagenversuch „Saturating Pulse Analysis“ mit Hilfe des JUNIOR-PAM Teaching Chlorophyll Fluorometers (S/N: CFMG04228) und der zugehörigen Software WinControl-3 durchgeführt.

PAM steht hierbei für Pulse-Amplitude-Modulation. PAM Fluorometer messen nur die Fluoreszenz, die durch einen gleichmäßig dosierten Lichtstrahl entsteht. Dies ermöglicht die Durchführung der saturating pulse Analyse, welche eine Manipulation des Fluoreszenzertrages in der photosynthetischen Membran durch kontinuierliche Bestrahlung enthält. Die ermittelten Fluoreszenzwerte können zwischen photochemical und non-photochemical quenching unterschieden werden und geben somit Auskunft über die Photosyntheserate bzw. die Ausbildung von Schutzmechanismen (Protonengradient durch die photosynthetische Membran, Bildung von Zeaxanthin). Der Versuchsaufbau ist in Abbildung 3 zu sehen.

Abbildung 3:



Versuchsaufbau: (1) Pflanzenexemplar (hier *Arabidopsis thaliana*), (2) Magnetische Blatthaltevorrichtung, (3) Lichtleiter, (4) JUNIOR-PAM, (5) USB-Kabel, (6) Laptop mit Software WinControl-3 (Foto: Dominik Ranker)

2.2. Versuchsablauf

1. 30 Minuten vor dem Start der Messungen wurde ein lichtundurchlässiges Gefäß über die Versuchsobjekte gestülpt, sodass die Blätter zu Versuchsbeginn an Dunkelheit akklimatisiert waren.
2. Ein repräsentatives Blatt wurde in die magnetische Blatthaltevorrichtung eingelegt. Der Abstand zwischen Fiberspitze und Blattoberfläche der Probe wurde möglichst minimal gewählt. Die Messungen wurden nahe der Blattmitte (nicht an der Blattmittelader!) durchgeführt.
3. Als erstes wurde die maximale photochemische Effizienz bzw. Quantenausbeute des Photosystems II ermittelt (F_v/F_m). Hierfür ist ein sättigender Lichtimpuls (saturating pulse) kurz vor dem Ende der Dunkelphase nötig. In Abbildung 4 ist dieser Schritt durch den ersten (linken) SP-Pfeil gekennzeichnet.
4. Anschließend wurde die Probe 60s lang beleuchtet (Lichtstress durch aktinisches Licht). Die Beleuchtungsphase endete mit einem zweiten sättigenden Lichtimpuls (saturating pulse, Abbildung 4 zweiter (rechter) SP-Pfeil). Zum Zeitpunkt des Impulses wurden die Parameter $Y(NO)$ und $Y(NPQ)$ gemessen. $Y(NO)$ beschreibt den auf non-photochemical fluorescence quenching (nicht photochemischer Fluoreszenzlöschung) beruhenden und ohne Licht induzierten Quantenertrag. $Y(NPQ)$ beschreibt den auf non-photochemical fluorescence quenching (nicht photochemischer Fluoreszenzlöschung) beruhenden und lichtinduzierten Quantenertrag.
Kramer et al. (2004) publizierten die Berechnung der beiden Parameter.
5. Es wurde gewartet bis das Fluoreszenzsignal wieder das Ausgangsniveau erreicht hatte.

6. Die Schritte 4 und 5 wurden zwei weitere Male durchgeführt. Für die Auswertung wurde die Summe aus den Werten für $Y(NO)$ und $Y(NPQ)$, die sechsfach (je Exemplar dreifach) vorliegen, gebildet und arithmetisch gemittelt.

Der Versuch (Schritte 1 bis 6) fand auf allen vier Höhenstufen, an je zwei Exemplaren der beiden Arten statt.

2.3. Erläuterung eines für den Versuch typischen photochemischen Fluoreszenzverlauf (Walz GmbH, 2007)

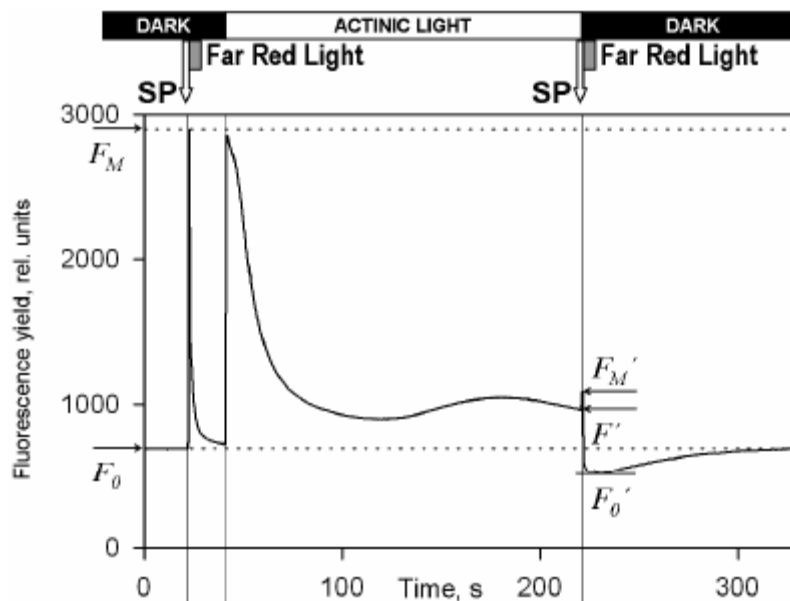


Abbildung 4: Beispielgraph zum Fluoreszenzverlauf (Walz GmbH, 2007)

Der Verlauf ist in Abbildung 4 zu sehen. Die Beleuchtungsphase stellt die photochemisch aktive Phase dar und ist zeitlich gesehen von Dunkelphasen vorher und nachher begrenzt. Zu Beginn des Versuches erreichen keine bzw. nur sehr wenige Photonen das PS II. Hier wird der minimale Fluoreszenzwert F_0 gemessen. F_0 stellt den Zeitraum dar in dem die Reaktionszentren des PS II vollständig geöffnet sind und Lichtenergie mit maximaler Effizienz in chemische, pflanzenverfügbare Energie, umgewandelt werden kann (photochemical quenching maximal). Am Ende der Dunkelphase wird die Probe einem sättigenden Lichtimpuls (SP) ausgesetzt. Dies führt dazu, dass alle Rezeptoren des PS II mit Elektronen besetzt sind. In der Folge schließen sich die Reaktionszentren des PS II und es kann keine Photosynthese mehr stattfinden (photochemical quenching minimal). Hier wird der maximale Fluoreszenzwert F_m gemessen. Nach dem lichtsättigenden Impuls wird die Probe für mehrere Sekunden mit langwelligem (rotem) Licht bestrahlt. Dadurch werden die überschüssigen Elektronen aus der Elektronentransportkette

entfernt und die Reaktionszentren des PS II wieder geöffnet (photochemical quenching maximal, minimaler Fluoreszenzwert).

Durch die nachfolgende langanhaltende Beleuchtung mit aktinischem Licht aktivieren die Pflanzen als Reaktion auf den Lichtstress Schutzmechanismen (NPQ). So wird durch den verstärkten Ablauf des zyklischen Elektronentransportes ein starker Protonengradient in der Thylakoidmembran erzeugt, der wiederum die Synthese von Zeaxanthin induziert. Diese beiden Prozesse sind Hauptbestandteil des non-photochemical quenching (nicht-photochemischen Fluoreszenzlöschung).

Durch den zweiten sättigenden Lichtimpuls (SP) lässt sich die Ausprägung der Schutzmechanismen feststellen, da der erwartete F_0' Wert tiefer liegt als der F_0 Wert unter Normalbedingungen. Dies erlaubt auf die Aktivität der Schutzmechanismen zurückschließen, da der minimale Fluoreszenzwert durch aktiviertes NPQ herabgesetzt werden kann. Die Stärke dieser Herabsetzung lässt einen Rückschluss auf die Stärke des NPQ zu. Bilger und Björkman (1990) leiteten die Berechnung von NPQ her. Die Messung ist jedoch nur aussagekräftig, wenn dem sättigenden Lichtimpuls (SP) eine direkt nachfolgende Bestrahlung der Probe mit langwelligen (rotem) Licht erfolgt, um die Reaktionszentren des PS II schneller zu öffnen, als dass der Protonengradient zusammenbricht und Zeaxanthin umgewandelt wird. In der nachfolgenden Dunkelphase wird die Pflanze keinem weiteren Lichtstress ausgesetzt, sodass es zu einer Erholung des Photosystems kommt. Der Wert für die Fluoreszenz kehrt nach kurzer Zeit (30 bis 90 Sekunden) wieder zum Ausgangswert F_0 zurück. Im Versuch der Exkursion erfolgte hier eine zweimalige Wiederholung der Beleuchtungsphase (inklusive zweiter Dunkelphase).

2.4. Informationen zu den Standorten und der Wetterlage an den Untersuchungstagen

Alle vier Standorte hatten die gleiche Exposition. Die Vegetation an den Standorten war unterschiedlich. Einflüsse durch vegetationsbedingte Variationen im Beschattungsgrad der Exemplare wurden ausgeschlossen. Vorhandene Bäume und Sträucher hatten einen ausreichenden Abstand zu den jeweiligen Untersuchungsstandorten. An den beiden Untersuchungstagen lagen unterschiedliche Witterungsbedingungen vor. Am 24.06. war es sehr sonnig, nahezu wolkenlos und die Tageshöchsttemperaturen waren geschätzt bei etwa 28°C (1600 m, 1800 m). Am 25.06. nachmittags und am 26.06. wurden sehr hohe Bewölkungsgrade, häufige und stundenandauernde Niederschläge sowie geschätzte Tageshöchsttemperaturen von etwa 17°C dokumentiert.

3. Ergebnisse

3.1. Maximale Quantenausbeute von *Alchemilla vulgaris* und *Arabidopsis thaliana* auf verschiedenen Höhenstufen

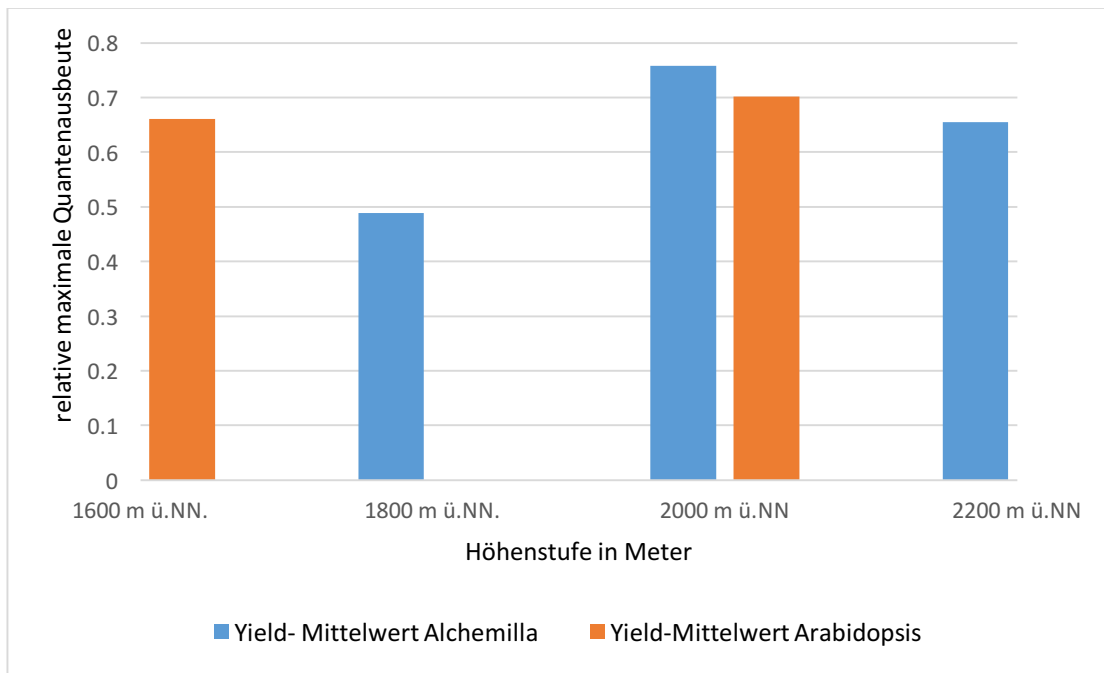


Abbildung 5: Yield-Mittelwerte der maximalen Quantenausbeute des PS II von *Alchemilla* und *Arabidopsis* auf den verschiedenen Höhenstufen.

Eine Pflanze die keinem Lichtstress ausgesetzt ist hat im „Normalzustand“ hat einen Yield-Wert zwischen 0,75 und 0,85. Bei beiden untersuchten Pflanzenarten liegt der Yield-Mittelwert, mit Ausnahme von *Alchemilla* auf 1800 m ü.NN., darunter.

Es lässt sich ein Unterschied zwischen den Yield-Mittelwerten von *Arabidopsis* und *Alchemilla* feststellen. Die Yield-Werte von *Alchemilla* liegen auf allen Höhenstufen über denen von *Arabidopsis*. Für die Höhenstufe von 1600 m ü.NN. liegt beispielsweise der Yield-Wert für *Alchemilla* bei 0,701 und für *Arabidopsis* bei 0,661. Bei 1800 m ü.NN. liegen keine Werte für *Arabidopsis* vor.

Bei Betrachtung der Entwicklung der Yield-Mittelwerte der einzelnen Pflanzenarten bei Anstieg der Höhenmeter, kann kein kontinuierlicher Anstieg bei *Alchemilla* festgestellt werden. Die Maximale Quantenausbeute liegt auf 1600 m ü.NN. bei 0,701, bei 1800 m ü.NN. bei 0,489, bei 2000 m ist sie mit 0,758 am höchsten und liegt dann wieder auf 2200 m ü.NN bei 0,654.

Bei *Arabidopsis* liegt die maximale Quantenausbeute auf 1600 m ü.NN. bei 0,661, auf 1800 m ü.NN. liegen wieder keine Werte vor. Auf 2000 m ü. NN. ist die gemessene maximale Quantenausbeute 0,702 und auf 2200 m ü. NN. bei 0,636.

3.2. Non-photochemical quenching (nicht-photochemische Löschung) von *Alchemilla vulgaris* und *Arabidopsis thaliana* auf verschiedenen Höhenstufen

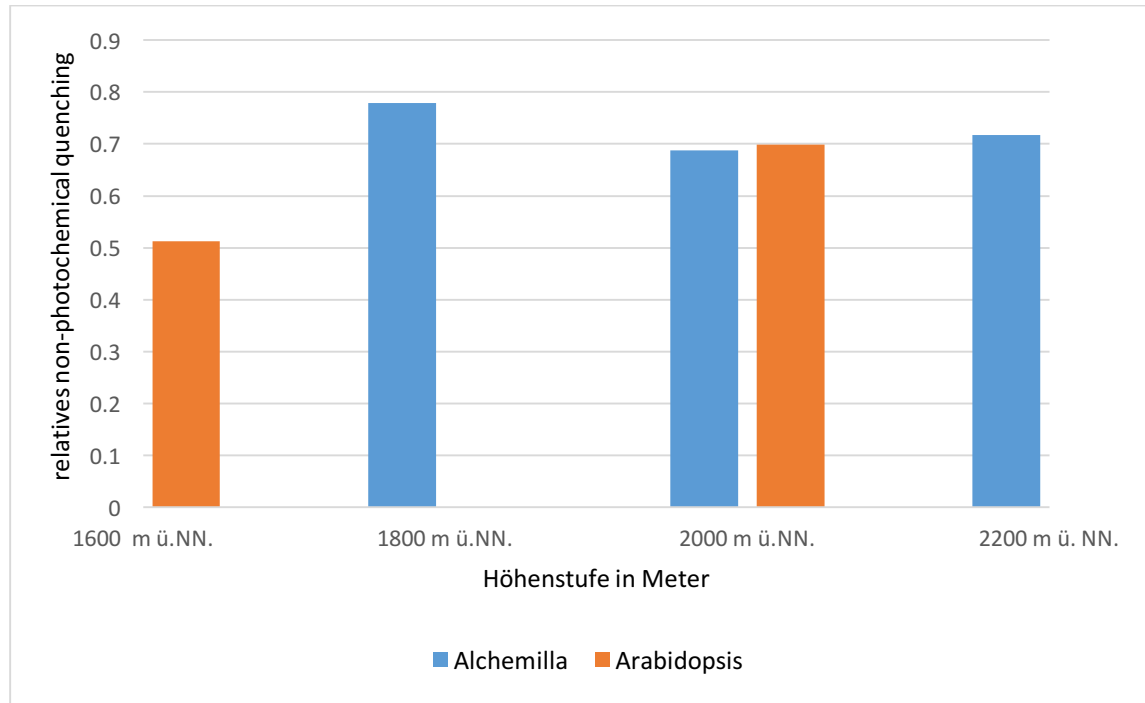


Abbildung 6: Summe aus Y(NO) und Y(NPQ) (kennzeichnen Schutzmechanismen) von *Alchemilla* und *Arabiopsis* auf den verschiedenen Höhenstufen.

Die Schutzmechanismen von *Arabidopsis* steigern sich von 0,513 auf 1600 m ü.NN., auf 0,699 auf 1800 m ü.NN. bis zu 0,733 auf 2200 m ü.NN.. Bei 1800 m ü.NN. ist der Wert nicht vorhanden.

Bei *Alchemilla* wurden von 1600 m ü.NN. bis zu 2200 m ü. NN. folgende Werte gemessen: 0,748, 0,779, 0,688, 0,717. *Arabidopsis* liegt bei 1600 m ü. NN. unter dem Wert von *Alchemilla*, bei 2000 und 2200 m ü.NN. darüber.

4. Diskussion

1. Hypothese: Die maximale Quantenausbeute und die Ausprägung der Schutzmechanismen von *Alchemilla vulgaris* und *Arabidopsis thaliana* unterscheiden sich, unabhängig von der Höhenlage.

Es wurde erwartet, dass *Alchemilla vulgaris*, als alpine Pflanze, eine höhere maximale Quantenausbeute und stärkere Schutzmechanismen im Vergleich zu *Arabidopsis thaliana* aufweist. Da die Aperaturzeit mit zunehmenden Höhenlagen kürzer wird und somit *Alchemillas* Vegetationsperiode sehr limitiert ist, erwarten wir, dass *Alchemilla* durch eine höhere maximale Quantenausbeute das verfügbare Licht effektiver nutzt, im Vergleich zu *Arabidopsis*. Genauso ist *Alchemilla* natürlicherweise einer höheren Ultraviolett-Strahlung ausgesetzt, weswegen wir erwarten, dass die Schutzmechanismen, die die Pflanze vor phototoxischen Stress schützt, bei *Alchemilla* stärker ausgeprägt sind im Vergleich zu *Arabidopsis*. *Arabidopsis* kommt natürlicherweise nicht in alpinen Höhenlagen vor, weswegen sie weniger stark ausgeprägte Schutzmechanismen benötigt. Unsere These, kann dahingehend bestätigt werden, dass sich die maximale Quantenausbeute von *Alchemilla* und *Arabidopsis* in allen Höhenlagen unterscheiden. Sie ist, wie erwartet, bei *Alchemilla* höher, als bei *Arabidopsis*. Allerdings liegen die Yield-Werte nicht mit großem Abstand über denen von *Arabidopsis*. Die geringe Stichprobenzahl könnte dafür gesorgt haben, dass die Artunterschiede relativ gering ausgefallen sind. Schließlich haben einzelne Ausreißer innerhalb kleiner Datensätze meist sehr große Auswirkungen auf Mittelwerte. Gut zu sehen ist diese Auswirkung bei Betrachtung der Yield-Mittelwert bei *Alchemilla* auf 1800 m ü.NN.. Dieser liegt bei 0,489., die Einzelwerte variieren jedoch stark mit 0,733 und 0,245. Somit ist der Mittelwert stark beeinflusst.

Insgesamt gibt es größere Schwankungen der Yield-Einzelwerte unter den Individuen der *Alchemilla*, als unter denen der *Arabidopsis*. Eventuell kann dies auf die Züchtung der *Arabidopsis*-Pflanzen im Labor zurückgeführt werden. Womöglich gehören alle Individuen zum selben Klon. Die *Alchemilla*-Pflanzen sind hingegen im Freiland „unkontrolliert“ gewachsen und es besteht daher die Möglichkeit, dass diese Pflanzen unterschiedlichere genetische Dispositionen aufweisen und dadurch eventuell unterschiedlich auf große Lichtintensitäten reagiert haben.

Bei Betrachtung der Schutzmechanismen ist, entgegen der Erwartung, keine deutlich größere Aktivierung bei *Alchemilla* zu erkennen. Nur auf 1600 m ü.NN. liegen die Werte deutlich über denen von *Arabidopsis*. Hierbei ist jedoch auch zu hinterfragen ob es sich gegebenenfalls um Zufall handelt, oder ein Messfehler vorliegt. Auf 2000 und 2200 m ü.NN. liegen die Werte von *Arabidopsis* sogar leicht über denen von *Alchemilla*. Dies ist jedoch ein sehr geringer Unterschied und es kann daher von annähernd gleich hoher Aktivierung der Schutzmechanismen gesprochen werden. Diese Werte könnten eventuell auf die Größe der Stichprobenzahl zurückgeführt werden. Das Experiment müsste mit einer größeren Stichprobenentnahme noch einmal durchgeführt werden, um mit Sicherheit sagen zu können, ob die These, wonach *Alchemilla*, durch ihren alpinen Lebensraum, eine Anpassung der Schutzmechanismen hat, widerlegt oder bestätigt werden kann.

2. Hypothese: Die maximale Quantenausbeute von *Alchemilla vulgaris* und *Arabidopsis thaliana* ist in beiden Arten abhängig von der Höhenlage.

Es wurde erwartet, dass die maximale Quantenausbeute bei *Alchemilla vulgaris*, als Anpassung an die dort herrschende kürzere Aperaturzeit, mit der Höhe zunimmt. Dieser Anstieg ist jedoch nicht kontinuierlich zu sehen. Dass kein gravierender Unterschied in der maximalen Quantenausbeute von *Alchemilla* und *Arabidopsis* gesehen werden konnte, kann auch darin begründet sein, dass die maximale Quantenausbeute bei Pflanzen eine konservierte Eigenschaft ist, die weitestgehend konstant und unabhängig vom Standort der Pflanzenart ist. Außerdem könnte auch hier wieder die kleine Stichprobenzahl sein, wodurch die hohen Variationen der Einzelwerte den Mittelwert stark beeinflussen. Bei 1800 m ü.NN. liegt der Wert der ersten Pflanze bei 0,733, was über denen der ersten Höhenstufe liegt. Jedoch wurde in der zweiten Pflanze ein Wert von 0,245 gemessen, welcher bei der Mittelwertbildung den Wert für die maximale Quantenausbeute stark beeinflusst hat. Genauso kann dies auch bei 2200 m ü.NN. gesehen werden, auch wenn hier die Differenz, mit 0,776 und 0,533 nicht ganz so groß ist.

Bei *Arabidopsis thaliana* haben wir keine Adaption und daher gleiche maximale Quantenausbeuten auf allen Höhenstufen erwartet. Mit Ausnahme auf 1800 m ü.NN., bei der die Werte fehlen, hat *Arabidopsis* nur leichte Schwankungen der Yield-Werte. Die maximale Quantenausbeute ist, wie erwartet relativ auf allen Höhenstufen gleich. Dies untermauert unsere Überlegungen, nach denen *Arabidopsis*, als nicht alpine Pflanze, keine Adaption der maximalen Quantenausbeute an die Höhe zeigt. Allerdings ist dies auch nicht mit Sicherheit zu sagen, da die Stichprobenmenge relativ gering ist.

3. Hypothese: Die Ausprägung der Schutzmechanismen von *Alchemilla vulgaris* verändert sich, im Vergleich zu *Arabidopsis thaliana*, mit zunehmender Höhe.

Es wurde erwartet, dass die Schutzmechanismen bei *Alchemilla vulgaris*, wegen des höheren Lichtstresses, mit zunehmender Höhe immer stärker ausgeprägt sind. Des Weiteren wurde erwartet, dass die Schutzmechanismen in *Arabidopsis thaliana* auf allen Höhenstufen gleich stark ausgebildet werden, da davon ausgegangen wird, dass bereits der Lichtstress auf der untersten Höhenstufe eine maximale Ausprägung der Schutzmechanismen für *Arabidopsis thaliana* erfordert. Es zeigt sich in den gemessenen Werten jedoch, dass die Schutzmechanismen von *Arabidopsis* ansteigen. Es lässt sich hinterfragen, ob dies ein Zufall ist oder bei der Messung auf 1600 m ü.NN. Fehler aufgetreten sind. Zum Beispiel könnte die Mittelrippe getroffen worden sein und daher ein sehr geringer Wert erzielt worden sein. Aufschluss darüber würde zum einen wieder eine größere Stichprobenzahl geben. Außerdem würde auch der nicht vorhandene Wert von *Arabidopsis* auf 1800 m ü.NN., eine bessere Beurteilung über den eventuellen Anstieg oder das mehr oder weniger gleichbleibende Niveau der Schutzmechanismen erlauben. *Alchemilla* bleibt nach den gemessenen Werten zur Folge auf relativ gleichem Niveau mit leichten Schwankungen.

Auch dies steht im Gegensatz zu unserer These. Die Stichprobengröße ist auch hier wieder eine mögliche Fehlerquelle. Eine mögliche Erklärung für die Ergebnisse könnte außerdem sein, dass die maximalen Schutzmechanismen bereits bei geringster Höhe ausgenutzt sind und damit auch keine Kapazität mehr für stärkere Aktivierung der Schutzmechanismen vorhanden oder notwendig ist.

Allgemein liegen die Yield-Mittelwerte bei beiden Pflanzenarten, nicht gravierend, jedoch durchgehend, mit einer Ausnahme, unter dem was als Normalzustand von Pflanzen angesehen wird. Dies deutet auf eine „Stress“-Situation der Pflanzen hin.

Erklärt werden könnte dies zum einen durch den abrupten Wetterumschwung, von 10 cm Schnee noch eine Woche zuvor, zu 28 Grad und Sonnenschein an den Tagen der ersten Messungen. Dadurch könnten die Pflanzen generell in einem gestressten Zustand gewesen sein und somit die Messergebnisse für den Yield-Wert und die Schutzmechanismen beeinflusst haben. Zudem hätten während der heißen Tage vor allem die *Arabidopsis*-Pflanzen in ihren Töpfchen mehr Wasser gebraucht. Durch die Trockenheit sind manche Pflanzen etwas ausgetrocknet, vor allem die beiden *Arabidopsis*-Pflanzen auf 1800 m ü.NN.. Zudem hätte man die Pflanzen vor weiteren Schäden, wie bei *Arabidopsis* auf 1600 m ü.NN., bei der ein Fraßschaden aufgetreten ist, besser schützen müssen. Diese könnten wiederum Auswirkungen auf die hier erzielten Ergebnisse gehabt haben. Es wurde bei den Standorten zwar darauf geachtet, dass sie möglichst vergleichbar sind, die umgebende Vegetation könnte aber eventuell doch einen Einfluss gehabt haben. So ist nicht auszuschließen, dass die Bäume im Waldstandort oder hohes Gras auf der Wiese Schatten geworfen haben und somit ungleiche Voraussetzungen bei den dort heimischen *Alchemilla*-Pflanzen sowie den ausgesetzten *Arabidopsis*-Pflanzen vorherrschen. Allgemein wäre eine größere Stichprobenentnahme besser gewesen, damit die Einzelwerte weniger ins Gewicht fallen und zuverlässigere Werte erzielt werden. Besonders bei Felduntersuchungen ist auf Grund der schwankenden Umweltbedingungen ein großer Datensatz unerlässlich.

5. Literatur

Abbildung 2: <http://www.fsbio-hannover.de/oftheweek/120/Photosynthese2.jpg>

Bilger W, Björkman O (1990) Role of the xanthophyll cycle in photo-protection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. *Photosynth Res* 25:173-185.

Billings, W. D. "Adaptations and origins of alpine plants." *Arctic and alpine research* (1974): 129-142.

Campbell, N., *Biologie*, 2.korrigierter Nachdruck, Spektrum-Verlag (2000)

Foyer, Christine H., Maud Lelandais, and Karl J. Kunert. "Photooxidative stress in plants." *Physiologia Plantarum* 92.4 (1994): 696-717.

Kagawa, Takatoshi, et al. "Arabidopsis NPL1: a phototropin homolog controlling the chloroplast high-light avoidance response." *Science* 291.5511 (2001): 2138-2141.

Kramer DM, Johnson G., Kierats O, Edwards GE (2004) New flux pa-rameters for the determination of Q_A redox state and excitation fluxes. *Photosynthesis Res* 79: 209-218.

Meinke, D. W., Cherry, J. M., Dean, C., Rounsley, S. D., & Koornneef, M. (1998). *Arabidopsis thaliana*: a model plant for genome analysis. *Science*, 282(5389), 662-682.

Müller, Patricia, Xiao-Ping Li, and Krishna K. Niyogi. "Non-photochemical quenching. A response to excess light energy." *Plant physiology* 125.4 (2001): 1558-1566.

Tranquillini, W. "The physiology of plants at high altitudes." *Annual Review of Plant Physiology* 15.1 (1964): 345-362.

Turner, H., *Arch. Meteorol. Geophys.Bioklimatol., Ser. B.* 8, 273 (1958)

Streb, P., et al. "Divergent strategies of photoprotection in high-mountain plants." *Planta* 207.2 (1998): 313-324.

Walz GmbH (2007) JUNIOR-PAM Chlorophyll Fluorometer Operator's Guide, 1. Auflage, 1-58.