

Praktikum Biologie für Biochemiker

Institut für Pflanzenphysiologie, FU Berlin

Für die theoretischen Grundlagen der Versuche ist ein ausführliches Lehrbuch notwendig.

Für die Teilnahme am Praktikum ist es notwendig, das Skript für den jeweiligen Kurstag vor Kursbeginn zu lesen. Die Versuche des jeweiligen Kurstages müssen zu Beginn des Praktikums kurz vorgestellt werden können.

Scheinvergabe

Erfolgreiche Teilnahme am Kurs wird bescheinigt, wenn:

1. Die Experimente erfolgreich abgeschlossen wurden.
2. Die Protokolle rechtzeitig abgegeben wurden und in Ordnung sind (s.u.).
3. Die Referate erfolgreich gehalten wurden.
4. Die Abschlussprüfung bestanden wurde. Zum Gesamtergebnis der Abschlussprüfung trägt die Bewertung der Referate (ca. 5 %) sowie das Ergebnis von 3 Zwischenklausuren (je ca. 5%) bei. Nach Abschluss des Kurses wird eine Abschlussklausur (ca. 80%) geschrieben.

Termine

Die Termine für die Zwischenklausuren werden im Kurs bekannt gegeben. Üblicherweise werden sie am Montag der zweiten Kurswoche und Donnerstags (1. + 2. Kurswoche) geschrieben. Die Zwischenklausuren beziehen sich auf Vorlesungs-, Seminar- und Praktikumsinhalte seit der letzten Zwischenklausur, bzw. seit Kursbeginn. Außerdem kann das Praktikumsskript des aktuellen Kurstages abgefragt werden. Das Ergebnis der Zwischenklausuren trägt zum Gesamtergebnis der Abschlussprüfung bei.

Protokolltermine

Protokolle werden spätestens zum im Kurs genannten Tag des Praktikums abgegeben. Bei groben Mängeln gilt der Kurs als nicht bestanden. Verbesserte Fassungen von leicht mangelhaften Protokollen können bis spätestens 5 Tage nach Rückgabe abgegeben werden. Bei ungenügender Verbesserung gilt der Kurs als nicht bestanden.

Klausurtermine

Die Termine für Klausur, die Klausurergebnisse und die Termine für die Klausur-Einsicht werden durch Aushang, nicht jedoch telefonisch bekannt gegeben. Sollte eine Teilnahme an der Klausur aus gesundheitlichen Gründen nicht möglich sein, so muß unverzüglich ein Attest eingereicht werden. Bei Nichtbestehen der Klausur, kann die nächste stattfindende (nicht irgendeine) Klausur mitgeschrieben werden. Nach dreimaligem Nichtbestehen gilt die Veranstaltung als endgültig nicht bestanden.

Liste der benötigten Gegenstände

Zur Durchführung des Praktikums bringen Sie bitte folgendes mit:

- Laborkittel
- Schutzbrille
- 2 spitze Pinzetten
- scharfe Rasierklingen
- weißes Zeichenpapier
- Schere
- Klebstoff
- Klemmbrett
- Lehrbücher (für die erste Woche Botanik-Lehrbücher)

Allgemeine Sicherheitshinweise

- Im Labor darf nicht gegessen, getrunken oder geraucht werden!
- Tragen Sie immer einen Laborkittel und eine Schutzbrille.
- Pipettieren Sie nie mit dem Mund. verwenden Sie stattdessen Pipettierhilfen.
- Wenn Ihnen nicht völlig klar ist, wie ein Gerät (z.B. Waage, Photometer, Zentrifuge) funktioniert, fragen Sie bitte vor Benutzung eine Tutorin oder einen Tutor.

Für Notfälle:

Verbandkasten	Im Kursraum R 012
Feuerlöscher	Im Flur gegenüber der Eingangstür R 012 In den Kursräumen neben der Tür (R 011, R 012)
Löschdecke	Neben der Tür Kursraum R 011
Notdusche	Über der Eingangstür Kursraum R 011
Augendusche	In den Kursräumen R011, R 012 neben der Tür

Telefon

1. Studentisches Büro
2. Raum 011

Notrufnummer

55112 (Hauptleitwarte der FU) oder
112 (Feuerwehr direkt) Beim Wählen des Notrufs
112 ist es nicht notwendig eine 0 vorzuwählen.

Erläuterung zu den Sicherheitsmaßnahmen:

Auf Antrag der studentischen Vertreter hat der Fachbereichsrat schriftlich darauf hingewiesen, daß die Sicherheitsbestimmungen für Laboratorien auch in Praktika anzuwenden sind und daß der Lehrveranstalter für die Einhaltung verantwortlich ist. Paragraph 9.1 der Richtlinien für Laboratorien (GUV 16.17), Eigenunfallversicherung Berlin lautet: Grundsätzlich müssen im Laboratorium alle Personen ständig eine Gestellbrille mit ausreichendem Seitenschutz tragen...

1. PRAKTIKUMSTAG

Wasserpotential, Plasmolyse und Plasmaströmung

Eine Einführung in das mikroskopieren und wissenschaftliche Zeichnen

Einführung Wasserpotential

Die verschiedenen Formen des pflanzlichen Wasserhaushalts lassen sich als Folge von Unterschieden im Wasserpotential erklären. Das Wasserpotential Ψ (Psi) ist eine Größe mit der Dimension eines Druckes (Energie/Volumen bzw. Kraft/Fläche), die in bar oder Pascal (1 bar = 10^5 Pascal) angegeben wird. Das Gesamtwasserpotential eines komplexen Systems, etwa das einer Zelle, wird durch drei Teilkomponenten bestimmt.

1. osmotisches Potential Ψ_C
2. matrikales Potential Ψ_M
3. Druck- oder Turgorpotential Ψ_P

Je nach der spezifischen Situation tragen die Teilpotentiale in unterschiedlichem Maße zum Gesamtpotential bei.

Reines Wasser hat unter Standardbedingungen definitionsgemäß ein Wasserpotential von $\Psi = 0$. Werden zu reinem Wasser andere Teilchen gegeben, sinkt sein osmotisches Teilpotential Ψ_C und damit auch das Gesamtpotential Ψ , d. h. das Gesamtpotential wird negativ. Je konzentrierter eine wässrige Lösung an gelöster Substanz ist, um so negativer = niedriger ist ihr Wasserpotential. Zusätzlich wird das Wasserpotential durch Hydratationskräfte herabgesetzt, die sich im kapillaren Bindungsvermögen des Wassers an Zell- oder Bodenstrukturen äußern und als matrikales Potential Ψ_M berücksichtigt werden müssen. Wird der Druck, unter dem Wasser oder eine wässrige Lösung steht, erhöht, steigt das Druck- oder Turgorpotential. Während Ψ_C und Ψ_M das Gesamtwasserpotential erniedrigen und daher mit negativem Vorzeichen zu versehen sind, hat das Druck- oder Turgorpotential einen positiven, d. h. erhöhenden Einfluss. Die Einzelpotentiale werden in der universellen Wasserpotentialgleichung zusammengefasst:

$$\Psi_{\text{gesamt}} = (-) \Psi_C + (-) \Psi_M + (+) \Psi_P$$

Für Bewegungen von Wasser in Organismen ist die Wasserpotentialdifferenz die treibende und richtungsbestimmende Kraft. Wasser strömt nur entlang eines abfallenden Ψ -Gradienten, d. h. von Orten mit höherem zu Orten mit niedrigerem (negativerem) Ψ .

Das Sprosssystem der Landpflanzen ragt in den Luftraum, an den es durch Verdunstung ständig Wasser verliert, das aus dem Boden nachgeschafft werden muss. Wasseraufnahme, Wasserleitung und Transpiration sind untrennbar miteinander gekoppelte Grundvorgänge des Wasserhaushaltes. Triebkraft dieses Wassertransportes vom Boden durch die Pflanze bis zur Atmosphäre ist die Wasserpotentialdifferenz zwischen Boden und Pflanze einerseits und Atmosphäre und Pflanze andererseits.

Versuch 1: Epidermis der Küchenzwiebel (*Allium cepa*) Plasmolyse/Deplasmolyse

Einführung:

Das **Protoplasma**, welches das Substrat der Lebensvorgänge der pflanzlichen Zelle enthält, ist von einer Zellwand umgeben. Die Hauptmasse des Protoplasmas macht das **Cytoplasma** aus. Bei fortschreitender Differenzierung der Zelle bildet sich eine **Vakuole** (Zentralvakuole), die den größten Teil des Zellinnenraumes einnimmt und das Cytoplasma auf einen dünnen **Wandbelag** beschränkt. Überträgt man eine Pflanzenzelle in eine hypertotonische Lösung, d. h. eine Lösung, die ein niedrigeres Wasserpotential hat als der Zellsaft, so tritt Wasser aus der Vakuole nach außen, bis das Wasserpotential des Zellinhaltes gleich dem der Außenlösung ist. Das nennt man **Plasmolyse**. Die mit dem Wasseraustritt verbundene Volumenabnahme der Vakuole führt dazu, dass sich der Plasmawandbelag von der Zellwand ablöst. Bei geringer Wandhaftung des Plasmas erfolgt die Ablösung rundlich (**Konvexplasmolyse**), bei starker Wandhaftung bilden sich bizarre Formen, in denen das Plasma zu dünnen Fäden (Hechtsche Fäden) ausgezogen ist (**Konkavplasmolyse**). Die Plasmolyse ist reversibel. Überführt man eine plasmolysierte Zelle z. B. in reines Wasser, so strömt entsprechend der Wasserpotentialdifferenz Wasser in die Vakuole ein. Durch die Dehnung der Vakuole legt sich das Plasmalemma wieder an die Zellwand an. Die Zellwand wird gedehnt, bis die Zelle vollturgezent vorliegt. Diesen Vorgang bezeichnet man als **Deplasmolyse**.

Material:

- rote Küchenzwiebel (*Allium cepa*)
- Rasierklinge
- Pinzette
- Objektträger, Deckglas
- Aqua dest.
- Neutralrot
- 1 M KNO₃
- Pasteur-Pipetten
- Saugpapier

Durchführung:

1. Zwiebel der Länge nach vierteln, den Zwiebelkuchen und die Spitze abschneiden.
2. Die einzelnen Schalen voneinander lösen.
3. Die matt aussehende Epidermis der konvexen (äußeren, rot gefärbten) Unterseite durch quer und längs geführte Schnitte in Rechtecke aufteilen.
4. Mit der Pinzette eines dieser Rechtecke vorsichtig an einer Ecke fassen, abziehen und auf einen Objektträger mit einem Tropfen Aqua dest. übertragen (Oberseite nach oben!).
5. Den Zellverband mit mind. einer gut erkennbaren Einzelzelle zeichnen (achten auf: Zellkern, Plasmawandbelag, Plasmastränge, Plasmaströmung, Cuticularfalten der Epidermis).
6. 1-2 Tropfen 1M KNO₃ Lösung unter dem Deckglas durchziehen. Vollplasmolyse zeichnen. Deplasmolyse: 1-2 Tropfen Aqua dest. unter dem Deckglas durchziehen. Beobachtung?

7. Alternativ kann ein Stück Epidermis der konkaven (inneren, weißen) Seite mikroskopiert werden. Da die Vakuole und das Cytoplasma kontrastarm sind, wird die Vakuole mit Neutralrot angefärbt. Das Präparat wird in einen Tropfen Neutralrot gegeben und ein Deckglas aufgelegt. Nach ca. 1 min wird überschüssige Färbelösung durch Durchziehen von A. dest. entfernt.

Versuch 2A: Bestimmung der osmotischen Konzentration des Zellinhalts mittels Grenzplasmolyse (Epidermis der Küchenzwiebel (*Allium cepa*))

Einführung:

Inkubieren wir eine ausgewachsene, vacuolisierte Zelle in einer Reihe von unterschiedlich konzentrierten Saccharose-Lösungen, so können wir drei Fälle unterscheiden:

1. hypotonische Lösung

Wird die Zelle in reinem Wasser (Konzentration C von reinem $H_2O = 0 \text{ mol/l}$) inkubiert, so weist der Zellsaft (das entspricht im wesentlichen dem Vakuoleninhalt) eine höhere Konzentration an Osmotica auf, als die Außenlösung. Der Protoplast nimmt aufgrund seines niedrigeren Wasserpotentials Wasser auf. Der Ausdehnung des Protoplasten ist durch die umgebende Zellwand eine Grenze gesetzt. Es wird solange Wasser in den Protoplasten aufgenommen, bis die Zelle voll turgeszent ist, d. h. bis dem Turgordruck (P_{Turgor}) des Protoplasten eine gleichgroße entgegengerichtete Wandspannung (P_{Wand}) der Zellwand entgegensteht.

2. isotonische Lösung

In Anwesenheit einer isotonischen (isoosmotischen) Lösung ist die osmotische Konzentration des Protoplasten ca. gleich der Konzentration der Außenlösung. Der Turgordruck (P_{Turgor}) des Protoplasten und die Wandspannung (P_{Wand}) der Zellwand sinken auf den Wert Null ab, d. h. die Dehnung der Zellwand durch den Turgordruck ist eliminiert (entspannte Zelle). Es ist eine schwache, gerade noch sichtbare Abhebung des Protoplasten von der Zellwand zu beobachten.

3. hypertotonische Lösung

Bei Inkubation der Zelle in einer hypertotonischen Lösung ist das Wasserpotential der Außenlösung niedriger als das Wasserpotential des Protoplasten. Der Protoplast gibt Wasser an das Außenmedium ab und schrumpft – es kommt zur Plasmolyse.

Durch Bestimmung von der Konzentration des Außenmediums, bei der sich der Protoplast gerade von der Zellwand abhebt, kann somit die osmotische Konzentration des Protoplasten ermittelt werden. Z. B. kann durch Beobachtung unter dem Mikroskop festgestellt werden, bei welcher Konzentration des Außenmediums eine Grenzplasmolyse zu beobachten ist. Ein genaueres Ergebnis erhält man, wenn eine größere Zahl von Zellen betrachtet wird (mehr als 50 Zellen je Saccharosekonzentration). Man bestimmt den Prozentsatz plasmolysierter Zellen und trägt ihn gegen die Saccharosekonzentration auf. Als Wert für die Grenzplasmolyse wird diejenige Konzentration angegeben, bei der genau 50 % der Zellen eine beginnende Plasmolyse zeigen.

Material:

- unterschiedliche Konzentrationen von Saccharose (A. dest., 0,20 M, 0,30 M, 0,40 M, 0,50 M, 1 M) abgefüllt in Eppendorf Gefäße – Saccharose hat ein Molekulargewicht von 342,3
- - rote Küchenzwiebel (*Allium cepa*); Präparate der Epidermis (! Durch Anthocyane gefärbte Zellen verwenden)

Durchführung:

Die Präparate der Zwiebelepidermis werden sofort in die unterschiedlich konzentrierten Saccharoselösungen gebracht und 15 –30 min darin inkubiert. Anschließend werden sie in einen Tropfen gleich konzentrierter Saccharoselösung auf einen Objektträger überführt und ein Deckglas wird aufgelegt. Unter dem Mikroskop werden **zügig** (warum?) mindestens 50 Zellen betrachtet und der Prozentsatz plasmolysierter Zellen bestimmt.

Die osmotischen Werte von Saccharose-Lösungen sind unter 2 B angegeben.

Auswertung:

- stellen Sie die Rohdaten in einer Tabelle dar
- Tragen Sie den Prozentsatz plasmolysierter Zellen über der Saccharosekonzentration auf und bestimmen Sie die ungefähre osmotische Konzentration des Kartoffelzellsaftes

Versuch 2B: Bestimmung des Wasserpotentials von Kartoffelknollen (*Solanum tuberosum*)

Im Gegensatz zu Versuch 2A, in dem die osmotischen Konzentration mittels Grenzplasmolyse bestimmt wurde, wollen wir in diesem Versuch das Wasserpotential bestimmen (Unterschied?). Dazu werden Kartoffelstücke in unterschiedlich konzentrierten Saccharoselösungen inkubiert. Ist das Wasserpotential des Kartoffelgewebes niedriger als das der Lösung, so nimmt das Gewebe Wasser auf und wird schwerer. Ist das Wasserpotential des Kartoffelgewebes höher als das der Lösung, so gibt das Gewebe Wasser ab und wird leichter. Ist das Wasserpotential des Kartoffelgewebes genau gleich dem Wasserpotential der Lösung, so gibt das Gewebe weder Wasser ab noch nimmt es Wasser auf – das Gewicht der Kartoffelstücke bleibt gleich.

Material:

- unterschiedliche Konzentrationen von Saccharose (A. dest., 0,15 M, 0,20 M, 0,25 M, 0,30 M, 0,35 M, 0,40 M, 1M, 2M (2M probenhalber für Erbsen) – Saccharose hat ein Molekulargewicht von 342,3
- Rohe und gekochte Kartoffelknollen
- Getrocknete Erbsen

Durchführung:

Aus **einer** rohen Kartoffel wird für jede Saccharoselösung ein Pommes frites ähnliches Explantat geschnitten. Die Explantate werden mit Küchenrolle abgetupft und gewogen. Anschließend werden die Explantate über Nacht in den Saccharoselösungen inkubiert. Nach ca. 24 h werden die Explantate aus den Lösungen genommen, mit Küchenrolle abgetupft und erneut gewogen (bitte die gleiche Waage verwenden).

Als Vergleich werden Stücke einer gekochten Kartoffel und trockene Erbsen zusammen mit den Explantaten der rohen Kartoffel in den Saccharoselösungen inkubiert. Die gegarten Kartoffelstücke und die Erbsen werden ebenfalls vor und nach der Inkubation gewogen.

Die osmotische Konzentration der Saccharoselösungen wird mit dem Osmometer gemessen.

Auswertung:

- stellen Sie die Rohdaten in einer Tabelle dar
- Tragen Sie die prozentuale Gewichtsänderung über der Saccharosekonzentration auf und bestimmen Sie das Wasserpotential der Kartoffelknollen
- können Sie das Wasserpotential der trockenen Erbsen bestimmen?
- Vergleichen Sie rohe und gekochte Kartoffelstücke – Erklärung?

Die osmotischen Werte der im Kurs verwendeten Saccharose-Lösungen betragen für A. dest.:
0,0 bar; 0,15 M: 4,0 bar; 0,20 M: 5,4 bar; 0,25 M 6,8 bar; 0,30 M: 8,2 bar; 0,35 M: 9,7 bar;
0,40 M: 11,3 bar; 1M: 35,0 bar; 2M: 116,7 bar.

Versuch 3: Früchte

Einführung:

Gymnospermen (d. h. nacktsamige Pflanzen) bilden Samenanlagen aus, die nach außen hin frei liegen, d. h. nackt sind. Nach der Befruchtung entwickeln sich aus den Samenanlagen nach außen hin frei liegende (nackte) Samen. Der Same besteht aus der Samenschale (Die Samenschale wird von den Integumenten gebildet.), einem Nährgewebe (Endosperm) und dem Embryo.

Bei den Angiospermen (Bedecktsamern) besteht der Same ebenfalls aus der aus den Integumenten hervorgegangenen Samenschale, die den Embryo und das Speichergewebe umhüllt. Die Samenanlage – und somit auch der Same – sind jedoch von den Fruchtblättern (Karpellen) umschlossen. Der Pollen gelang nicht direkt zu der Samenanlage, sondern zunächst auf die Narbe des Griffels. Dort keimt der Pollen und ein Pollenschlauch wächst durch das Narben- und Griffelgewebe bis zur Samenanlage, wo die Befruchtung stattfindet. In manchen Fällen wird kein Nährgewebe ausgebildet, sondern die Speicherfunktion wird von den Kotyledonen (Speicherkotyledonen, z. B. bei Erdnuß, Avocado) oder vom Hypokotyl (Paranuß) übernommen.

Eine verbreitungsphysiologische funktionelle Einheit nennt man **Diaspore**. Bei den Gymnospermen dienen die Samen als Diasporen. Bei den Angiospermen ist dies nur der Fall, wenn sich die den Samen umschließenden Fruchtblätter (Karpelle) öffnen. Dies geschieht bei den Öffnungsfrüchten. Bei den Schließfrüchten dagegen sind die Früchte selber - oder bei Spalt- und Bruchfrüchten Teile davon - die Diasporen. In einigen Fällen werden auch ganze Fruchtstände (z. B. Feigen, Maulbeere, Ananas) zur Diaspore. Bei Pflanzen, die beim Vertrocknen versteifen, sich abrunden und vom Wind verschleppt werden („Steppenroller“), werden sogar ganze Pflanzen zu Diasporen.

Die **Frucht** wird als **Blüte im Zustand der Samenreife** definiert, da außer dem Fruchtknoten auch andere Organe wie Kelchblätter, Blütenblätter, Staubblätter und Griffel noch vorhanden sein können. Aus einer Blüte können eine oder mehrere Früchte hervorgehen. In der Regel beruht die Ausgestaltung der Früchte auf der unterschiedlichen Entwicklung der die Samen umschließenden Fruchtblätter. Sie bilden die Fruchtwand (Perikarp). Das Perikarp gliedert sich in 3 Schichten:

1. Exokarp: äußere Gewebsschicht
2. Mesokarp: mittlere Gewebsschicht
3. Endokarp: innere Gewebsschicht

Je nach Ausbildung des Perikarps unterscheidet man:

- Nussfrüchte: gesamtes Perikarp sklerenchymatisch (trocken)
- Beeren: häutiges Exokarp und saftiges (fleischiges) Meso- und Endokarp
- Steinfrüchte: häutiges Exokarp und saftiges (fleischiges) Mesokarp und sklerenchymatisches Endokarp

Oft sind auch andere Blütenteile an der Fruchtbildung beteiligt: z. B. die Blütenachse bei der Erdbeere und dem Apfel, die Blütenblätter bei der Maulbeere und der Blütenstiel bei der Kaschu-Nuß (=Cashew Nuß).

Hier eine kurze Übersicht über die Fruchttypen:

1. Einzelfrüchte

Einzelfrüchte gehen aus einzelnen oder mehreren coenokarp verwachsenen Fruchtblättern **einer** Blüte hervor.

a) Öffnungs- oder Springfrüchte

Öffnungs- oder Springfrüchte geben die Samen bei der Reife frei.

- Balg: 1 Fruchtblatt, öffnet an Bauchnaht
- Hülse: 1 Fruchtblatt; öffnet an Bauch- und Rückennaht
- Kapsel: mehrere Karpelle, öffnet entlang der Verwachsungsnähte oder entlang der Mittelrippen der Karpelle, bei Porenkapseln werden Samen durch Löcher freigesetzt, bei Deckelkapseln löst sich der obere Teil aller Fruchtblätter als Ganzes ab.
- Schote: Spaltkapsel, 2 Fruchtblätter mit falscher Scheidewand

b) Schließfrüchte

Bei den Schließfrüchten bleibt der Same bei der Verbreitung von der Fruchtwand eingeschlossen.

- Beere
- Steinfrüchte
- Nussfrüchte
- Spaltfrüchte und Bruchfrüchte: gehen durch Spaltung oder Zerbrechen mehrsamiger Einzel-
früchte hervor. Fruchtblatteile umhüllen die einzelnen
Samen
- Karyopsen: Früchte der Gräser, Samenschale und verholzende Fruchtwand sind untrennbar
miteinander verwachsen
- Achänen: Früchte der Korbblütler (*Compositae*) und Doldenblütler (*Umbelliferae*), die
Samenschale und die verholzende Fruchtwand sind wie bei den Karyopsen
untrennbar miteinander verwachsen.

2. Sammelfrüchte

Wie die Einzelfrüchte gehen auch Sammelfrüchte aus einer einzelnen Blüte hervor. Diese besitzt mehrere bis viele einzelne Fruchtblätter, die je ein Einzelfrüchtchen bilden. Diese lösen sich jedoch bei der Reife nicht einzeln ab, sondern werden so zusammengehalten, dass die als Einheit abfallen und wie Einzelfrüchte erscheinen. Die Einzelfrüchte werden dabei meist von der Blütenachse zusammengehalten.

- Sammelbalgfrüchte: mehrere Bälge einer Blüte sind fest mit der Blütenachse verwachsen.
Eine Sonderform ist die sogenannte Apfelfrucht (z. B. Apfel, Birne,
Quitte). Die pergamentartigen Bälge sind vom fleischigen Blütenboden
fest umwachsen und können sich daher nicht mehr öffnen.
- Sammelsteinfrucht: Himbeere, Brombeere
- Sammelnussfrucht: Erdbeere, Hagebutte

3. Fruchtstände bzw. Fruchtverbände

Im Gegensatz zu Sammelfrüchten gehen Fruchtverbände nicht aus Einzelblüten, sondern aus Blütenständen hervor. Die Früchte der Einzelblüten werden durch die Blütenstandsachse zusammengehalten, so dass sie sich im Verband als eine Einheit lösen und verbreiten.

- Beerenverband: Ananas
- Steinfruchtverband: Feige (Blütenstandsachse bildet birnenförmigen Krug, auf der
Innenwand befinden sich zahlreiche kleine Steinfrüchte)
- Nussverbände: Maulbeere, Nussfrüchte mit fleischiger Blütenhülle

Einige Begriffe:

chorikarpes Gynoeceum: einzelne Fruchtblätter legen sich um die Samenanlage herum und
verwachsen an den Rändern

coenokarpes Gynoeceum: mehrere Fruchtblätter verwachsen untereinander

Gynoeceum: Fruchtknoten

Integument: Den Nucellus umgebende Hülle der Samenanlage

Karpelle: Fruchtblätter (entspricht den weiblichen Sporophylle = Megasporophyllen bei
ursprünglichere Pflanzen)

Nucellus: Dem Makrosporangium der heterosporen Farnpflanzen homologer Gewebekern der
Samenanlagen höherer Pflanzen

Testa: Samenschale

Durchführung:

1. Im Praktikum soll eine Auswahl an Früchten untersucht werden. Es sind Ansichten und/oder Quer- bzw. Längsschnitte zu zeichnen, die den Aufbau der jeweiligen Früchte erkennen lassen. Die Zeichnungen sind zu beschriften.

2. Der Aufbau einer Karyopse soll gezeichnet und beschriftet werden. Dazu stehen Fertigpräparate zur Verfügung.

! Es empfiehlt sich ein Botanikbuch mitzubringen. Für Früchte sind u. a. Jacob, Jäger, Ohmann „Botanik“ und Franke „Nutzpflanzenkunde“ gut geeignet.

2. PRAKTIKUMSTAG

Anatomie der Pflanze: Blatt- und Wurzelanatomie, Vegetationskegel

1: Querschnitt durch ein bifaciales Laubblatt: *Helleborus niger* (Christrose) (*Dicotyledonae*)

Einführung:

Ein **bifaciales** Blatt besitzt eine Ober- und eine Unterseite. Sind beide Seiten verschieden, nennt man die Blätter **dorsiventral**, sind sie gleich gestaltet, äquifacial. Beide Seiten sind von einer einschichtigen **Epidermis** bedeckt, deren Zellen meist keine Chloroplasten enthalten. Zwischen den beiden Epidermen liegt das **Mesophyll**, das im typischen Falle in **Palisaden-** und **Schwammparenchym** unterteilt ist.

Dorsiventrale Blätter sind in der Regel **hypostomatisch**, d.h. die den Gasaustausch regulierenden Spaltöffnungen (Stomata) liegen nur in der Epidermis der Unterseite.

Material:

- Blatt von *Helleborus niger*
- Rasierklinge
- Objektträger, Deckglas
- Wasser
- Pinzette

Durchführung:

1. Dünne Querschnitte aus einem ca. 0,5 cm breitem Blattstreifen anfertigen.
2. In einen Tropfen Wasser auf den Objektträger übertragen.
3. Querschnitt zeichnen.

2: Querschnitt durch ein bifaciales Laubblatt: *Nerium oleander* (Oleander) (*Dicotyledonae*) als Beispiel für die Anatomie xeromorpher Blätter

Einführung:

Pflanzen, die an trockene Standorte angepasst sind, werden Xerophyten genannt (griechisch xeros = trocken; phyton = Pflanze). In Anpassung an den Lebensraum weicht die Anatomie der xeromorphen Blätter von *Nerium oleander* in einigen Punkten von der Blattanatomie von *Helleborus niger* ab. Bei *Nerium oleander* wird die Wasserabgabe durch eine stark verdickte Cuticula und eine mehrschichtige Epidermis eingeschränkt. Die Spaltöffnungen sind eingesenkt und Luftkonvektionen in den Vertiefungen (Krypten) werden durch Haare verhindert. Pflanzen an trockenen Standorten sind häufig auch starker Sonneneinstrahlung ausgesetzt. Dies erklärt das chloroplastenreiche Schwammparenchym und das Vorkommen eines mehrschichtigen Palisadenparenchyms beim Oleander. Mit der Anpassung von Pflanzen an Extremstandorte werden wir uns am 5. Kurstag in Seminar und Praktikum noch ausführlicher beschäftigen.

Material: Blattquerschnitte von *Nerium oleander* als Fertigpräparate

Durchführung: Querschnitt zeichnen und beschriften.

3. Flächenschnitt durch die Blattunterseite eines bifacialen Laubblatts: *Helleborus niger* (Christrose) – Spaltöffnungen des *Helleborus*-Typs

Einführung:

Die Längsachsen der Spaltöffnungen fallen mit der des Blattes zusammen. Sie werden von zwei **bohnenförmigen Schließzellen** gebildet, die mit den Epidermiszellen auf gleicher Höhe liegen, also nicht eingesenkt sind. Die Schließzellen zeichnen sich durch zarte Rückenwände und verstärkte Bauchwände aus. Bei Turgorerhöhung wölben sich die bohnenförmigen Schließzellen in die Nebenzellen hinein vor, die Bauchwände werden mitgezogen und der Spalt öffnet sich.

Nur die Schließzellen führen **Chloroplasten**, im Gegensatz zu den Epidermiszellen.

Durchführung:

1. Einen dünnen Flächenschnitt der Blattunterseite anfertigen (oder besser: die Epidermis einritzen und mit einer Pinzette abziehen).
2. In einen Tropfen Wasser auf einen Objektträger übertragen.
3. Ein Übersichtsbild und eine Spaltöffnung im Detail (Aufsicht) zeichnen.

4. Anatomie der Wurzel - Querschnitt durch eine Wurzel von *Iris germanica*

Einführung:

Während bei der Sproßachse die leitenden Elemente im typischen Falle peripher angeordnet sind, liegen sie bei der Wurzel im Zentrum. Die Wurzel besitzt ein im **Zentralzylinder** gelegenes **radiales Leitsystem**, bei dem die Xylemelemente in Leisten angeordnet sind, die vom Zentrum in die Peripherie ausstrahlen ("sternförmige" Figur). Die Größe der Gefäße nimmt von innen nach außen ab. Im Zentrum stoßen die Xylemstrahlen entweder aufeinander oder auf ein zentrales Speicherparenchym.

Die Phloemstränge liegen in entsprechender Anzahl zwischen den Xylemstrahlen, von denen sie durch eine Schicht Parenchymzellen getrennt sind. Die äußerste Schicht des Zentralzylinders ist das **Perikambium**. Der Zentralzylinder ist vom Rindengewebe umgeben, welches aus dünnwandigen Parenchymzellen mit großen Interzellularen besteht. Die innerste Schicht der Rinde ist die **Endodermis**, welche im primären Zustand einen **Casparyschen Streifen** besitzt (wasserundurchlässig), der aus Einlagerungen von Endodermin in die radialen Zellwände entsteht. Im sekundären Zustand ist die gesamte Zellwand innen mit einer Endoderminlamelle ausgekleidet, während im tertiären Zustand die Zellwände durch Auflagerung verholzter Celluloseschichten verdickt sind. Meist werden nur die radialen und die inneren tangentialen Wände verdickt, so daß die Wandverdickungen im Querschnitt **U-förmig** aussehen. In diesem Falle bleiben einzelne Zellen, die **Duchlaßzellen**, unverdickt.

Die äußerste Schicht der Wurzel ist die **Rhizodermis**. Die Lebensdauer der Wurzelhaare ist meist auf wenige Tage beschränkt. Sie sterben vom proximalen Ende der Wurzel her ab. Da mit ihnen auch die Rhizodermiszellen zugrunde gehen, bildet die Wurzel ein neues Abschlussgewebe, die **Exodermis**. Die Exodermis geht aus einer oder auch mehreren subrhizodermalen Schichten hervor.

Material: - Wurzel von *Iris germanica*

Durchführung:

1. Sehr dünne Querschnitte durch jüngere Wurzel anfertigen.
2. In einen Tropfen Auqa dest. auf einen Objektträger übertragen.
3. Querschnitt zeichnen.

Versuch 5: Vegetationskegel von *Elodea canadensis*

Einführung:

Das Zellteilungswachstum erfolgt bei Pflanzen in besonderen Bildungsgeweben, den **Meristemen**. Bei der Sproßachse liegt die Zone der höchsten Teilungsaktivität in der Spitzenregion (**Scheitelmeristem, Vegetationskegel**). Das Scheitelmeristem besteht aus einer Gruppe von Initialzellen, die bei Angiospermen eine charakteristische Anordnung zeigen: eine oder mehrere äußere Schichten, die sog. **Tunica**, in der sich die Zellen nur antiklin (senkrecht zur Oberfläche) teilen, und einen zentralen **Corpus**, in dem sich die Zellen antiklin und periklin teilen. Die Zahl der Tunicaschichten unterscheidet sich bei den einzelnen Pflanzenarten. Die äußerste Tunicaschicht ist das **Protoderm**.

Die **Blattanlagen** entstehen als seitliche (exogene) Auswüchse am Sproßscheiden aus den Tunicaschichten. Infolge ihres rascheren Wachstums eilen die Blätter dem Sproßscheiden voraus und umhüllen diesen als **Knospe**.

- Material:**
- Sprosse von *Elodea canadensis* (Wasserpest)
 - Pinzette
 - Rasierklinge
 - Objektträger, Deckglas
 - Wasser

Durchführung:

1. Eine Sproßknospe mit der Rasierklinge abschneiden (ca. 0,5 cm) und auf einen Objektträger mit viel Wasser übertragen.
2. Nach und nach die Blättchen von unten bis oben mit der Pinzette abziehen. Dabei ganz vorsichtig sein, damit der empfindliche Vegetationskegel, der in den oberen Blättchen verborgen ist, nicht zerstört wird (evtl. Lupenkontrolle oder Mikroskop-Kontrolle ohne Deckglas).
3. Vegetationskegel zeichnen und beschriften.

Beobachtungen bei dem Sprossscheitel von *Elodea canadensis*:

Der Sprossscheitel ist von älteren Blättern umhüllt, die , vorn zusammenschließend, eine Knospe bilden. Nach Entfernung der Blätter ist der Sprossscheitel schon bei schwacher Vergrößerung erkennbar. Er ist bei *Elodea* sehr schlank und in Längsrichtung gestreckt. Die Blattanlagen entstehen als seitliche Wülste. Sie lassen eine gesetzmäßige Anordnung erkennen, die der späteren Blattstellung entspricht.

Bei stärkerer Vergrößerung sind die das Scheitelmeristem aufbauenden Zellen meist ohne weiteres zu erkennen. Die Zellen haben große Kerne und sind ganz von Plasma erfüllt. Vakuolen fehlen ebenso wie Interzellularen, die erst in einiger Entfernung von der Spitze als ein dunkel erscheinendes Netz zu erkennen sind.

Die genaue Anordnung der Zellschichten wäre am besten in einem Längsschnitt zuerkennen. Der zentrale Gewebekern, das Corpus, ist von einer zweischichtigen Tunica umgeben. An der Bildung der Blattanlagen ist nur die Tunica beteiligt: (Nach Nultsch, Grahle; Mikroskopisch-Botanisches Praktikum)

3. PRAKTIKUMSTAG

Anatomie der Leitgefäße und Photosynthese

Versuch 1: Leitbündel im Sproß einer dikotylen Pflanze - *Aristolochia durior*

Einführung:

Die Leitbündel im Sproß einer **Dikotylen** sind in charakteristischer Weise auf einem **Kreis** angeordnet, im Gegensatz zu den **Monokotylen**, bei denen sie **zerstreut** im Sproßquerschnitt vorliegen. Sie sind in ein dünnwandiges **Parenchymgewebe** gebettet. Nach außen ist der Stengel durch eine **Epidermis** begrenzt.

Xylem und Phloem sind durch einen mehrschichtigen Streifen meristematischen Gewebes (**fasciculäres Kambium**) getrennt, dessen Zellen ihre Teilungsfähigkeit eingestellt haben.

Solche Leitbündel bezeichnet man als **offen-kollaterale Leitbündel**. Gegen das umliegende Gewebe sind die Leitbündel durch eine **Leitbündelscheide** abgesetzt, deren Zellen verdickt und verholzt sind.

Material:

- Stengelstück von *Aristolochia durior*
- Rasierklinge
- Objektträger, Deckglas
- Pinzette
- Wasser

Durchführung:

1. Dünne Querschnitte durch den Stengel anfertigen.
2. In einen Tropfen Wasser auf einen Objektträger übertragen.
3. Übersichtszeichnung anfertigen.
4. Ein Leitbündel detailliert zeichnen.

Versuch 2: Leitbündel im Sproß einer monokotylen Pflanze - *Zea mays* (Mais)

Einführung:

In monokotylen Pflanzen liegen die Leitbündel **verstreut** im Sproßquerschnitt. Es handelt sich um **geschlossene kollaterale** Leitbündel ohne Kambium.

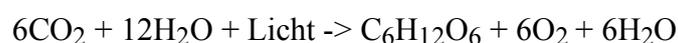
Durchführung:

1. Dünne Querschnitte durch den Stengel (Alkoholpräparat) anfertigen.
2. In einen Tropfen Wasser auf einen Objektträger übertragen.
3. Übersichtszeichnung anfertigen.
4. Ein Leitbündel detailliert zeichnen.

Photosynthese

Einleitung

Die Photosynthese ist der Prozeß, in dem die Pflanze mit Hilfe von Wasser, Licht und Kohlendioxid Glucose (Stärke), Sauerstoff und Wasser produziert. Dieser Prozeß erfolgt in mehreren Reaktionsschritten in den Chloroplasten und dem Plasma der Pflanzenzellen. Chemisch läßt sich die Photosynthese mit folgender Summenformel darstellen:



Um die Vorgänge der Photosynthese zu verdeutlichen liegt es also nahe, Versuche zu wählen, die zum einen die Notwendigkeit der Ausgangsstoffe und zum andern die Entstehung der Endprodukte zeigen.

1-2 Tage vor dem Versuch werden die Elodeapflanzen dunkeladaptiert. Dies bewirkt, daß die in den Pflanzen gespeicherte Stärke dissimiliert wird. Dies führt während des Versuchs zu einer erhöhten Photosyntheseaktivität.

Um das Kohlendioxidangebot für die Pflanzen zu variieren wird ausgenutzt, dass sich in wässrigen KHCO_3 - bzw. NaHCO_3 -Lösungen folgendes Gleichgewicht einstellt:



Versuch 3: Sauerstoffproduktion

Material:

- Pflanzen: Elodea canadensis (Kanadische Wasserpest); vorher 1 – 2 Tage dunkel gestellt
- 10 mM KHCO_3 oder NaHCO_3 Lösung
- abgekochtes Wasser (Wasser kochen, dann rasch auf Eis abkühlen)
- Indigocarminlösung: a) 10 mg Indigocarmin/200 ml **10 mM** KHCO_3 oder NaHCO_3 Lösung
b) 10 mg Indigocarmin/200 ml abgekochtes (CO_2 freies) Wasser
- Natriumdithionitlösung (Konzentration 0,5 g/50 ml)
- 3 kleine Glasflaschen mit Deckel, bzw Glasröhrchen mit Stopfen
- Starke Lichtquelle (Diaprojektor)

Durchführung

Der photosynthetisch gebildete Sauerstoff wird mit Hilfe des in der Wollfärberei eingesetzten wasserlöslichen Indigocarmins ($\text{C}_{16}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_8\text{S}_2$) nachgewiesen. Die hellblaue Indigocarminlösung wird unter Rühren vorsichtig mit dem Reduktionsmittel Natriumdithionit ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) titriert, bis der Farbstoff vollständig gelb ist. Das Indigocarmin liegt nun in seiner reduzierten Form als gelbes Leuco-Indigocarmin vor. Zwei Gläschen werden mit je zwei Elodea-Sprossen bestückt. Die Sprosse wiegen, damit die Ansätze vergleichbar sind. Die Gläschen werden bis zum Rand mit gelber Leuco-Indigocarmin-Lösung (gelöst in 10 mM KHCO_3 oder NaHCO_3) gefüllt und luftblasenfrei verschlossen. Ansatz 1 wird belichtet, während Ansatz 2 dunkel gestellt wird. Ein dritter Ansatz wird mit Indigocarminlösung angesetzt, die in abgekochtem Wasser angesetzt wurde. Der dritte Ansatz wird ebenfalls belichtet.

Auswertung

Die Ansätze auf einen Farbumschlag hin beobachten. Die Zeit bis zum Farbumschlag stoppen.

Fragen:

In welchen der Ansätze erfolgt ein Farbumschlag von gelb nach blau? Warum erfolgt bzw. unterbleibt der Farbumschlag? Schlägt die Farbe in einem der Ansätze schneller um als in einem anderem? Wenn ja, warum?

Versuch 4: Kohlendioxidaufnahme

Material:

- Pflanzen: Elodea canadensis (Kanadische Wasserpest); vorher 1 – 2 Tage dunkel gestellt
- **1 mM** KHCO_3 ; pH ~ 7,5 – 8,0 (1 l ansetzen)
- 1 Glasflasche mit Bohrung im Deckel

- 1 Rührfisch
- 1 Rührer
- 1 pH-Meter
- Starke Lichtquelle (Diaprojektor)
- Aluminiumfolie

Durchführung

In eine Glasflasche werden der Rührfisch und mehrere Elodea-Sproßspitzen gegeben. Die Flasche wird mit 1mM KHCO₃ aufgefüllt und luftblasenfrei verschlossen. Durch die Bohrung im Deckel wird die pH-Elektrode eingeführt. Zur raschen Einstellung der Gleichgewichtszustände wird die Lösung mit dem Rührfisch auf dem Magnetrührer durchmischt. Die luftdicht verschlossene Glasflasche wird zunächst 20 min in Dunkelheit gehalten (Flasche mit Alufolie einschlagen) und der pH-Wert in 1 min Abständen gemessen. Anschließend wird die Flasche mit dem Diaprojektor belichtet. Der pH-Wert wird weiterhin jede min gemessen.

Auswertung

Graphische Darstellung der Messwerte (pH-wert über der Zeit auftragen).

Das von der Kaliumhydrogencarbonatlösung freigesetzte CO₂ löst sich im Wasser, wobei in geringem Maße Kohlensäure (H₂CO₃) entsteht, die wiederum in ein Proton und ein Hydrogencarbonat-Anion dissoziiert.



In Dunkelheit atmen die Sprosse und produzieren Kohlendioxid. Durch die CO₂-Abgabe in das Wasser wird das Reaktionsgleichgewicht nach rechts verschoben, der pH-Wert fällt ab. Bei Belichtung der Pflanzen wird der Lösung aufgrund der Assimilation der Pflanzen CO₂ entzogen. Das Reaktionsgleichgewicht wird nach links verschoben, d. h. der pH-Wert steigt an. Nach erneuter Verdunkelung der Probe kommt die CO₂ Assimilation sofort zu Stillstand, während die Zellatmung weiterläuft. Das Medium wird wieder angesäuert, der pH-Wert fällt. Bei wiederholtem Licht/Dunkel-Wechsel können diese Gaswechselprozesse (CO₂-Austausch) somit indirekt über pH-Änderungen des Außenmediums der Elodea-Sprosse verfolgt werden.

4. PRAKTIKUMSTAG

Einführung:

Auxine:

Die Auxine wurden 1928 erstmals von F.W. Bent nachgewiesen. Diese „Wachsstoffe“ oder „Wachstumsregulatoren“ bekamen später den Namen Auxin (gr. Auxánein = wachsen). Das wichtigste natürlich vorkommende Auxin ist die β -Indolessigsäure (IAA = indole acetic acid). Auxine sind u. a. an der Stimulation des Streckungswachstums, Bildung von Adventiv- und Seitenwurzeln, Aufrechterhaltung der Apikaldominanz, Hemmung des Blattfalls und Parthenokarpie beteiligt. Im Praktikum wird der Einfluß auf die Apikaldominanz untersucht.

Cytokinine:

Ihren Namen erhielten die Cytokinine nach ihrer Eigenschaft, die Zellteilung (Cytokinese) zu fördern. Das erste natürliche Cytokinin wurde 1964 in unreifen Maiskörnern (*Zea mays*)

entdeckt und deshalb Zeatin genannt. Neben den natürlichen Cytokininen ist eine große Zahl künstlich hergestellter Cytokinine bekannt (z. B. Kinetin, Benzyladenin). Cytokinine sind u. a. an der Stimulation der Zellteilung, Förderung des Austreibens der Seitenknospen und Verzögerung der Seneszenz beteiligt. Im Praktikum wird der Einfluß des Cytolinins Kinetin auf die Apikaldominanz und das Austreiben von Knospen untersucht.

Gibberelline:

Die Gibberelline wurden bereits 1926 in Japan entdeckt. Sie erhielten ihren Namen nach dem Pilz *Gibberella fujikuroi*, der eine Substanz enthält, die das Längenwachstum von Reispflanzen auffallend steigert. Gibberelline sind u.a. an der Steigerung des Sprosswachstums, Auslösung der Blütenbildung (bei Rosettenpflanzen) und Brechen der Samenruhe beteiligt.

Abscisinsäure:

Ein Phytohormon mit überwiegen Hemmstoffcharakter ist die Abscisinsäure (ABA = **ab**scisic acid). Das Phytohormon wurde zuerst aus den Samenkapseln der Baumwolle gewonnen. Da es das Abfallen der Früchte fördert, bekam es den Namen Abscisin (lat. Abscindere = trennen). Abscisinsäure ist u. a. an der Förderung des Frucht- und Blattfalls, der Hemmung der Samenkeimung und beim Schluß der Stomata beteiligt.

Aufgrund der Hemmwirkungen dieses Phytohormons auf die Keimung ist die Anhäufung von ABA in Samen ein wesentlicher Faktor für die Aufrechterhaltung der Samenruhe. Verschiedene Hüllgewebe von Samen und Früchten geben Hemmstoffe an den Embryo ab. So tritt ABA im Apfeln im Endosperm (Nährgewebe des Embryos), bei Tomaten im Fruchtfleisch und bei Baumwolle in der Kapsel auf. Das Vorkommen keimungshemmender Stoffe erscheint ökologisch sinnvoll: Ohne Hemmstoffe würde das Fruchtfleisch der Tomate ideale Voraussetzungen für eine sofortige Keimung bieten. Dies wäre für den Erhalt und die Verbreitung der Art verhängnisvoll, solange die Bedingungen für die Weiterentwicklung des Keimlings außerhalb der Frucht ungünstig sind (z. B. Herbst). Erst wenn der Inhibitor abgebaut oder entwichen ist wird der Ruhezustand des Embryos aufgehoben und es kommt zur Keimung. Im Praktikum wird die Keimungshemmung durch Fruchtfleisch untersucht.

Versuch 1: Apikaldominanz

Material:

- 1 Kiste pro Gruppe mit 14 Tage alten Erbsen der Sorte "Kleine Rheinländerin"
- Trennstreifen
- Schilder
- 1 Spritze mit Lanolinpaste
- 1 Spritze mit IES (Indolylessigsäure) haltiger Lanolinpaste
- Kinetinlösung
- Polyethylenglycol (PEG)-Lösung (Kontrolllösung)
- 1 Mikroliterpipette für 5 µl und 2 Pipettenspitzen (Bitte Vorsicht: Verstellbare Mikroliterpipetten kosten ca. DM 400/Stück)
- 1 Rasierklinge

Durchführung:

- Kontrollieren, ob die Pflanzen ausreichend gegossen sind. Gegebenenfalls Wässern - die Blattachsen dürfen jedoch nicht naß gemacht werden.

- 6 Gruppen mit je 10 möglichst gleichen Pflanzen abteilen und die Überzähligen Pflanzen entfernen.

Es werden 3 Versuchsgruppen gebildet:

1. Versuchsgruppe

Bei 10 Pflanzen werden auf den Vegetationspunkt der Achselknospe des 2. Knotens 5 µl PEG-Lösung aufgetragen (Kontrolle). Die Flüssigkeit muß so vorsichtig aufgetragen werden, dass der Tropfen nicht abperlt. Wenn Sie die Technik beherrschen, werden bei weiteren 10 Pflanzen auf den Vegetationspunkt der Achselknospe des 2. Knotens 5 µl Kinetinlösung aufgetragen. Mittels Etiketten werden die Gruppen gekennzeichnet.

2. Versuchsgruppe

Alle 20 Pflanzen werden am oberen Ende des Internodiums über der dritten Blattachsel mit einer Rasierklinge dekapitiert. Die Schnittfläche wird mit etwas Lanolinpaste (Wundverschluß) bestrichen. 10 der dekapitierten Pflanzen erhalten wiederum 5 µl PEG-Lösung auf den Vegetationspunkt der Achselknospe des 2. Knotens (Kontrolle). Die restlichen 10 dekapitierten Pflanzen auf den Vegetationspunkt der Achselknospe des 2. Knotens 5 µl Kinetinlösung. Wichtig – es muß ausreichend Paste aufgetragen werden).

3. Versuchsgruppe

Der Versuch wird wie unter 2. beschrieben durchgeführt, nur wird IAA-haltige Lanolinpaste auf die Schnittfläche aufgetragen.

Auswertung:

Die Auswertung erfolgt nach einer Woche. Alle Pflanzen werden auf das Austreiben der ersten, zweiten und dritten Achselknospe hin überprüft. Fassen sie die Ergebnisse in einer Tabelle zusammen. In die Tabelle wird die Anzahl von Achselknospen eingetragen, die an der jeweiligen Achselposition ausgetrieben haben. Als letzte Zahl wird die Anzahl der untersuchten Pflanzen angegeben. Die Ergebnisse des gesamten Kurses werden in einer Tabelle an der Tafel zusammengefasst.

Beispiel:

VG1 0/8/1 | 10

0/8/1 | 10 bedeutet: 0 Triebe an 1. Achselknospe/8 Triebe an 2. Achselknospe/1 Trieb an der 3. Achselknospe | 10 Pflanzen wurden insgesamt ausgewertet

VG!-K 0/2/1 | 9

VG = Versuchsgruppe, K = Kontrolle

Aber auch andere quantitative/qualitative Veränderungen sollen protokolliert werden.

Erklären Sie die Unterschiede kurz in zusammenhängenden Sätzen.

Versuch 2: Keimungshemmung durch Fruchtfleisch

Material:

- Kressesamen (*Lepidium sativum*)
- 6 Petrischalen

- Filterpapier, Pipetten
- frischer Presssaft von Äpfeln, Birnen, Tomaten, Apfelsinen, ... eigene Testobjekte mitbringen. Wichtig!!! Den Saft nach dem Pressen kurz abkochen um die Schimmelbildung zu reduzieren.
- 10^{-3} , 10^{-4} und 10^{-5} M ABA-Lösung

Durchführung:

- 6 Petrischalen mit je zwei Lagen Filterpapier vorbereiten
- In die erste Petrischale pipettiert man 10 ml A. dest. (Kontrolle).
- In die zweite (gegebenenfalls auch in weitere) Petrischalen gibt man 10 ml unverdünnten Presssaft.
- In die dritte (gegebenenfalls auch in weitere) Petrischalen gibt man 2 ml unverdünnten Presssaft und 8 ml A. dest..
- In die 4. und 6. Petrischale werden je 10 ml der ABA-Lösungen gegeben.
- Nun werden jeweils 50 Kressesamen (Abstand zwischen den einzelnen Samen lassen) in den Petrischalen verteilt.
- Die Keimung der Kressesamen kann im Dunkel oder im Licht erfolgen.

Auswertung:

Nach 4 Tagen wird der Versuch ausgewertet. Dazu wird die Anzahl gekeimter Samen auf jeder Petrischale ermittelt und die Keimprozentage berechnet. Als gekeimt gilt jeder Same, bei dem die Keimwurzel sichtbar ist (evtl. Lupe benutzen).

Keim-% = Anzahl der gekeimten Samen/Anzahl der ungekeimten Samen. Die Wasserkontrolle (= 100 %ige Keimung) ist gleichzeitig eine Kontrolle der Saatgutqualität.

Vergleichen Sie die Keim% der einzelnen Versuchsansätze (kleine Tabelle). Erklären Sie das Ergebnis kurz in zusammenhängenden Sätzen.

Das Fruchtfleisch von frischem Obst enthält keimungshemmende Stoffe, z. B. das Pflanzenhormon Abscisinsäure. Die Samen können nicht auskeimen, solange sie mit dem Fruchtfleisch in Verbindung stehen. Die Hemmstoffe wirken auch auf die Samen anderer Arten. Bei einer Mutante der Tomate, die die Fähigkeit zur ABA-Synthese verloren hat, keimen Samen bereits in der reifen Frucht. Durch Besprühen mit ABA-Lösung kann die Dormanz der Samen wieder herbeigeführt werden.

Versuch 3: Induktion der α -Amylase durch Gibberellinsäure (GA)

Einführung:

Das wichtigste Reservekohlenhydrat der Pflanze ist Stärke. Sie besteht aus Amylose (unverzweigte Poly- α 1,4-Glucose) und aus Amylopektin (verzweigte Poly- α 1,4-1,6-Glucose). In Karyopsen (Früchte von Gräsern) wird die Stärke während des Keimens in kleinere Bruchstücke zerlegt. Der Stärkeabbau wird durch zwei verschiedene Amylasen bewirkt:

1. β -Amylase

β -Amylase baut das Stärkemolekül des Endosperms vom nicht-reduzierenden Ende her fortschreitend ab, so daß jede zweite glucosidische Bindung unter Freisetzung von Maltose hydrolysiert wird. Maltose lässt sich mit Iod-Iodkalium-Lösung nicht anfärben. Die β -Amylase wird in den Endospermzellen deponiert. Bei Beginn der Keimung braucht die β -Amylase nur noch von der inaktiven in die aktive Form überzugehen, um die Stärke von den Enden her abzubauen.

2. α -Amylase

α -Amylase mobilisiert Stärke, indem sie als endo-wirkendes Enzym aus den Stärkemolekülen ein ganzes Spektrum von unterschiedlich langen Ketten von verzweigten Saccharidbruchstücken, den sogenannten Dextrinen, herauspaltet. Diese lassen sich mit Iod-Iodkalium-Lösung ebenfalls nicht anfärben. Die α -Amylase ist in der Karyopse zu Beginn der Keimung noch nicht vorhanden. Ihre Synthese in den Aleuronzellen muß erst durch den Embryo veranlasst werden. Diese Enzym-Induktion wird durch das Hormon Gibberellinsäure, die der Embryo synthetisiert und über das Scutellum an das Aleuron abgibt, induziert.

In diesem Versuch soll die schnelle Aktivierbarkeit der β -Amylase sowie die länger dauernde Induktion der α -Amylase untersucht werden.

Material:

- intakte, 12 h vorgequollene Weizenkörner
- Petrischalen mit Stärkeagar – der Stärkeagar wurde mit Iod-Iodkalium-Lösung angefärbt
- Rasierklingen

Durchführung:

- Als erstes die Durchführung vollständig durchlesen und die Petrischalen beschriften
- 12 h lang vorgequollene Weizenkaryopsen werden mit einer Rasierklinge so quer geteilt, dass zwei gleich große Endospermhälften entstehen (beim Teilen des Endosperms darauf achten, dass das Volumen des Embryos nicht zum Endosperm gerechnet wird – machen sie zunächst einen Längsschnitt durch eine Karyopse und sehen sie sich den Aufbau an).
- Die geteilten Weizenkörner werden sofort mit ihrer Schnittfläche nach unten auf den mittelblau gefärbten Agar gelegt (nicht hineindrücken). Pro Petrischale werden zwei Karyopsen verwendet.
- Die 4 Kornhälften werden so angeordnet (Achtung! Sie dürfen dann nicht mehr verrutschen), dass die jeweils zueinander gehörenden Hälften auf den vier gedachten Quadranten der Petrischale sich gegenüber liegen. Die Petrischalen müssen auf der Unterseite entsprechend beschriftet werden.
- Die Petrischalen werden mit Parafilm verschlossen.

Auswertung:

Nach einem und nach 3 - 4 Tagen werden die Hofdurchmesser mit mm-Papier oder dem Lineal bestimmt. Sollte der Embryo Wurzeln gebildet haben und dabei die Karyopsenhälfte von der Agaroberfläche abgehoben haben, so darf dieses Explantat nicht in die Auswertung einbezogen werden.

Sollte die Blaufärbung des Stärkeagars auch außerhalb der Höfe nicht mehr zu sehen sein, ist eine sehr vorsichtige Nachfärbung möglich. Etwas verdünnte Iod-Iodkalium-Lösung wird

gleichmäßig auf die Agaroberfläche gegeben. Überzählige Tropfen am Rand der schwach schräg gehaltenen Petrischale werden sofort wieder mit einem Papiertaschentuch abgesaugt. Die Karyopsenhälften dürfen bei diesem Vorgang nicht verrutschen.

Stellen Sie die Daten in einer kleinen Tabelle dar. Gibt es Unterschiede zwischen den Karyopsenhälften mit und ohne Embryo. Falls ja, wie können diese erklärt werden?

5. PRAKTIKUMSTAG

Botanische Evolution und Systematik: Exkursion in den Botanischen Garten

Durchführung:

Vor der Exkursion werden Gruppen gebildet, denen jeweils ein thematischer Schwerpunkt zur Bearbeitung zugewiesen wird (z. B. Kannenpflanzen oder Epiphyten, etc.). Jeder Kursteilnehmer soll sich im Rahmen des Themas ein Objekt suchen, das sein Interesse weckt. Damit Sie das Objekt nicht bestimmen müssen, achten Sie darauf, dass es mit einem Schild versehen ist, das den Artnamen und eventuell weitere Angaben zur systematischen Einordnung aufführt. Achtung! Das Sammeln von Belegexemplaren ist im botanischen Garten verboten!

Themen für die Exkursion in den botanischen Garten:

1. Epiphyten (Aufsitzer) am Beispiel der Bromelien
2. Epiphyten am Beispiel der Farne
3. Carnivore (Insectivore) Pflanzen
4. Xerophyten

Zu jedem Thema sollen folgende Fragen beantwortet werden:

1. Welche speziellen Anforderungen stellt der jeweilige Lebensraum an diese Pflanzen?
2. Zu jedem Thema sind zwei Vertreter auszuwählen. Erklären Sie, mit welchen Strukturen, Geweben, Organen und/oder Fortpflanzungsmechanismen die spezielle Anpassung erfolgt und beschreiben Sie die Funktionsweise der Anpassungsmechanismen. Beschreiben Sie gegebenenfalls auch Strukturen, die makroskopisch nicht sichtbar waren.
3. Zeichnen Sie die in 2. ausgewählten Pflanzen (Habitus der ganzen Pflanze, eventuell Detailzeichnungen von Blüten, Früchten, anderen Strukturen).

Jeder Kursteilnehmer muß am Montag in der Lage sein seine Zeichnungen dem Kurs vorzustellen und über das gezeichnete Objekt zu referieren. Ausgewählte/geloste Arbeiten werden von den jeweiligen Kursteilnehmern im Kurs vorgestellt. Die Zeichnungen werden dazu von den Tutoren/dem Lehrveranstalter auf Folie kopiert.

Für die Literaturarbeit werden wenig Bücher zur Verfügung stehen. Weitere Literatur, speziell zu Pflanzen, finden Sie in dem botanischen Museum, das direkt neben dem botanischen Garten liegt. Es empfiehlt sich einen Strasburger – Botanik, Jakob Jäger,

Ohmann - Botanik, Franke – Nutzpflanzenkunde und andere geeignete Literatur aus der Lehrbuchsammlung mitzubringen. Konsultieren Sie auch das Internet.

6. PRAKTIKUMSTAG

Mitose, bakterielles Wachstum und Humangenetik

Versuch 1: Mitosen in Wurzeln der Küchenzwiebel

Einleitung

Die Mitose läßt sich über einen Zeitraum von mehreren Stunden in vier verschiedene Phasen unterteilen, die, durch typische Chromosomenbilder und Prozesse charakterisiert, einen kontinuierlichen Ablauf untergliedern. Zwischen den einzelnen Mitosen befinden sich die Zellen in der Interphase (aufgelockertes Chromatin, Replikation der DNA):

- a) Prophase: Kondensation des Chromatins zur Transportform,
Auflösung von Kernhülle und Nucleoli, Ausbildung der
Teilungsspindel
- b) Metaphase: Tochterchromatiden werden durch das Centromer als
Chromosom zusammengehalten, Spindelfasern ordnen die
Chromosomen in der Äquatorialplatte an
- c) Anaphase: Die Chromatiden werden zu den Spindelpolen gezogen
- d) Telophase: Dekondensation der Chromosomen, Kernhülle erneuert
sich, in der Äquatorialplatte bildet sich die trennende
Biomembran

Material: - Fertigpräparate

Aufgabe: - zeichnen der 4 Mitosestadien

Versuch 2: Verbreitung von Keimen / Vereinzelausstrich

Durchführung:

Dieser Versuch soll demonstrieren, wie leicht sich Mikroorganismen durch Kontakt verbreiten, wie schnell sich also auch Epidemien ausbreiten können.

Jeder Kursteilnehmer erhält eine Petrischale mit einem Stückchen Schokoladenriegel. Die Schokoladenriegelstückchen sind mit einer Suspension von *Micrococcus luteus* (gelbe Kolonien), *Serratia marcescens* (rote Kolonien) oder mit A. dest. kontaminiert worden. Das wird nun in einer Hand zermatscht (Handschuhe!!). Etwas Schokoladenmaterial wird mit einem Finger auf die erste Hälfte einer LB-Agarplatte ausgestrichen. Anschließend schüttelt Student Nr. 1 Nr. 2 die Hand. Student Nr. 2 streicht nun etwas Schokoladenmaterial mit einem Finger auf die zweite Hälfte der LB-Agarplatte. Nun schüttelt Student Nr. 2 Nr. 3 die Hand – u.s.w.

Die Agarplatten werden im Schwachlicht bei Raumtemperatur für 2 bis 3 Tage inkubiert. Auswertung: Wer war als erster mit *Serratia marcescens* infiziert? Welche Schokoladenstücke waren nur mit A. dest. inokuliert worden? Über wie viele Personen wurden die roten Bakterien weitergegeben?

In einer Flüssigkultur wurden die beiden Stämme versehentlich miteinander kontaminiert. Machen Sie einen Vereinzelausstrich um Einzelkolonien beider Stämme zu erhalten. Von diesen können dann wieder reine Stammkulturen angelegt werden.

3. Bestimmung der Lebendzellzahl:

Durchführung:

1. Von der Stammkultur (eine *Escherichia coli* Kultur oder der Mix aus 2.) wird eine Verdünnungsreihe hergestellt bis zu einer Verdünnung von 10^{-8} .
2. Die unverdünnte Bakteriensuspension sowie die Verdünnungsstufen 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} und 10^{-8} , werden auf LB-Platten ausplattiert. Je $100 \mu\text{l}$ der Bakteriensuspensionen werden mit einem Drygalski-Spatel gleichmäßig auf den LB-Platten verteilt.
3. Falls verschimmelttes Brot vorhanden ist: auf die Platte mit der unverdünnten Bakteriensuspension einige verschimmelte Brotkrümel auflegen. Platte mit Parafilm verschließen.
4. Die Platten werden über Nacht bei 37°C inkubiert (*Escherichia coli*), oder an einer wenig beleuchteten Stelle bei Raumtemperatur für 2-3 Tage inkubiert (*Micrococcus luteus* / *Serratia marcescens*).
5. Die Anzahl der gewachsenen Kolonien wird ausgezählt und die Lebendzellzahl bestimmt.

Versuch 4: Bakteriellles Wachstum auf Agarplatten

Durchführung:

Die verbliebenen Agarplatten können selbstständig nach eigener Interessenlage beimpft werden. Anregungen: Raumluft im Vergleich zu Luft

draußen; Husten, Blattabdruck, Laufspur von Ameisen, Hand- bzw. Hautabdruck ... Phantasie ist gefragt. Die Platten werden über Nacht bei 37 °C inkubiert und anschließend ausgewertet. An welchen Orten wurden die Platten stark beimpft (hohe Kolonienzahl)? Sehen alle Kolonien gleich aus? Wachsen Pilze? Die Platten können eventuell eine 2. Nacht bei 37 °C inkubiert werden. Was hat sich verändert?

Versuch 5: Analyse von Verwandtschaftsverhältnissen mit Hilfe von RFLP-Mustern

Grundlagen: Seminar, Erklärungen am Kurstag

Das Beispiel vom Kurstag wurde dem „Blackett Family DNA Activity“ Internet-Lernangebot der University of Arizona (<http://www.biology.arizona.edu>) entnommen.

Weitere Informationen – auf deutsch – sind in der Lerneinheit 2 (Der DNA Fingerabdruck /DNA-Profilanalyse) der European Initiative for Biotechnology Education (EIBE) (<http://www.rdg.ac.uk/EIBE/DEUTSCH/DU0.HTM>) zu finden.

Im Kurs bekommen Sie einen Arbeitsbogen ausgeteilt. Bitte beantworten Sie die folgenden Fragen:

1. Handelt es sich bei den Großeltern um die Eltern des Vaters oder der Mutter?
2. Welche Allele haben die Geschwister gemeinsam?
3. Bei dem Marker D10S28 gibt es eine Übereinstimmung zwischen Spur 5 (nicht verwandtes Individuum) mit Spur 8 (Vater). Ist das durch Spur 5 dargestellte Individuum doch mit dem Vater verwandt? Wie sieht es bei den anderen Individuen in Spur 4 und 6 aus? Ziehen Sie auch die anderen Marker für eine Beurteilung heran.

Versuch 6: Karyogramme

Erklärungen zu Versuch 6 erfolgen am Kurstag.

7. PRAKTIKUMSTAG

Das Phytochromsystem und *Paramecium caudatum*

Versuch 1: Steuerung der Keimung durch das Phytochromsystem in *Lactuca sativa*

Einleitung:

Die Samen von Lichtkeimern müssen im gequollenen Zustand ein Lichtsignal bekommen, um keimen zu können, während die Keimung der selteneren Dunkelkeimer durch Licht gehemmt wird. Bei den Samen (Achänen) des Kopfsalats (*Lactuca sativa* cv. Grand Rapids), der ein Lichtkeimer ist, stimuliert Hellrot (HR)-Strahlung mit einem Wirkungsoptimum nahe der Wellenlänge von 660 nm die Keimung. Durch nachfolgende Bestrahlung mit dunkelrotem Licht (DR) – Wirkungsoptimum bei 730 nm – kann die Hellrot-Induktion rückgängig gemacht werden.

Bei Wechselbestrahlungen mit HR und DR entscheidet die zuletzt gebotene Lichtqualität über den Effekt solange die Photodifferenzierung noch nicht eingesetzt hat. Die HR- wie die DR-Effekte sind exponentiell abhängig von der zugeführten Photonendosis und sind im Bereich von 0 °C bis 40 °C temperaturunabhängig. In trockenen Geweben sind Photoinduktion wie -reversion kaum zu erzielen, dagegen bleibt der jeweilige Induktionszustand über Austrocknungsphasen erhalten.

Das Phytochrom kann in zwei relativ stabilen Formen existieren, die reversibel ineinander überführt werden können. Die Hellrot-absorbierende, physiologisch inaktive Form, die im Dunkeln (z. B. in etiolierten Keimlingen) ausschließlich vorliegt, wird mit P_{660} , P_{HR} oder P_r ($=P_{red}$) bezeichnet. Die Dunkelrot-absorbierende, physiologisch aktive Form des Phytochroms wird als P_{730} , P_{DR} oder P_{fr} ($=P_{far\ red}$) bezeichnet. Das Phytochrom ist ein Chromoprotein, dessen kovalent gebundene chromophore Gruppe ein offenkettiges Tetrapyrrol ist. Beim Übergang von P_r zu P_{fr} erfolgt eine Konformationsänderung des Proteins.

Sonnenlicht enthält HR und DR zu etwa gleichen Teilen. Es führt zu einem P_r/P_{fr} -Gleichgewicht, das bis zu 50 % P_{fr} enthält. Jedenfalls ist der P_{fr} Anteil immer größer als im Dunkeln. Sonnenlicht wirkt daher morphogenetisch wie Hellrot.

Materialien:

- 5 Petrischalen
- Küchenrolle (auf ca. 8 – 9 cm Durchmesser zuschneiden)
- 250 Salatachänen (*Lactuca sativa* L.)
- Pinzetten (bitte selbst mitbringen)
- 1 schwarzer Kasten
- Kreide bzw. Beschriftungsband (Aufkleber)
- Bestrahlungseinrichtungen:
 - Hellrotlicht (HR)
 - Dunkelrotlicht (DR)
- als Arbeitslicht: Grünlicht

Versuchsdurchführung:

- Aussaat der Salatachänen:

Jede der 5 Petrischalen wird beschriftet und mit 1 bis 2 Lagen der Küchenrolle ausgelegt. Es werden nun pro Petrischale 50 Achänen möglichst gleichmäßig auf dem trockenen Filterpapier verteilt.

- Quellen der Salatachänen:

Im gequollenen Zustand dürfen die Salatachänen wegen ihrer großen Lichtempfindlichkeit nur dem Grünlicht und dem für die Bestrahlung vorgesehenen Licht ausgesetzt werden. Die Arbeitszeit im Grünlicht sollte möglichst auf ein Minimum reduziert werden und die Salatachänen nach der Wasserzugabe stets im Dunkeln gehalten werden. Das Papier in den Petrischalen wird nun im Dunkelraum unter Grünlicht vorsichtig mit A. dest angefeuchtet – bitte aufpassen, dass die Samen nicht aufschwimmen und sich alle an einer Stelle sammeln. Nach einer Quelldauer des Küchenpapiers von einigen Minuten wird soviel Wasser zugegeben, dass das Wasser gerade etwas über dem Papier steht. Die Schalen in dem schwarzen Kasten 1 Stunde zum Quellen der Achänen stehen lassen.

- Bestrahlung der Salatachänen:

Es werden vier verschiedene Bestrahlungen durchgeführt:

1. Schale: HR
2. Schale: DR
3. Schale: HR dann DR
4. Schale: HR dann DR dann HR

Die 5. Schale soll einem Kontrollversuch dienen, der selbständig anzulegen ist.

Die Bestrahlung erfolgt bei jeder Lichtqualität 2 min. bei geöffnetem Deckel. Es muß darauf geachtet werden, daß die Schalen kein Streulicht anderer Lichtqualität erhalten (Schalen immer wieder in den schwarzen Kasten zurückstellen). Nach Ende der Bestrahlung wird der schwarze Kasten beschriftet und in den Dunkelraum (25°C) unter dem Hörsaal gestellt.

Weitere Versuche:

1. Eine Gruppe soll untersuchen, wie lange die Samen quellen müssen, damit sie lichtempfindlich werden. In 7 Petrischalen werden wie oben beschrieben Salatachänen ausgelegt. Das Filterpapier wird nun nicht im Dunkelraum angefeuchtet, sondern am Fenster. Zu den Zeitpunkten $t = 0, 5, 10, 15, 20, 30, 60$ min wird jeweils eine Petrischale dunkel gestellt. Ab welchem Zeitpunkt erhöht sich die Keimungsrate?

2. Eine Gruppe bekommt Saatgut von unterschiedlichen Salatsorten. Je Sorte werden 4 Petrischalen mit Salatachänen wie oben beschrieben ausgelegt. 2 Petrischalen jeder Sorte werden mit HR belichtet, die anderen beiden Petrischalen werden nicht belichtet. Je eine belichtete und eine unbelichtete Petrischale jeder Sorte werden nun bei ca. 20 °C (Raumtemperatur) oder bei 30 °C über Nacht inkubiert. Ist das Keimungsverhalten der Sorten gleich?

Auswertung:

Nach 24 h werden die gekeimten Achänen ausgezählt, es gelten solche Achänen als gekeimt, bei denen eine Keimwurzel sichtbar ist. Bitte auch auf Unterschiede in der Entwicklung achten.

Versuch 2: Physiologie und Anatomie von *Paramecium caudatum*

Bei dem Protozoa *Paramecium caudatum* handelt es sich um einen der höchst entwickelten Einzellern. Wegen seiner Größe lässt er sich leicht in vivo unter dem Mikroskop beobachten. Die Oberfläche von *Paramecium* ist dicht mit Cilien bedeckt, die sowohl der

Nahrungsaufnahme, als auch der Fortbewegung dienen. Mit Hilfe dieser Cilien strudelt *Paramecium* kleine Nahrungspartikel (meist Bakterien) zum Zelmund, wo diese durch Endocytose selektiv aufgenommen werden können und in Gastriolen eingeschlossen werden (Phagocytose). Nach der Bildung der Gastriolen durchlaufen diese in einer Cyclose die Zelle, werden verdaut und die Abfallprodukte werden durch Exocytose aus der Zelle geschleust.

Der gesamte Verlauf der Nahrungsaufnahme und Verdauung soll anhand dieses Versuchs im Praktikum beobachtet und dokumentiert werden. Anstatt der natürlichen Nahrung, die meist aus Bakterien besteht, können auch mit Kongorot angefarbte Hefezellen als Nahrung dargeboten werden. Kongorot weist im neutralen und schwach alkalischen Bereich eine deutliche Rotfärbung auf, schlägt jedoch bei einem pH von 3 in Blau um. Durch die Färbung lassen sich die gebildeten Gastriolen im *Paramecium* gut beobachten. Die Verschmelzung der Gastriolen mit Acidosomen und Verdauungsenzymen enthaltenden Lysosomen lässt sich anhand des Farbumschlags erkennen. Dieser Prozess ist mit einer Ansäuerung des Gastrioleninhalts verbunden.

Material:

- *Paramecium caudatum* Kultur
- Protoslow
- Hohlschliffobjektträger
- Pipetten
- Hefezellen mit Kongorot angefarbt
- Mikroskop

Durchführung:

1. 2 - 3 Tropfen der *Paramecium* Kultur auf einen Hohlschliffobjektträger geben und unter dem Mikroskop bei niedriger Vergrößerung beobachten. Kein Abdecken durch einen Objektträger, da später noch andere Lösungen hinzugegeben werden. Aufpassen, dass das Objektiv nicht in die Lösung eintaucht.
2. Die Bewegung der Paramecien kann verlangsamt werden durch:
 - Einengung der Bewegungsfreiheit indem das Deckgläschen schräg aufgelegt wird
 - Zugabe von 2 Tropfen 1 %iger Methylcellulose auf 1 Tropfen *Paramecium* Kultur
3. Fütterung von *Paramecium caudatum*: Hinzugabe von 2 Tropfen Hefezellen, abdecken mit einem Deckgläschen und ein *Paramecium* bei 400-facher Vergrößerung längere Zeit beobachten.

Aufgaben:

- Zeichnen und Beschriften eines *Parameciums* mit allen erkennbaren Organellen.
- Einzeichnen des Verlaufs der Cyclose. Wie lange dauert es von Endocytose bis zur Exocytose, wo findet der Farbumschlag statt?

8. PRAKTIKUMSTAG

Sinnesphysiologie und Stoffwechselregulation

Die zu diesen Versuchen benötigten Messapparaturen und Anleitungen zu den Messvorgängen werden vor Kursbeginn von den Tutoren oder dem Lehrveranstalter erklärt.

Versuch 1: Exkretion und Nierenfunktion

Einleitung

Exkretion und Osmoregulation dienen im weitesten Sinne der Konstanthaltung des inneren Milieus von tierischen Organismen. Unter Exkretion versteht man die Ausscheidung von Stoffen, die eine für den Organismus tolerierbare Konzentration überschreiten. Unter Osmoregulation werden alle Prozesse zusammengefaßt, die mit der Regulation des Salz- und Wasserhaushaltes in Verbindung stehen.

An dieser Stelle kann nur eine kurze Einführung in die Funktionsweise der Säugerniere geliefert werden. Alle grundlegenden Informationen auf morphologischer, physiologischer und physikalischer Ebene, sollten aus den einschlägigen Lehrbüchern entnommen werden.

Die Funktionseinheit der Säugerniere ist das Nephron. Es besteht der Reichenfolge nach aus dem Malpighischen Körperchen, in dem der Primärharn durch Druckfiltration gebildet wird. Dieses Filtrat tritt in den proximalen Tubulus über, in dem die meisten noch verwertbaren Stoffe resorbiert werden. Außerdem wird hier der größte Teil des Flüssigkeitsvolumens, angetrieben durch den aktiven Na^+ -Transport, zurückgewonnen. Im Zuge des Ladungsausgleichs folgen Anionen wie Cl^- den Na^+ -Ionen passiv. Andere organische Harnbestandteile (besonders niedermolekulare Bestandteile wie z.B. Glukose und Aminosäuren) werden durch Na^+ -Co-Transportmechanismen resorbiert. Das Wasser folgt, um den osmotischen Ausgleich wiederherzustellen. Einige Stoffe wie Pharmaka werden aktiv sezerniert.

Es folgt die Henlesche Schleife, deren absteigender Ast für Na^+ , Cl^- nahezu impermeabel ist, während das Epithel völlig durchlässig für Wasser ist. Die Osmolarität der interstitiellen Flüssigkeit (die den absteigenden Ast umgibt) nimmt von der Außenzone der Rindenschicht zur Innenzone der Markschicht kontinuierlich zu. In der Folge wird der Primärharn zunehmend entwässert. Im wasserundurchlässigen, aufsteigenden Ast diffundiert NaCl zunächst passiv in die interstitielle Flüssigkeit und im dicken Segment des aufsteigenden Astes aktiv ins Interstitium resorbiert (aktiver Cl^- Transport, Na^+ folgt vor allem passiv). Dadurch entsteht mit Hilfe des Gegenstromaustauscherprinzips ein osmotischer Gradient im Nierenmark.

Im distalen Tubulus beginnt die Bereitung des Endharns durch eine weitere aktive Na^+ -Resorption, die durch das Hormon Aldosteron geregelt wird. Auch hier können H_2O und Cl^- dem Na^+ folgen.

Im Sammelrohr, welches durch das Nierenmark in das Nierenbecken führt, wird der eigentliche Endharn gebildet. Die H_2O -Permeabilität der Sammelrohrwände wird durch das antidiuretische Hormon (ADH) geregelt. Ist ADH vorhanden, sind die Sammelrohrwände wasserdurchlässig. Infolgedessen wird dem Harn Wasser aufgrund der hohen osmotischen Konzentration im Nierenmark entzogen. Es entsteht also ein eingedickter Endharn, da die Salzpermeabilität im Sammelrohr schlecht ist.

Die Regulation der Nierenfunktion ist sehr komplex. Einige der für das Praktikum relevanten Aspekte werden im folgenden vorgestellt:

Normalzustand (= Antidiurese)

Beim Übergang des Lebens vom Wasser auf das Land wurde es notwendig, dass die Endprodukte des Stoffwechsels mit einer möglichst geringen Wassermenge ausgeschieden werden. Diese beträgt ca. 1 – 1,5 l/24 h. Um alle Stoffwechselendprodukte ausscheiden zu können, muß der Urin gegenüber dem Plasma konzentriert werden (Plasmaosmolalität = 290 mosmol/kg). Dies wird durch den Gegenstrommechanismus im Nierenmark bewerkstelligt. Die maximale osmotische Konzentration des menschlichen Urins beträgt ca. 1200 mosmol/kg. Normalerweise scheiden wir einen Urin von ca. 900 – 1000 mosmol/kg aus. Eine erhöhte Urinabgabe wird als Diurese bezeichnet.

Wasserdiurese

Eines der für die Osmoregulation wichtigen Hormone ist das antidiuretische Hormon (ADH; antidiuretisch = wirkt der Harnabgabe entgegen). Es wird in einer Hirnregion produziert, die man als Hypothalamus bezeichnet, und von der Hypophyse, einer unmittelbar unterhalb des Hypothalamus gelegenen Drüse, gespeichert und freigesetzt.

Ein Ansteigen der Osmolarität im Blutplasma, d. h. ein Wasserverlust (z. B. Durchfall, starkes Schwitzen), löst über Rezeptoren und Nervenbahnen im Hypothalamus eine gesteigerte Produktion und im Hypophysenhinterlappen eine gesteigerte Abgabe des ADH aus, wodurch einer weiteren Konzentrierung des Blutes entgegengewirkt wird. Bei Anwesenheit des Hormons ist die Wand der Sammelrohre gut permeabel für Wasser, so dass dem Harn auf seinem Weg durch das Nierenmark osmotisch Wasser entzogen wird.

Trinkt man dagegen z. B. 1,5 l Wasser, so wird das Plasma leicht hypoosmolal. Die Änderung der Osmolalität wird durch Osmorezeptoren im Hypothalamus registriert. Als Folge wird die Rate der Nervenimpulse, die vom Hypothalamus zum Hypophysenhinterlappen laufen, erniedrigt und dadurch die Ausschüttung von ADH vermindert. Bei Fehlen von ADH wird die Wasserpermeabilität der distalen Tubuli und der Sammelrohre stark erniedrigt, so dass weniger Wasser resorbiert werden kann und dadurch ein größeres Harnvolumen ausgeschieden wird.

Nach Trinken der 1,5 l Wasser dauert es einige Zeit, bis eine Diurese eintritt, da das Wasser resorbiert und das bereits im Blut befindliche ADH abgebaut werden muß. Die Halbwertszeit des ADH im Plasma ist 7½ Minuten. Da nur 12 – 15% des Ultrafiltrats in das ADH-empfindliche Segment gelangen, ist dies zugleich die theoretische Obergrenze für eine maximale Wasserdiurese, nämlich ein Urinzeitvolumen von maximal 15% der glomerulären Filtrationsrate. Durch NaCl-Resorption ohne gleichzeitige Wasserresorption wird der Harn noch stärker hypoosmolal.

Alkohol hemmt die Ausschüttung von ADH. Dadurch verursacht er einen starken Wasserverlust mit dem Urin und dehydriert den Körper.

Osmotische Diurese

Unter einer osmotischen Diurese versteht man die Mehrausscheidung von Harn, die durch das Vorhandensein von osmotisch wirksamen Substanzen im Tubulussystem bedingt ist. Die osmotisch wirksamen Substanzen können körpereigene oder körperfremde Stoffe sein. Beispiele für körpereigene Stoffe sind Glucose oder Harnstoff, die bei einer Erkrankung vermehrt ausgeschieden und/oder vermindert rückresorbiert werden. Körperfremde Stoffe, die eine Diurese auslösen, sind dadurch charakterisiert, dass sie nur schwer rückresorbiert werden können und osmotisch wirksam sind. Ein Beispiel ist Mannitol, das therapeutisch verwendet werden kann und durch Infusion gegeben wird. Nach Gabe von Mannitol wird weiterhin NaCl und Wasser resorbiert. Die Mannitolkonzentration im Harn steigt dabei immer weiter an, bis

die hohe Osmolarität im Harn eine weitere Resorption von Wasser verhindert. Bis zu 40% des Glomerulusfiltrats kann auf diese Weise ausgeschieden werden.

Druckdiurese

Das Volumen des Glomerulusfiltrats zeigt zunächst eine proportionale Abhängigkeit vom arteriellen Blutdruck, um dann jedoch bei weiterer Steigerung des Druckes über 90 mm Hg hinaus konstant zu bleiben. Die Harnabsonderung (nicht die Absonderung von Primärharn) beginnt bei einem Wert von ca. 50 mm Hg. Das Volumen des Harns steigt mit dem arteriellen Blutdruck, unabhängig von der Autoregulation der Nierendurchblutung und der glomerularen Filtratmenge, ziemlich gleichmäßig an, da sich die Durchblutung des Nierenmarks nicht in gleichem Maße wie in der Rinde autoreguliert, sondern zunimmt und deshalb sich die Bedingungen für die Reabsorption des Wassers aus den Sammelrohren verschlechtern. Durch die Markmehrdurchblutung werden osmotisch wirksame Teilchen ausgewaschen, das Nierenmark verliert einen Teil seiner Hyperosmolalität. Als Folge davon wird eine größere Menge eines nur gering konzentrierten Urins ausgeschieden.

Salzausscheidung

Die Natriumausscheidung ist hormonell gesteuert. Normalerweise werden über 99% des NaCl in der Niere resorbiert. Bei akuter NaCl Belastung werden immer noch 90% des NaCl resorbiert. Trinkt ein Mensch ca. 1 l isotone NaCl-Lösung (Brühe), wird das überschüssige NaCl in den nächsten 20 – 30 h bei nur geringer Steigerung des Urinvolumens ausgeschieden.

Glucose

Bei plötzlicher Zufuhr größerer Mengen von Glucose mit der Nahrung steigt der Blutzuckerspiegel vorübergehend an, aber bei weitem nicht in dem zu erwartenden Umfang. Das liegt daran, dass das zuckerreiche Blut vom Darm aus nicht direkt in den Körperkreislauf gelangt, sondern zunächst über die Pfortader zur Leber. Dort wird dem Blut bereits ein beträchtlicher Teil des Zuckers entzogen und in Form von Glycogen in den Leberzellen gespeichert. Bei vorliegen einer normalen Plasmaglukosekonzentration wird Glucose in der Niere normalerweise fast vollständig resorbiert und nicht mit dem Urin ausgeschieden. Erst bei Überschreiten des tubulären Transportmaximums wird Glukose im Urin ausgeschieden. Erhöhte Glucosekonzentrationen im Blut und eine Glucoseausscheidung im Urin findet man bei der Zuckerkrankheit (Diabetes mellitus). Eine erhöhte Glukosekonzentration im Blut kann auch ausnahmsweise durch extreme Hyperalimentation bedingt sein, z. B. durch das Aufnehmen großer Mengen einer glucosereichen Mahlzeit nach vorheriger maximaler körperlicher Arbeit (Marathonlauf, etc.).

Im Praktikumsversuch sollen diese Zusammenhänge zumindest indirekt untersucht werden.

Material:

Getränke	Geräte und Reagenzien:
Salzige Brühe	Knauer Osmometer
schwarzer Tee mit Zucker	500 ml Meßzylinder und Bechergläser
schwarzer Tee ohne Zucker	div. Microcaps
Pfefferminztee mit Zucker	150µl Eppendorfpipetten
Pfefferminztee ohne Zucker	fusselfreies Kleenex
Säfte	
Bier	
Cola	
Isostar	

Durchführung:

Als Versuchspersonen kommen nur jene Praktikanten in Frage, die sicher sind, daß ihre Nieren- und Kreislauffunktion einwandfrei in Ordnung ist.

- Es werden verschiedene Getränke für die Versuchspersonen hergestellt: Salzige Brühe, schwarzer Tee mit und ohne Zucker, Kräutertee (kein Nierentee) mit und ohne Zucker. Bei Zuckerzusatz und Brühe wird die osmotische Konzentration auf die des Blutes (ca. 320 mosmol) eingestellt.
- Vor Beginn des Versuchs wird von jeder Person eine "Nullprobe" genommen: Entleerung der Harnblase, Harn verwerfen, 30 Min. später wiederum Harnblase entleeren, Volumen und Osmolalität bestimmen.
- Unmittelbar anschließend nimmt jede Versuchsperson von dem vorbereiteten Getränk 20 ml/kg Körpergewicht in möglichst 1/4 Stunde zu sich.
- 30 Min. nach dem letzten Harnentleeren wird wiederum die Blase entleert und das Volumen und die Osmolalität bestimmt. Diese Prozedur wiederholt sich alle 30 Min. insgesamt 7 mal nach dem Trinken.
- Osmolalität der Getränke bestimmen und das Körpergewicht der Testpersonen notieren.

Osmolaritätsbestimmung mit dem Knauer-Osmometer;

Einleitung

Die Osmolalität wird mit Hilfe der Gefrierpunktserniedrigung bestimmt. Der osmotische Druck in einer Lösung ist proportional der Erniedrigung des Gefrierpunktes der Lösung. Eine wässrige Lösung, deren osmotischer Druck einer idealen einmolalen Lösung entspricht, gefriert bei $-1,858\text{ }^{\circ}\text{C}$. Eine Lösung mit diesem Gefrierpunkt hat eine Konzentration von 1 Osmol/kg.

Zunächst wird das Wasser, ohne zu rühren, unter den Gefrierpunkt abgekühlt. Hierbei kann Wasser auf $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ unterkühlt werden, ohne dass es gefriert. Durch Betätigung des Vibrators bei einer definierten Unterkühlungstemperatur wird das Gefrieren eingeleitet und die Temperatur des Wassers stellt sich konstant auf den Gefrierpunkt von $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ein.

Bei einer Lösung liegt die Gefriertemperatur unterhalb von $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Die Gefrierpunktserniedrigung ΔT ist ein Maß für die Osmolalität einer Lösung. Sie wird auf dem in Milliosmol/kg geeichten Messinstrument abgelesen.

Bedienungshinweise:

- Bereichsschalter (B) auf Marke einstellen
- in das Meßgefäß 150 µl aqua dest. einfüllen, Gefäß in das Kühlfach einsetzen
- Rührer auslösen, wenn der Zeiger des Meßinstruments die Marke erreicht
- Bereichsschalter auf 400 mosmol stellen, mit linkem Schraubenziehertrimmer auf Null stellen
- Bereichsschalter zurückstellen
- 150 µl Eichlösung 400 mosmol einfüllen, Gefäß einsetzen, bei Erreichen der Marke durch Rühren Gefrieren auslösen

- Bereichsschalter auf 400 mosmol stellen und mit dem rechten Trimmer auf 400 stellen, damit ist das Gerät geeicht!
- Mit den Proben wird im Prinzip genauso verfahren, wobei der Meßbereich je nach Konzentration der Probe einzustellen ist.

Auswertung:

- Erstellung einer Tabelle die alle aufgenommenen Daten enthält
- Graphik 1: das Harnvolumen/kg Körpergewicht wird über der Zeit aufgetragen
- Graphik 2: Osmolalität des Harns über der Zeit auftragen
- Graphik 3: ausgeschiedene osmol (Teilchenzahl)/kg Körpergewicht über der Zeit auftragen
- die Gesamtzahl ausgeschiedener Teilchen (Gesamtosmol)/kg ausrechnen und in Tabelle oder ähnlichem vergleichen
- Es soll diskutiert werden, welche Zusammenhänge zwischen Volumen und Konzentration des Harns bestehen.

Welche Auswirkungen haben die verschiedenen Getränke auf Konzentration und Menge des Harns der einzelnen Personen?

Wie lassen sich die Unterschiede erklären?

Versuch 2: Richtungshören

Liegt eine Schallquelle nicht genau in der Medianebene des Kopfes, so trifft der Schall auf beide Ohren mit einer zeitlichen Differenz auf, die zur Richtungslokalisierung von Schallquellen ausgewertet wird. Die Versuchsperson hält beide Enden eines Schlauches in die Ohren. Klopft man leicht auf die Mitte des Schlauches, so entsteht der Eindruck, der Schall kommt genau von hinten.

Es wird nun die geringste Abweichung (in cm) bestimmt, bei der die Versuchsperson zu 75% die richtige Richtung angeben kann. Aus dieser Abweichung und der Schallgeschwindigkeit (330 m/sec) wird die kleinste wahrnehmbare Zeitdifferenz (msec) bestimmt. Machen Sie Angaben zur Streuung der Meßwerte.

Versuch 3: Unterscheidungsvermögen für Gewichte

Einführung:

Die Sinnesapparate sind so konstruiert, dass eine automatische Anpassung der Empfindlichkeit an den jeweiligen Messbereich stattfindet. Je intensiver ein Reiz S ist, eine desto größere Intensitätssteigerung ΔS ist erforderlich, um wahrgenommen zu werden. Das Webersche-Gesetz besagt, dass die Änderung der Reizintensität, die gerade eben wahrgenommen werden kann ($\Delta\Psi$) ein konstanter Bruchteil (c) der Ausgangsintensität (Ψ) ist.

$$\Delta\Psi/\Psi = c$$

Dieses Gesetz gilt für verschiedenste Sinnesmodalitäten. Es ist allerdings nur im mittleren Intensitätsbereich gültig, während insbesondere bei geringen Reizstärken erhebliche

Abweichungen auftreten. Im folgenden sind einige Beispiele für Intensitätsunterschiede aufgeführt, die im optimalen Fall noch wahrgenommen werden können:

Ohr (Frequenzunterschiede):	0,3 %
Auge (Helligkeitsunterschiede):	1 %
Haut (mechanischer Sinn):	3 %
Andere:	10 – 20 %

Die Absolutschwelle (Schwellenwert) für die Wahrnehmung eines Reizes ist diejenige Reizintensität, bei der ein Reiz in 50 % der Fälle wahrgenommen wird. Die Unterschiedsschwelle für die Wahrnehmung eines Reizes ist derjenige Zuwachs an Reizintensität, ab dem erkannt werden kann, dass sich die Intensität des Reizes vergrößert hat. Ein derartiger ebenmerklicher Unterschied liegt dann vor, wenn er in 75 % der Fälle bemerkt wird.

Material:

Standardgewicht 1: 100 g

7 Vergleichsgewichte zu Standardgewicht 1: 100 g, 105 g, 110 g, 115g, 120 g, 130 g, 150g

Standardgewicht 2: 1000g

7 Vergleichsgewichte zu Standard 2: 1000 g, 1050 g, 1100 g, 1150 g, 1200 g, 1300 g, 1400g

Durchführung

a) Kombinieren Sie jeweils das Standardgewicht Nr. 1 mit einem der anderen 7 Gewichte und präsentieren Sie diese Paare Ihrem Versuchspartner, wobei der Standard zufällig links und rechts dargeboten wird. Nachdem beide Gewichte gleichzeitig angehoben wurden urteilt der Partner zügig, ob das Vergleichsgewicht leichter oder schwerer als das Standardgewicht war. Protokollieren Sie die Ergebnisse. Erstellen Sie vor Versuchsbeginn einen Versuchsplan (Gewichtskombinationen), so daß nach Versuchsende die sieben Kombinationen gleichhäufig dargeboten wurden (je Kombination 10 x rechts und 10 x links = 140 Messungen).

b) Wiederholen Sie den Versuch mit Standardgewicht 2.

Stellen Sie die Ergebnisse graphisch dar und diskutieren Sie die Ergebnisse.

Versuch 4: Bestimmung der Warm- und Kaltpunkte auf der Haut:

In der Haut befinden sich spezifische Warm- und Kaltrezeptoren, die für die Temperaturwahrnehmung verantwortlich sind. Gibt man mit Hilfe einer Sonde einen punktförmigen Wärme- oder Kältereiz auf die Haut, so wird nur an bestimmten Punkten eine Temperaturempfindung wahrgenommen. Im Kurs soll die Anzahl von Warm- und Kaltpunkten auf der Haut bestimmt werden.

Durchführung: Als Sonde verwenden wir die punktförmigen Enden von Drigalski-Spateln. Die Spatelenden werden in Eiswasser bzw. heißem Wasser temperiert. Für den Versuch werden sie aus dem Wasser genommen und mit einem Papiertuch abgetrocknet. Während des Versuchs kann es notwendig sein, den Drigalski-Spatel auf die ursprüngliche Temperatur zu bringen. Auf die zu untersuchende Hautfläche (z. B. die unbehaarte Region des Unterarms) wird ein mm-Raster von 2 cm x 2 cm aufgetragen. Ein entsprechendes Raster wird auf Papier aufgetragen. Nun werden die Punkte des Rasterfeldes auf Wärme- und Kälteempfinden getestet. Warm- und Kaltpunkte werden in dem Raster eingetragen. Warm- und Kaltsonde

können in unregelmäßigem Abstand gewechselt werden. Vor Versuchsbeginn an einer anderen Hautfläche den Unterschied zwischen Temperaturempfinden und Tastempfinden ausprobieren. Die Versuchsperson soll während des Versuchs die Augen geschlossen halten.

Versuch 5: Physiologie des Geschmacksinns

Prüfung der Verteilung der Geschmacksrezeptoren auf der Zungenoberfläche.

Mit Hilfe des Geschmackssinnes kann der Mensch vier verschiedene Qualitäten unterscheiden: süß, sauer, salzig und bitter. Die Geschmackssinneszellen befinden sich beim Erwachsenen hauptsächlich auf der Zungenoberfläche. Darüber hinaus können auf von Teilen des weichen Gaumens, des Gaumensegels und sogar der hinteren Rachenwand Geschmacksempfindungen ausgelöst werden. Bei Säuglingen findet man Geschmackszellen auch an den Lippen und der Wangenschleimhaut.

Geschmackssinneszellen sind gemeinsam mit „Stützzellen“ morphologisch zu sogenannten Geschmacksknospen in Epithel der Zungenpapillen gruppiert. Wichtig für die Geschmacksfunktion sind Drüsenzellen, die neben den Papillen (Vereinigungen von bis zu 200 Knospen) liegen und deren Sekret die Papillen umspült. Die Geschmacksknospen sind durch Poren mit der Zungenoberfläche verbunden.

Im Praktikum soll die Verteilung der jeweiligen Rezeptoren auf der Zunge untersucht werden. Sind sie alle gleichmäßig auf der Zunge verteilt oder gibt es bestimmte Zonen, in denen ein Typ gehäuft vorkommt?

Durchführung:

Als Geschmacksproben stehen 4 verschieden schmeckende Lösungen zur Verfügung:

Salzig: 5% Kochsalzlösung, süß: 5% Zuckerlösung, sauer: 2% Weinsäurelösung und bitter: 0,1% Chinin- Sulfat- Lösung.

Die einzelnen Versuchslösungen werden mit Hilfe eines Watteträgers punktförmig auf die Zungenoberfläche der Versuchsperson aufgetragen. Die Versuchsperson gibt für jeden Reiz an, ob und welchen Geschmack sie empfindet. Der Protokollant trägt die Empfindungen in das vorgegebene Schema ein. Für die einzelnen Geschmäcker werden unterschiedlich Farben verwendet: Süß- weiß, sauer- rot, bitter- gelb, salzig- schwarz.

Welch Verteilung ergibt sich für die Geschmacksknospen auf der Zunge?

Versuch 6: Auswertung des Phytochromversuchs

Zum Ende des Praktikumtages wird der Phytochromversuch des Vortages nach Scriptangaben ausgewertet (s. Versuch 2, 7. Praktikumstag, -Auswertung).

9. PRAKTIKUMSTAG

Phylogenie und Auswertungen

Begriffsklärungen

Homologie: Ursprungsgleichheit; eine nicht zufällige Übereinstimmung aufgrund gemeinsamer Abstammung

Konvergenz: Ausbildung von nicht homologen Übereinstimmungen aufgrund von Funktionsgleichheit oder Anpassung an die gleiche Lebensweise

Analogie: Aufgrund von Konvergenz erworbene Ähnlichkeit, d. h. Übereinstimmung in Strukturen gleicher Funktion, die sich jedoch auf einen verschiedenen Grundbauplan zurückführen lassen bzw. die unabhängig voneinander in unterschiedlichen Evolutionszweigen herausgebildet wurden. Z. B. die Knollen der Kartoffel und der Dahlie, beide dienen der Speicherung von Reservestoffen, doch sind die Kartoffelknollen verdickte Sprosse, die Dahlienknollen verdickte Wurzelgebilde

Homologiekriterien: Es gibt drei Kriterien nach denen das Vorliegen einer Homologie überprüft werden kann (Remane, 1952):

1. **Die Lage im Gefügesystem** (Anzahl und relative Lage im Bauplan einer Organismenreihe)
2. **Die spezifische Qualität:** je komplexer zwei unterschiedliche Strukturen sind, desto weniger wahrscheinlich ist es, dass sie sich unabhängig voneinander entwickelt haben
3. **Die Kontinuität:** Gestaltlich stark abgewandelte Strukturen werden als homolog betrachtet, wenn sie über Zwischenformen miteinander verknüpft sind. z. B. in der Ontogenese (der Entwicklung des Organismus, z. B. Embryonalstadien) oder bei Vorhandensein rezenter oder fossiler Zwischenformen

plesiomorphe Merkmale: ursprüngliche Merkmale, die bereits bei dem gemeinsamen Vorfahren existieren

Symplesiomorphien: ursprüngliche Merkmale, die bereits bei einem weiter zurückliegenden Vorfahr auftraten. Diese Merkmale treten daher nicht nur bei dem gerade betrachteten Zweig des Kladogramms auf, sondern auch in anderen Zweigen des Kladogramms

apomorphe Merkmale, : abgeleitete Merkmale, die erst in jüngerer Zeit entstanden sind und die nicht bei dem gemeinsamen Vorfahr existieren

Autapomorphie: abgeleitete Eigenmerkmale eines Taxons, also Merkmale die nur in diesem Taxon zu finden sind

Synapomorphien: gemeinsamer Besitz eines abgeleitete Merkmals bei Schwestertaxa: das sind Homologien, die bei dem gemeinsamen Vorfahr der Schwestertaxa entstanden, in den anderen Zweigen des Kladogramms aber nicht existieren.

Lesrichtung: Klärung ob ein Merkmal plesiomorph oder apomorph ist; dazu Vergleich mit der Außengruppe, mit verwandten Arten, fossilen Vorfahren, der Ontogenese der Art.

monophyletisches Taxon: ein einziger Vorfahr hat alle Arten des Taxons, aber keine zu einem anderen Taxon gestellten Spezies hervorgebracht

polyphyletisches Taxon: die Glieder eines Taxons stammen von zwei oder mehreren Ahnenformen ab

paraphyletisches Taxon: es geht aus einem gemeinsamen Vorfahr hervor, der aber nicht nur in diesem Taxon enthaltenen Arten gemeinsam ist.

Taxon: eine taxonomische Kategorie

Kladistik: Lebewesen werden anhand der zeitlichen Reihenfolge ihrer Entstehung klassifiziert – das Ausmaß an evolutionärer Divergenz zwischen den Organismen wird nicht berücksichtigt

Kladogramm: ein aus gabelartigen Verzweigungen bestehender Stammbaum, der durch apomorphe Merkmale begründet ist.

Beispiel für den heutigen Kurstag

Das Taxon der Mammalia (Säugetiere) umfasst die Taxa der Monotremata (Kloakentiere), Marsupialia (Beuteltiere) und Placentalia (Plazentatiere).

Fragestellung: Wie sieht das Verwandtschaftsverhältnis von Monotremata, Marsupialia und Placentalia aus?

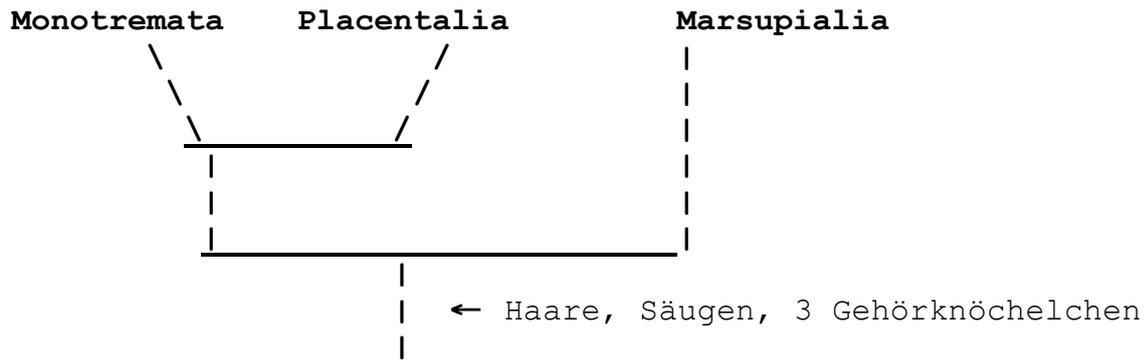
1. Schritt: Aufstellen einer Merkmalstabelle

Es sollten nur homologe Merkmale in der Tabelle berücksichtigt werden. Die Homologie wird anhand der Homologiekriterien überprüft. Wenn dann a priori keine Konvergenzen festgestellt werden konnten, kann das Merkmal berücksichtigt werden. Dabei ist es wichtig, dass die Innengruppe (Monotremata, Marsupialia und Placentalia) monophyletisch ist, so dass keine Arten der Innengruppe in der Außengruppe auftauchen. Dies könnte zu einer irreführenden Bewertung der Merkmale führen. Wenn die Merkmalstabelle nicht sorgfältig aufgestellt ist, können die gesamten darauf folgenden Schritte zu Fehlern führen. Betonenswert ist, dass man beim Aufstellen einer solchen Tabelle gezwungen ist, bei jedem Taxon festzustellen, ob ein Merkmal vorhanden ist oder nicht. Wertet man für die Erstellung der Merkmalstabelle Bücher aus, ist dies oftmals ein großes Problem.

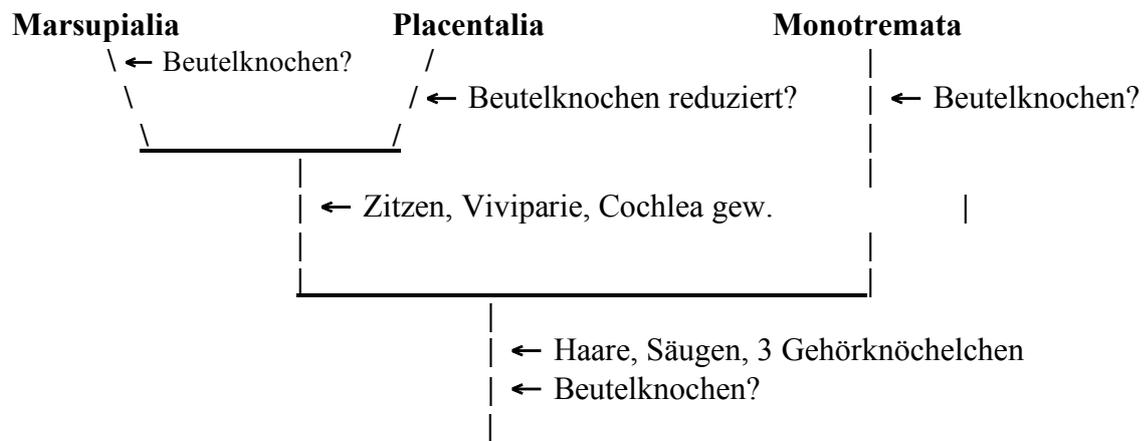
Merkmal	Monotremata	Marsupialia	Placentalia	Außengruppe Vögel, Echsen
Sporn- und Schenkeldrüse	+	-	-	-
Monophyodontie (nur 1 Zahngarnitur)	(-)	+	-	-
Allantoisplazenta	-	-	+	-
Wirbelsäule	+	+	+	+
Haare	+	+	+	-
Eierlegend	+	-	-	+
Viviparie	-	+	+	-
Cochlea gewunden	-	+	+	-
Zitzen	- (Milchfeld)	+	+	-
Säugen der Jungen	+	+	+	-
3 Gehörknöchelchen	+	+	+	-
Beutelknochen	+	+	-	-

Das Merkmal „Wirbelsäule“ findet sich sowohl in der Außengruppe, als auch bei den drei Taxa der Innengruppe. Es ist eine Sympleiomorphie und trat bereits bei einem gemeinsamen Vorfahren vor Abspaltung der Innengruppe auf. Die Merkmale „Säugen der Jungen“, „Haare“ und „3Gehörknöchelchen“ sind für die Gruppe der Monotremata, Marsupialia und Placentalia ein plesiomorphes Merkmal, das bereits bei einem gemeinsamen Vorfahr auftrat. Gegenüber der Außengruppe stellen diese Merkmale Autapomorphien dar, die das Taxon der Mammalia als eine monophyletisches Taxon von der Außengruppe abgrenzen. Die ersten drei Merkmale begründen die Monophylie der Monotremata, Marsupialia und Placentalia. Jedes der Merkmale ist jeweils für eine der Gruppen apomorph. Um nun innerhalb der Dreiergruppe Schwestergruppen zu bilden, muß nach weiteren Merkmalsunterschieden gesucht werden. Ist so ein Merkmal gefunden, z. B. „eierlegend“ so muß die Lesrichtung festgelegt werden, d. h. ist das Eierlegen bei den Monotremata apomorph (abgeleitet) oder plesiomorph (ursprünglich)? Ein Vergleich mit der Außengruppe deutet darauf hin, dass es sich um ursprüngliches Merkmal handelt, während die Viviparie hier ein abgeleitetes Merkmal ist. Theoretisch lassen sich drei Stammbäume für die Verwandtschaft der drei Gruppen aufstellen:

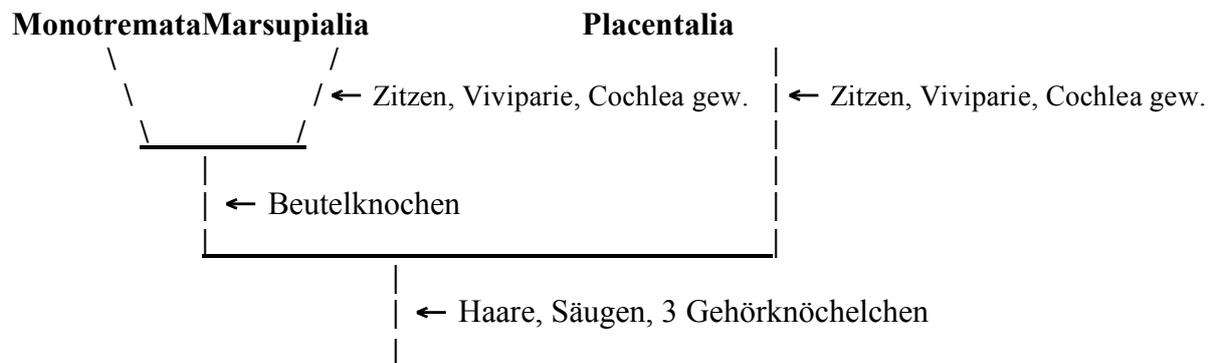
A



B



C



In der Merkmalstabelle finden sich keine Hinweise, die Stammbaum A (Hypothese Monotremata und Placentalia sind Schwestergruppen) stützen. Für die Hypothese, dass Monotremata und Marsupialia Schwesterngruppen sind (Stammbaum C) ist die Existenz von Beutelkochen ein Argument. Die dritte Hypothese – Marsupialia und Placentalia sind Schwesterngruppen (Stammbaum B) ist durch die Merkmale „Zitzen“, „Viviparie“, „Cochlea gewunden“ belegt.

Bei der Auswertung der Merkmalstabelle ergibt sich also ein Widerspruch. Nimmt man an, dass das Merkmal „Beutelknochen“ apomorph ist, so muß man davon ausgehen, dass „Zitzen“, „Viviparie“, „Cochlea gewunden“ Analogien sind. Dies ist beim gleichzeitigen Auftreten mehrere komplexer Merkmale allerdings sehr unwahrscheinlich. Eine andere

Möglichkeit ist, dass der Beutelknochen ein ursprüngliches Merkmal ist, das bei den Placentalia reduziert wurde. In der Außengruppe tritt der Beutelknochen allerdings nicht auf.

Durch erneutes Prüfen der Merkmale muß versucht werden diesen Widerspruch aufzulösen. Möglicherweise ergeben sich Hinweise, dass ein Fehler beim Homologisieren gemacht wurde und die Struktur eigentlich konvergent ist (Konvergenzfeststellung a posteriori durch Konflikte mit der Stammbaumhypothese). Möglicherweise wurde auch eine Struktur reduziert. Ein Studium der Ontogenese oder fossiler Vorfahren könnte Hinweise darauf geben. Eine Prüfung fossiler Funde ergibt, dass fossile Vorfahren der drei Gruppen Beutelknochen hatten. Der Beutelknochen ist für die Mammalia apomorph, da er sonst in keiner Gruppe auftritt. Die Reduktion ist wiederum eine Apomorphie der Placentalia. Kann der Widerspruch nicht aufgelöst werden, so muß zunächst der Stammbaum als vermutlich richtig angenommen werden, für den mehr Argumente sprechen. Stammbaum B ist sehr viel wahrscheinlicher, da zwei sehr komplexe Merkmale wie Viviparie und Zitzen für eine Zusammengehörigkeit der Marsupialia und Placentalia sprechen.

Man darf nicht aus den Augen verlieren, dass es sich hier um eine Hypothese handelt, die jederzeit zur Disposition steht und immer wieder neu geprüft werden muß, wenn neue Taxa oder neue Merkmale einbezogen werden. Treten dann keine neuen Widersprüche auf, nimmt die Wahrscheinlichkeit der Hypothese zu. Es kann jedoch auch sein, dass durch das Hinzufügen neuer Merkmale und Taxa diese Hypothese gegenüber einer anderen an Wahrscheinlichkeit verliert.

Im Kurs sollen Sie die folgenden 3 Beispiele bearbeiten:

1. Merkmalstabelle

Merkmale	Gibbon	Orang- Utan	Gorilla	Schimpan- se	Mensch	Außen- gruppe: Loris und Lemuren
Greifhand	+	+	+	+	+	+
fehlender Schwanz	+	+	+	+	+	-
Reduzierte Sitzschwielen	-	+	+	+	+	-
paarige Stirnhöhlen	-	-	+	+	+	-
Knöchelgang	-	-	+	+	-	-
Scheitelkamm	-	-	+	-	-	-
Genitalschwellung der Weibchen	-	-	-	+	-	-
46 Chromosomen	-	-	-	-	+	-
S-förmig gestaltete Wirbelsäule	-	-	-	-	+	-

Erstellen Sie mit Hilfe der Merkmalstabelle ein Kladogramm. Diskutieren Sie die Eignung dieser Merkmalstabelle (z. B. sind die Daten ausreichend?).

2. Merkmalstabelle

Merkmale	Schildkröten	Squamaten	Krokodile	Vögel	Säugetiere	Außengruppe
Wirbelsäule	+	+	+	+	+	+/-
Amnion	+	+	+	+	+	-
Hautschuppen	+	+	+	+	+/-	-
Rechter Aortenbogen trägt Carotiden	+	+	+	+	-	-
Arterien zweigen von Carotiden ab	+	-	+	+	-	-
präorbitales Fenster	-	-	+	+	-	-
Foramen mandibulare	-	-	+	+	-	-
Federn	-	-	-	+	-	-
Foramen panizzae	-	-	+	-	-	-
Hornpanzer	+	-	-	-	-	-
Schädel katapsid	-	+	-	-	-	-
Schnabel	+	-	-	+	-	-
Haare	-	-	-	-	+	-
Säugen der Jungen	-	-	-	-	+	-

Squamaten (Schuppenkriechtiere): u. a. Eidechsen, Gekko, Schlangen.

Erstellen Sie mit Hilfe der Merkmalstabelle ein Kladogramm. Diskutieren Sie die Eignung dieser Merkmalstabelle.

3.

Art 1 ATG GAG CGT CTG CAA TTC

Art 2 ATG GAG CGT CTG CAG TTC

Art 3 ATG GAC CGA CTA GAT TTC

Art 4 ATG GAT CGG CTC GAT TTC

Oben dargestellt sehen Sie die DNA Sequenz des Gens Evolvo der Arten 1, 2, 3, und 4. Erstellen Sie unter Berücksichtigung der Sequenzdaten einen Stammbaum für die aufgeführten Arten. Wie gehen Sie vor? Können Sie eine Merkmalstabelle aufstellen? Können Sie sich Schwierigkeiten vorstellen, die sich bei der Verwendung von DNA-Sequenzen zur Erstellung von Stammbäumen ergeben? Können Sie die Homologiekriterien anwenden?

10. PRAKTIKUMSTAG

Zoologische Evolution und Systematik Exkursion in das Botanische Museum