

Kurs 11 – Bewegungsreaktionen

Arbeitsgruppe D6:

Clara Dees
Susanne Duncker
Anja Hartmann
Kristin Hofmann

Protokoll

1. Einleitung:

In diesem Kurs wurden Versuche zum Gravi- und Phototaxis bei *Euglena gracilis* durchgeführt. Ebenso wurde der Gravitropismus bei *Vicia faba* beobachtet, wobei die Krümmungswinkel und die Wachstumszone bestimmt wurden. Anschließend wurde der AVENA-Sektionszylindertest auf Auxin durchgeführt. Als letzten Versuch, der nur als Schauversuch durchgeführt wurde, wurde der Einfluss von Umweltfaktoren auf die Orientierung von *Euglena gracilis* bestimmt. Der Versuch zur Untersuchung des Phototropismus bei *Zea mays* wurde nicht durchgeführt.

2. Material und Methoden:

Zunächst wurde zur Untersuchung des Gravitropismus von *Vicia faba* eine Sprosse mit einem Haar versehen, der Spross im Abstand von 0,5cm markiert und waagrecht in die Muffe am Stativ eingeklemmt und der Nullpunkt auf dem Millimeterpapier am Projektionsbrett eingezeichnet. Anschließend wurde alle 10 min die Sprossstellung auf das Millimeterpapier übertragen, indem am Anfang und am Ende des Haares ein Punkt eingezeichnet wurde. (siehe Skript S.132) Der Versuch 1b zur Bestimmung der Wachstumszone konnte am Donnerstag nicht durchgeführt werden, da am Vortag keine Pflanze angesetzt wurde.

Beim AVENA-Sektionszylindertest wurden am Vortag bei den Keimlingen von *Avena sativa* die Coleoptilen vom Primärblatt getrennt, in etwa 1cm lange Segmente geteilt und in Petrischalen mit Lösungen verschiedener IES-Konzentrationen gelegt. Als Kontrolle wurden einige Coleoptilen in eine 2%ige Saccharose-Lösung gegeben. (siehe Skript S. 135-136) Am Kurstag wurden die Coleoptilen dann vermessen.

Zur Untersuchung der Gravi- und Phototaxis bei *Euglena* wurden mehrere Teilversuche durchgeführt. Zunächst wurde die phobische Reaktion beobachtet, indem eine *Euglena gracilis* Kultur durch ein Mikroskop beobachtet wurde, während die Lichtintensität variiert und verschiedene Farbfilter (Rot-, Blau-, Grünfilter) aufgelegt wurden.

Für die Orientierung im Lichtfeld wurde eine Küvette aus zwei Glasplatten mit einer *Euglena*-Kultur waagrecht auf ein Mikroskop mit einer Kamera gelegt und die Zellen mit unterschiedlicher Lichtintensität (0, 10, 100, 1000 W/m²) bestrahlt. Ausgewertet wurde die Orientierung der Zellen mit Hilfe eines computergesteuerten Bildverarbeitungsprogramms.

Anschließend wurde untersucht wie die Organismen die beiden Reize Schwerkraft und Licht miteinander verrechnen. Dafür wurde die Küvette vertikal ausgerichtet und von oben mit Weißlicht unterschiedlicher Stärke (entgegen dem Skript 3, 30 und 300 W/m²) bestrahlt. Davor wurde noch eine Dunkelkontrolle gemacht, die dazu diente, die Orientierung der Organismen im Schwerfeld zu untersuchen. (siehe Skript S. 137/138)

Beim letzten Versuch, dem Schauversuch, wurden am Vortag je 50ml *Euglena gracilis* Kultur in vier Reagenzgläser gegeben, dabei diente eine Kultur als Kontrolle, war also unbehandelt.

Eine Kultur war mit UV-Licht vorbestrahlt worden, die anderen beiden Kulturen kamen in 10µM bzw. 100µM NiSO₄-Lösung. Bei allen vier Ansätze wurde ein Wattestopfen eingefügt, mit Leitungswasser überschichtet und über Nacht dunkel gestellt. (siehe Skript S. 139) Am Kurstag wurde der Versuch dann ausgewertet.

3. Auswertung:

Versuch 1 (Gravitropismus bei *Vicia faba*):

Durch die Aufzeichnungen der Sprossstellung auf dem Millimeterpapier (Anlage 1) entstanden zwei Bögen. Zur Bestimmung der Krümmungswinkel wurden jeweils die beiden Punkte einer Zeitmessung verbunden und der Winkel zwischen der Nulllinie und der jeweiligen Zeit gemessen. Folgende Winkel wurden gemessen und gegen die Zeit in ein Diagramm auf Millimeterpapier aufgetragen (Anlage 2):

Δt (min)	10	25	35	45	55	65	75	85	95	105	115	130	150
Winkel in Grad	0	6,0	14,0	29,0	42,5	43,5	51,0	56,5	60,0	66,0	68,5	69,5	86,0

Latenzzeit: 10min

Halbwertszeit der Krümmungsbewegung: 58min

Wäre Versuch 1b durchgeführt worden, wäre beobachtet worden, dass sich die Wachstumszone am Sprossscheitel befindet, da hier die Markierungen weiter auseinander stehen würden als zu Beginn des Versuchs.

Versuch 3 (AVENA-Sektionszylindertest):

Durch das Dekaptieren der Coleoptilen und das Entfernen des Primärblatts wurde das Auxin weitestgehend entfernt, wodurch die Coleoptilen auf eine Auxinzufuhr von außen angewiesen sind, um Längenwachstum durchzuführen.

Im Kurs wurden folgende Längen gemessen:

Mittelwert der gemessenen Längen in mm:

	0,0	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻¹	1,0	10
6	10,4	12,2	11,0	14,0	13,2	13,7
7	10,5	11,5	11,3	11,8	10,6	13,5
8	10,0	10,5	11,3	11,4	11,6	11,9
9	10,5	10,9	10,6	11,6	12,0	13,2
10	10,5	11,7	11,3	11,1	12,0	12,2

Prozentualer Zuwachs [%]:

	0,0	10^{-4}	10^{-2}	10^{-1}	1,0	10
6	4,0	22,0	10,0	40,0	32,0	37,0
7	5,0	15,0	13,0	18,0	6,0	35,0
8	0,0	5,0	13,0	14,0	16,0	19,0
9	5,0	9,0	6,0	16,0	20,0	32,0
10	5,0	17,0	13,0	11,0	20,0	22,0
Kursmittel	3,8	13,6	11,0	19,8	18,8	29,0

Die Mittelwerte des prozentualen Zuwachses werden in einem Diagramm gegen die IES-Konzentration aufgetragen (Anlage 3). Dabei wird die IES-Konzentration logarithmiert, was zur Folge hat, dass die Nullkontrolle rausfällt, da der Logarithmus für Null nicht definiert ist. Dies hat jedoch zur Folge, dass die Kurve für minus unendlich gegen den Wert 3,8 läuft, hier befindet sich also eine Asymptote.

Neben dem AVENA-Krümmungstest nach Went, ebenfalls auf Auxin, ist dieser Test recht genau, trotzdem gibt es einige mögliche Fehlerquellen, die die variierenden Ergebnisse der einzelnen Gruppen erklären können. Vor allem fällt auf, dass bei der Nullkontrolle ohne IES auch Längenwachstum auftrat. Dies lässt sich vor allem dadurch erklären, dass bei der Präparation nicht das gesamte Auxin entfernt wurde.

Mögliche Fehlerquellen sind:

- Ungenaueres Ausmessen der Längen
- Dekaptierung erfolgte zu nah an der Spitze, wo sich das meiste Auxin befindet
- IES-Konzentrationen wurden nicht exakt hergestellt
- Coleoptilensegmente nicht genau 1 cm lang

Versuch 4a (Phobische Reaktionen bei *Euglena gracilis*):

Bei normalem Weißlicht bewegen sich die Zellen normal in allen Richtungen, da die Gravitaxis durch waagerechtes Auflegen der Küvette ausgeschaltet war. Wurde nun ein Blaufilter aufgelegt und die Lichtintensität rasch erhöht, fingen die Zellen das Taumeln an, was eine Adaptationsreaktion ist, die nach einiger Zeit aufhört. Bei Auflegen eines Rotfilters bewegen sich die Zellen kaum noch, wobei sich die Meisten einkugeln. Die Zellen bewegen sich wieder normal wie bei Weißlicht, wenn ein Grünfilter aufgelegt wird.

Aus diesen Beobachtungen lässt sich schließen, daß nur Blau- und Rotlicht absorbiert wird, grünlicht dagegen reflektiert. Dies bedeutet, dass bei Auflegen des Grünfilters für die Zellen kein absorbierbares Licht da ist, weshalb sie sich durcheinander bewegen als wäre kein Licht da. Bei Blau- und Rotfiltern ist soviel Licht da, dass sie die phobische Reaktion zeigen, um sich vor der hohen Lichtintensität zu schützen.

Versuch 4b (Orientierung im Lichtfeld):

Bei der Dunkelkontrolle verhielten sich die Zellen wie erwartet, sie bewegten sich in allen Richtungen. Jedoch verhielt sich *Euglena* bei 10W/m^2 anders als erwartet, da sich die meisten Zellen vom Licht wegbewegten. Bei 100 und 1000W/m^2 wurde die erwartete Reaktion beobachtet, d.h. die Zellen bewegten sich alle vom Licht weg. Das zirkuläre Histogramm befindet sich in der Anlage (Anlage 5).

r-Wert und der Winkel Theta sind in der folgenden Tabelle aufgeführt:

Watt/m ²	r-Wert	Muster r-Wert	Theta in Grad	Musterwert θ
0	0,065	0,031	186	315
10	0,211	0,308	209	13
100	0,428	0,368	193	189
1000	0,619	0,526	188	170

Der r-Wert, der zwischen 0 und 1 liegt, sagt aus, wie sich die Zellen im Verband bewegen. Der Wert Null bedeutet, dass sich alle Zellen in verschiedene Richtungen bewegen, der Wert 1 heißt, dass sich alle Zellen in einer Richtung orientieren. Hier stimmen die r-Werte recht gut mit der Norm überein, jedoch bewegen sich die Zellen bei 10W/m² genau in die entgegengesetzte Richtung als im Muster (Anlage 4) ersichtlich. Dies lässt sich auch am Winkel θ erkennen, der bei dieser Lichtintensität stark abweicht. Ansonsten stimmen die Theta-Werte annähernd mit dem Muster überein, bis auf den Wert der Nullkontrolle. Dies sagt aber nicht viel aus, da sich hier die Zellen in alle Richtungen bewegen. Allgemein beschreibt der Winkel Theta den mittleren Winkel, in dem sich die Zellen zur Lichtquelle befinden. Folglich zeigen die Zellen überall eine negative Phototaxis, obwohl sie bei 10W/m² eine positive zeigen sollten.

Versuch 4d (Verrechnung von Gravi- und Phototaxis):

Hier diente die Dunkelkontrolle gleichzeitig als Versuch 4c (Orientierung im Schwerfeld). Folgende Werte wurden gemessen:

Watt/m ²	r-Wert	Muster r-Wert	Theta in Grad	Musterwert θ
0	0,435	0,538	350	4
3	0,126	0,45	213	4
30	0,258	0,145	179	215
300	0,406	0,532	178	193

Hier zeigt sich, dass je stärker die Lichtintensität ist, desto mehr wird die negative Gravitaxis in eine positive und die positive Phototaxis in eine negative umgewandelt wird.

(Histogramm: Anlage 6)

Bei der Dunkelkontrolle zeigte sich wie erwartet eine negative Gravitaxis, wobei der Winkel vom Muster abweicht, heißt aber lediglich, dass die Mehrheit der Zellen auf der anderen Seite des Lichts waren als im Muster.

Bei 3W/m² zeigt sich allerdings eine starke Abweichung. So ist eine stärkere Streuung der Zellen (Abweichung vom r-Wert) und bei der Mehrheit der Zellen bereits eine negative Phototaxis zu beobachten. Dies bedeutet, dass für die meisten Zellen die Lichtintensität bereits zu hoch ist (trifft vor allem auf diejenigen Zellen zu, die sich am höchsten in der Küvette befanden), und sie die ursprünglich negative Gravitaxis in eine positive umwandeln, um die ideale Position zu erreichen. Dieser Effekt verstärkt sich bei den höheren Lichtintensitäten 30 und 300W/m². Aber auch hier ist eine stärkere Streuung als im Muster zu beobachten. Der höhere r-Wert bei 30W/m² zeigt jedoch, dass in diesem Versuch mehr Zellen bereits das Licht meiden als im Muster. Bei 300W/m² findet sich eine weitgehende Übereinstimmung mit der Norm.

Im natürlichen Habitat hat dieses Verhalten eine wichtige Bedeutung für die Organismen. Bei Dunkelheit orientieren sich die Zellen über die negative Gravitaxis in die mittlere Zone des Gewässers (Sees). Bei aufgehender Sonne bewegen sie sich nach in Richtung Oberfläche, bei steigender Lichtintensität gegen Mittag sinken sie aber wieder ab, um eine Schädigung durch zu viel Licht zu vermeiden und die Idealposition für die Photosynthese zu finden. Dies ist der Punkt, an dem sich negative und positive Phototaxis gegenseitig aufheben. Ebenso heben sich negative Gravitaxis und positive Phototaxis genau auf.

Im Allgemeinen gesehen sind diese Reaktionen der Organismen sehr wichtig im natürlichen Habitat. Sie brauchen eine positive Phototaxis, um genügend Licht für die Photosynthese zu bekommen, zu viel Licht kann sie aber schädigen, weshalb dann eine negative Phototaxis notwendig ist. Ebenso verhält es sich mit der negativen Gravitaxis, die bei Bedarf in eine positive umgewandelt wird. Auch die phobischen Reaktionen dienen zum Schutz vor zu hoher Lichtintensität und zur Adaption an die jeweiligen Lichtverhältnisse.

Versuch 5 (Einfluss von Umweltfaktoren auf die Orientierung bei *Euglena gracilis*):

Bei allen vier Ansätzen wanderten Zellen durch den Wattestopfen in den oberen Teil des Reagenzglases. Dies war jedoch von Ansatz zu Ansatz verschieden:

Im Kontrollversuch wanderten fast alle Zellen in den oberen Bereich, im unteren befanden sich kaum noch Organismen. Im Versuch mit $10\mu\text{M}$ NiSO_4 wanderten etwas mehr Zellen nach oben als unten blieben, die Verteilung war aber fast ausgeglichen. Bei $100\mu\text{M}$ NiSO_4 war die Verteilung ausgeglichen, es sanken aber einige Zellen an den Boden ab. Auch im Versuch mit der UVB-Bestrahlung waren die Zellen gleichmäßig verteilt, am Boden des Glases sammelten sich aber viele Zellen an.

Diese Beobachtung lässt sich recht einfach erklären: UVB und NiSO_4 schädigen die Zellen und verhindern so deren natürliche Orientierung.

Eigentlich sollten die Zellen aufgrund ihrer negativen Gravitaxis in den oberen Teil des Reagenzglases wandern, was der Kontrollversuch zeigt. Die wenigen Zellen, die unten geblieben sind, sind vermutlich Mutanten, bei denen die Orientierung bereits beeinträchtigt ist.

Je höher die Konzentration an NiSO_4 ist, desto stärker werden die Zellen geschädigt. Bei $10\mu\text{M}$ gelingt es noch der Mehrheit der Organismen dem Schwermetall zu entweichen, aber viele Zellen sind bereits durch Nickel geschädigt, weshalb sie unten bleiben. Bei $100\mu\text{M}$ ist dieser Effekt noch stärker, wobei einige Zellen bereits so stark geschädigt sind, dass sie zum Boden absinken.

Ebenso werden die Zellen durch UVB-Strahlung geschädigt, da die Strahlung Mutationen auslöst. Hier ist die Schädigung so stark, dass sich viele der Organismen am Boden sammeln und nur wenige in den oberen Teil gelangen.