

**Fakultät für Biowissenschaften
Matthias-Schleiden-Institut
Allgemeine Botanik**

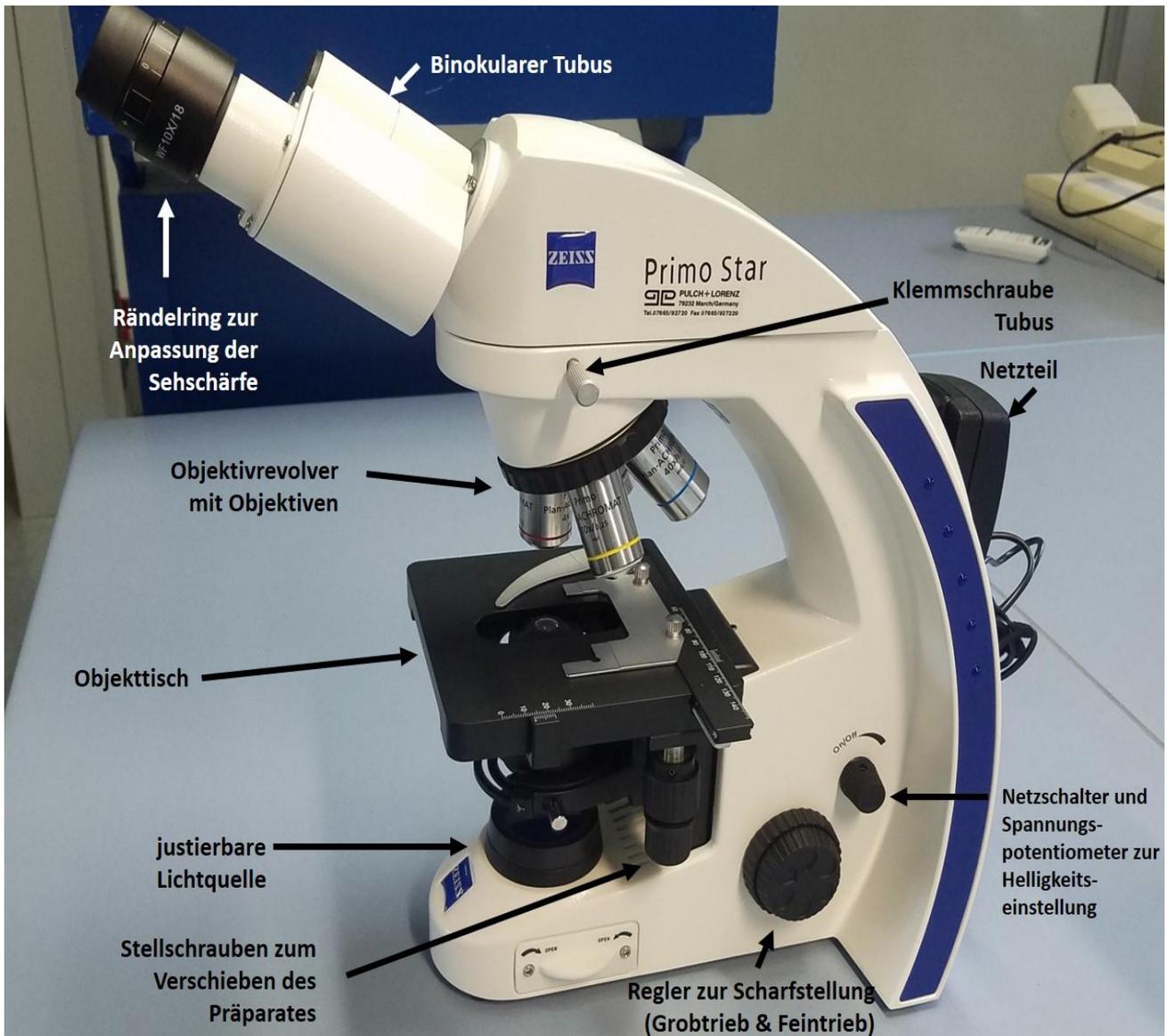
Botanisches Grundpraktikum

(BB009, BBC003, LBioBot1)



Habt Ehrfurcht vor den Pflanzen, denn alles lebt durch sie.
J.W.v.Goethe

Aufbau des „Primo Star“-Mikroskops



Hinweis

Wir bitten sehr, die Geräte, vor allem die **Mikroskope**, pfleglich zu behandeln.

Für Schäden, die auf unsachgemäße Handhabung zurückzuführen sind, haftet der Benutzer.

Die Handhabung der Mikroskope und die Herstellung der Präparate sowie die richtige Zeichentechnik werden jeweils in der Vorbesprechung zu jedem Kurs erläutert.

Bitte bringen Sie nachfolgend genanntes Arbeitsmaterial zu den Übungen mit:

- Bleistifte unterschiedlicher Härte
- Rasierklingen (traditionell)
- Objektträger
- Deckgläser
- Zeichenpapier
- Laborkittel

Erläuterung der Abkürzungen im Lehrprogramm:

- LB** „Strasburger – Lehrbuch der Pflanzenwissenschaften“ (begr. von Strasburger u.a., 37. Auflage, Springer Verlag Heidelberg, Berlin, 2014)
- WN** „Allgemeine und molekulare Botanik“ (Weiler, Nover, 1. Auflage, Thieme Verlag Stuttgart, New York, 2008)
- N** „Allgemeine Botanik“ (Nultsch, 11. Auflage, Thieme Verlag Stuttgart, 2001)
- R** „Biologie der Pflanzen“ (Raven, Evert, Eichhorn, 4. Auflage, De Gruyter Verlag Berlin, New York, 2006)
- W** „Mikroskopisch-Botanisches Praktikum“ (Wanner, 3. Auflage, Thieme Verlag Stuttgart, New York, 2017)
- P** „Pflanzenanatomisches Praktikum I“ (Braune, Leman, Taubert, 9. Auflage, Springer Verlag Heidelberg, Berlin, 2007)
- Z** Zeichnung

- Leistungskontrollen:
- durch ständige Konsultationen am Arbeitsplatz
 - durch seminaristische Auswertung der Vorbereitungsarbeit zu jedem Kurs

Der Stoffinhalt der Vorlesung „Allgemeine Botanik“ stellt die Voraussetzung für das gesamte Praktikum dar. Nachstehend sind die Schwerpunkte zu den einzelnen Kursen zusammengefasst. Die Darstellung des Stoffes finden Sie in den folgenden Lehrbüchern: LB, WN, N, R. Bitte suchen Sie sich die entsprechenden Kapitel selbst heraus und bereiten Sie sich zu jedem Kurs theoretisch vor!

Kurs	Schwerpunkte
1	Zelle, allgemein; Bau und Fkt.; Zellorganellen; Biomembranen incl. Transportmechanismen; Ionenfalle
2	Zellkern; Zellteilungen; Plastiden: Bau, Funktion, Typen, Pigmente (+ Strukturformel)
3	Osmose/Diffusion; Bedeutung des Wasserhaushalts; Herstellung von molaren Lösungen und Verdünnungen; primäre Abschlussgewebe; Plasmolyse
4	Bau und Funktion des Laubblattes; Morphogenese/Histogenese; Unterschiede Laub-/Nadelblatt; Unterschied Blattaufbau bei Mesophyten, Xerophyten und Hygrophyten
5	Aufbau der Spaltöffnung; Funktionsweise und Physiologie der Schließbewegung (inkl. Signalweg bei Wasserstress); Photosynthese bei C ₃ -, C ₄ - und CAM-Pflanzen; RubisCO; Photorespiration; Bündelscheide
6	Unterschiedliche pflanzliche Gewebe; Festigungsgewebe; Feinbau und Entstehung der Zellwand; Cellulose; Lignin
7	Bau der primären Sprossachse; Gewebedifferenzierung in der Sprossspitze; Leitbündeltypen und deren Vorkommen; Zelltypen im Leitbündel und deren Funktion; Wassertransport in der Sprossachse
8	Sekundäre Sprossachse; Holzbildung; Tüpfel; Gefäßtypen; Bau des Coniferenholzes; Unterschiede zwischen Gymnospermen- und Angiospermenholz; Dilatation und Jahresringe; Sekundäres Abschluss- und Durchlüftungsgewebe; Peridermbildung
9	Bau und Funktion der Wurzel; Wurzelhaare: Entwicklung und deren Funktion; Endodermis/Exodermis; radialer Wassertransport in der Wurzel; Seitenwurzelbildung
10	Enzyme; Bau, Funktion, Enzymklassen; Reaktionskinetik enzymatischer Reaktionen (Michaelis-Menten, RGT-Regel); Enzymregulation; Zuckerchemie; Herstellung von Pufferlösungen, Einstellen des pH-Wertes von Puffern; Vollständiger Stärkeabbau mit Reaktionsschritten und beteiligten Enzymen
11	Bewegungstypen: Nastie, Tropismus; Hygroskopische Bewegungen; Chemische Ursachen der Quellung; Wiederholung: Zellwand: Reizphysiologie am Beispiel der Mimose, Vergleich zu Spaltöffnungen
12	Taxis; Bau und Entwicklungszyklus von <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> ; Anforderungen an einen Modellorganismus; Wirkung von Chloramphenicol und Cycloheximid; Geißelbau; Photorezeptoren; Absorptionsspektren; Circadiane Rhythmik

1. Kurs: Zelle I

Jede angefertigte Zeichnung sowie die Protokolle müssen folgende Beschriftung tragen: Links oben: Zeichnungsobjekt (lat. Name), Gewebe, Schnittrichtung, Beobachtungsziel, Färbemethode (falls angewendet), genutzte Vergrößerung. Rechts oben: Name, Vorname, Matrikelnr., Datum.

Dies gilt für das gesamte Semester.

Anfertigung eines mikroskopischen Präparates von einem Blatt der Sumpfschraube (*Vallisneria spiralis*)

Allgemeines:

Bei *Vallisneria spiralis* handelt es sich um eine einkeimblättrige, subtropisch-tropische Wasserpflanze, die bei uns als Aquariumpflanze beliebt ist.

Ausführung:

Mit einer scharfen (neuwertigen) Rasierklinge stellt man von der Blattoberfläche einige Handschnitte her. Diese fallen umso dünner aus, je kleiner ihre Flächenausdehnungen sind. Die Schnitte werden mit einer Präpariernadel auf einen Objektträger, auf den vorher ein Tropfen Wasser aufgebracht wurde, übertragen und mit einem Deckglas bedeckt. Zur Vermeidung von Luftblasenbildung hält man das Deckglas mit einer Pinzette schräg über den Tropfen und lässt es langsam nach unten sinken.

- Das Präparat wird auf den Objektisch des Mikroskops gelegt und zunächst bei geringer Vergrößerung untersucht.
- Von dem im Mikroskop sichtbaren Zellverband wird eine **Übersichtszeichnung** (3 bis 5 Zellen) angefertigt.
- Eine Blattzelle wird bei 40facher Vergrößerung genauer untersucht. Welche Zellorganellen sind zu erkennen? Bitte zeichnen Sie diese Zelle (die Zellwand in doppelter Kontur) einschließlich ihrer Organellen, soweit sie zu erkennen sind, formatfüllend auf das Zeichenpapier und beschriften Sie! Achten Sie bei der Darstellung der Zellwände und der Organellen auf die Größenverhältnisse und schätzen sie deren Länge und Breite sowie den Durchmesser.
- Frische Oberflächenschnitte von einem *Vallisneria*-Blatt werden mindestens 15 Minuten lang in eine Neutralrotlösung (0,1 g Neutralrot in 1000 ml, 0,1 M Phosphatpuffer, pH 7,4) gelegt, danach kurz mit Leitungswasser abgespült, auf einen Objektträger gegeben und mit einem Deckglas abgedeckt.

Bei pH 7,4 liegt Neutralrot als lipophiles Molekül vor und passiert in dieser Form u.a. auch Plasmamembranen, so dass es in die Vakuole gelangen kann. In dem dort herrschenden sauren Milieu bilden sich aus den Neutralrot-Molekülen Kationen, die die Plasmamembranen einschließlich des Tonoplasten nicht mehr durchdringen können und sich deshalb in der Vakuole ansammeln. Das Ergebnis ist zu protokollieren.

Literatur zur praktischen Durchführung: W: S. 4-31; S. 46-51

2. Kurs: Zelle II Nucleus, Nucleolus, Mitose, Plastiden

Objekt	Beobachtungsziel	Präparation und Untersuchungsmethoden	Literatur zur praktischen Durchführung (Seiten)	Belege
<i>Allium cepa</i>	Nucleus Nucleolus	Abzug der oberen Epidermis a) Lebendbeobachtungen b) Fixierung (Ethanol/Essigsäure 3/1)	W: 46-51 P: 55-57	Z vergleichende Beobachtung lebender ↔ fixierter Zellen protokollieren
<i>Allium cepa</i> (bzw. <i>Pisum sativum</i>)	Mitose	Wurzelspitzen, Kernfärbung mit Karminessigsäure Quetschmethode	P: 293-298	Z mindestens 3 Mitosestadien
<i>Elodea spec.</i>	Chloroplastenteilung Assimilationsstärke	Totalpräparat eines jungen Blättchens; Einbetten in Iod-Kaliumiodid-Lösung	P: 59-61 W: 52-55	Z

3. Kurs: Zelle III

a) Messung der Saugkraft von Kartoffelparenchym

Bearbeiten Sie den Versuch in einem 2er Team!

Allgemeines:

Diejenige Kraft, mit der eine Pflanzenzelle Wasser aus ihrer Umgebung ansaugt, nennt man Saugkraft. Sie hängt einerseits vom osmotischen Wert ihres Zellinhalts (O) und andererseits von der elastischen Spannung ihrer Wand ab (W). Es gilt die Saugkraftgleichung:

$$S = O - (W + A)$$

Dabei ist A der im Gewebeverband zusätzlich zum Wanddruck der eigenen Zellwand dazukommende „Außendruck“ der umliegenden Zellen. Aus dieser Gleichung lässt sich ableiten, dass eine Pflanzenzelle nur so lange eine positive Saugkraft aufweist, wie der osmotische Wert des Zellinhalts nicht vollständig durch den Wanddruck kompensiert ist. Ist letzteres der Fall (z. B. durch längeres Einlegen in Wasser), so wird die Saugkraft Null und die Zelle kann kein weiteres Wasser mehr aufnehmen. Andererseits wird die maximale Saugkraft dann erreicht, wenn die Zellwand vollständig entspannt ist. Die Saugkraft ist also eine aktuelle Größe, die vom jeweiligen Sättigungszustand der Zelle/des Gewebes mit Wasser abhängt.

Zur Messung der Saugkräfte lebender Gewebe benutzt man eine Kompensationsmethode, d. h. man bestimmt, ob ein Gewebe aus verschiedenen Lösungen bekannter Saugkraft (bei Lösungen entspricht die Saugkraft dem osmotischen Wert) Wasser aufnehmen kann oder Wasser abgibt. Diejenige Lösung, in der Wasser weder aufgenommen noch abgegeben wird, entspricht der Saugkraft des Gewebes. Die Wasseraufnahme bzw. -abgabe wird gravimetrisch bestimmt.

Material:

Solanum tuberosum, Reagenzgläser, Becherglas (als feuchte Kammer), Waage, Rasierklinge, Filterpapier

Ausführung:

Sechs Reagenzgläser werden mit je 10 ml Saccharoselösung der Konzentrationen 0,5; 0,4; 0,3; 0,2 und 0,1 mol/l bzw. mit Aqua dest. beschickt. Aus einer geschälten *Kartoffel* werden dann Quader von etwa 5 x 5 x 2 mm Kantenlänge für alle Konzentrationsstufen geschnitten und zum Schutz gegen Verdunstung in einer „feuchten Kammer“ (z. B. abgedecktes hohes Becherglas mit feuchtem Filterpapier ausgelegt) aufbewahrt.

An welche Teile einer „feuchten Kammer“ darf der feuchthaltende Belag (Filterpapier, Zellstoff o. ä.) angebracht werden und wo keinesfalls (... Auswirkungen?!)?

Von diesen Kartoffelstückchen werden sechs Proben von je ca. 2 g abgewogen (feucht halten). Das tatsächliche Gewicht wird genau bestimmt und notiert. Die Proben werden in die sechs Lösungen eingebracht und während des Versuchs mehrmals gut gemischt. Nach etwa zwei Stunden werden die Kartoffelstückchen herausgenommen, zwischen Filterpapier vorsichtig (ohne Druck!) und rasch, aber vollständig abgetrocknet und erneut gewogen.

Auswertung:

In einem Diagramm ist die Gewichtszu- bzw. -abnahme der Kartoffelstückchen in Abhängigkeit von der Molarität der Zuckerlösung darzustellen. Durch Interpolation aus den Messpunkten lässt sich dann diejenige Konzentration finden, bei der keine Gewichtsveränderung aufgetreten wäre. Ihre Saugkraft entspricht der des Kartoffelparenchyms.

Frage:

Berechnen Sie, wieviel g Saccharose ($M = 342,3 \text{ g/mol}$) Sie einwiegen müssen, um 1 l der folgenden Lösungen herzustellen.

Konzentration Saccharoselösung	Einwaage pro 1 l Lösung
0,1 M	
0,2 M	
0,5 M	
1 M	
2 M	

Sie sollen aus einer 0,8 M Saccharoselösung 500 ml der in der folgenden Tabelle angegebenen Lösungen herstellen. Welche Menge 0,8 M Saccharoselösung müssen Sie mit wieviel Wasser mischen?

Endkonzentration Saccharoselösung	Volumen 0,8 M Saccharoselösung	Volumen Wasser
0,4 M		
0,5 M		
0,1 M		
0,8 M		

b) Zellulärer Bau der Epidermis von *Rhoeo discolor*

Allgemeines:

Als Variante der bereits bekannten *Vallisneria*-Zelle werden hier Leucoplasten gefunden. Die rote Farbe der Epidermis soll auf zellulärer Basis demonstriert werden. Außerdem soll mittels Veränderung des Focus das Erkennen einer 3-dimensionalen Struktur geübt werden.

Material:

Blätter von *Rhoeo discolor*, Rasierklinge, Pinzette, Objektträger, Deckgläser.

Ausführung:

Fertigen Sie Flächenschnitte der unterseitigen (rotgefärbten) Epidermis des Blattes von *Rhoeo* an und legen Sie diese in einen Tropfen Wasser, Außenfläche nach oben; das Präparat wird mit einem Deckglas möglichst luftfrei abgedeckt. Zeichnen Sie eine Zelle, achten Sie dabei besonders auf den Zellkern und die ihn umgebenden Leucoplasten. Achten Sie weiter auf die richtige Dimension der Zellwanddicke und auf die angrenzenden Zellwände, die die Nachbarzellen voneinander trennen. Verändern Sie dann den Focus durch Verdrehen der Scharfeinstellung, bis die darunter liegende Zellschicht scharf wird und die Epidermis unscharf. Zeichnen Sie diese Mesophyllschicht mit dünnen oder punktierten Linien noch in die Zeichnung hinein. Schätzen Sie die Größe der Epidermiszelle. Bewahren Sie das Präparat auf als Vergleichsmaterial für Versuch c (Nicht austrocknen lassen!).

Frage:

Woran erkennen Sie, dass die Plastiden hier Leucoplasten und keine Chloroplasten sind?

Literatur zur prakt. Durchführung: P: S. 63-64

c) Plasmolyse

Allgemeines:

Es soll der Wasserfluss in Richtung des osmotischen Gradienten untersucht werden. Dazu dienen hypertonische und hypotonische Lösungen. In Relation zu den verabreichten Lösungen soll der osmotische Wert des Zellsaftes geschätzt werden.

Material:

Wie unter b); dazu einige Filterpapierstreifen, Saccharoselösung 1 M und 0,3 M, Aqua dest., Pipetten, Petrischale.

Ausführung:

Der Versuch wird mit *Rhoeo discolor* durchgeführt.

Ein Schnitt wie unter 3b hergestellt wird in einen Tropfen 1 M Saccharoselösung gelegt, mit Deckglas bedeckt und sofort mikroskopisch betrachtet.

Zeichnen und beschriften Sie typische Plasmolysestadien.

Führen Sie jetzt eine Deplasmolyse durch:

Dazu legen Sie von links 2 Filterpapierstreifen, die am Ende leicht befeuchtet sind, an die Deckglaskante, so dass sie in Kontakt mit dem Präparatetropfen kommen. Geben Sie jetzt von rechts langsam Aqua dest. hinzu (ca. 20 Tropfen). Beobachten Sie die während des Durchsaugens ablaufende Deplasmolyse und protokollieren Sie die Zeitdauer vom plasmolysierten Zustand der Zelle bis zur völligen Deplasmolyse!

Literatur zur prakt. Durchführung: P: S. 67-68
W: S. 58-63

4. Kurs: Blatt I Bau des bifazialen, dorsiventralen Laubblattes

Stoff	Objekt	Beobachtungsziel	Präparation und Untersuchungsmethoden	Literatur zur prakt. Durchführung (Seiten)	Belege
Anatomie der Laubblattspreite	<i>Fagus sylvatica</i>	Gewebe des mesomorphen dorsiventral-bifazialen Laubblattes	Querschnitt durch die Laubblattspreite.	P: 202-205 W: 144-145	Z zellulärer Ausschnitt aus dem Blattquerschnitt
	<i>Helleborus niger</i>	Gewebe des mesomorphen dorsiventral-bifazialen Laubblattes	Epidermisabzug (obere Epidermis)	W: 146-147	Z zelluläre Aufsicht
			Flächenschnitt durch das Schwammparenchym	W: 149	Z zellulär

5. Kurs: Blatt II Spaltöffnungsapparat, Bündelscheide (C4-Pflanzen)

Stoff	Objekt	Beobachtungsziel	Präparation und Untersuchungsmethoden	Literatur zur prakt. Durchführung (Seite)	Belege
Spaltöffnungsapparat	<i>Helleborus niger</i>	Spaltöffnungsapparat (Helleborus-Typ)	Epidermisabzug bzw. Flächenschnitt (untere Epidermis) Spaltöffnungsapparat in Aufsicht	P: 187-189 W: 150-153	Z
		a) Aufsicht			
		b) Querschnitt	Querschnitt durch die Laubblattspreite; Spaltöffnungsapparat quer		Z in doppelter Kontur
Bündelscheide	<i>Arundo donax</i>	Leitbündel mit Bündelscheide im Querschnitt	Blattquerschnitt	R: 151-156	Z

**6. Kurs: Differenzierung in verschiedene Zelltypen.
Wichtige pflanzliche Gewebe**

Stoff	Objekt	Beobachtungsziel	Präparation und Untersuchungsmethoden	Literatur zur prakt. Durchführung (Seiten)	Belege
Kollenchym	<i>Begonia rex</i>	Eckenkollenchym	Blattstiel (bzw. Spross) quer Übersichtsfärbung mit Astrablau	W: 114-117 P: 97-98	Z kleiner Ausschnitt
	<i>Sambucus nigra</i>	Plattenkollenchym	Sprossachse quer, Übersichtsfärbung mit Astrablau	W: 118-119 P: 98-100	Z kleiner Ausschnitt
Sklerenchym	<i>Nerium oleander</i> (oder <i>Syringa vulgaris</i>)	Sklerenchymfasern	Sprossquerschnitt Präparation unverletzter Fasern (Längsschnitt), einbetten in Glycerol	P: 101-104 W: 120-121	Z Beschreibung

7. Kurs: Spross I

a) **Die Leitung von Wasser in der Sprossachse**

Bearbeiten Sie den Versuch in einem 2 er Team!

Lernziele:

- Nachweis des Wassertransportes in der Sprossachse
- Richtung des Wasserstromes
- Organ des Wassertransportes

Methodik:

1. Ein frisch abgeschnittener Spross wird in kräftig gefärbtes Wasser gestellt. Geeignet sind krautige Pflanzen, *Impatiens parviflora*, *Impatiens noli-tangere*, *Coleus spec.*, *Tradescantia spec.*. Der Vorgang kann auch an Pflanzen mit weißen Blüten (z.B. *Leucanthemum spec.*, *Cyclamen spec.*) beobachtet werden. Im Kurs wird *Coleus spec.* verwendet.
2. Als Farblösung (0,1% w/v) wird verwendet: Methylenblau

Aufgaben:

1. Das Hochsteigen der Farblösung im Innern der Sprossachse ist zu beobachten, die Leitungsgeschwindigkeit zu messen (jede Minute) und der Transport des Farbstoffes in Abhängigkeit von der Zeit in einem Diagramm darzustellen.
2. Ein Stengelquerschnitt (Bereich, der in Flüssigkeit getaucht war) ist mikroskopisch zu prüfen, um festzustellen, wo der Wassertransport erfolgt.

Fragen:

1. Wie groß ist die Leitungsgeschwindigkeit des Wassers und von welchen äußeren Faktoren ist sie abhängig?
2. Wodurch wird der Transport von Wasser und Nährsalz gesteuert? Welcher wichtige Vorgang in den Blättern ist eng mit der Regulation des Wasserstromes korreliert?
3. Welches sind die treibenden Kräfte für den Wasser-Ferntransport in der Pflanze?
4. Welchen mechanischen Beanspruchungen ist die Sprossachse der Kormophyten ausgesetzt?
5. Wie erreichen zarte, saftreiche krautige Pflanzen genügend Festigkeit? Vergleichen Sie je eine Pflanze mit bzw. ohne Festigungselemente bei Wassermangel!
6. Welche Folgerungen lassen sich daraus für Sprosspflanzen „trockener“ bzw. „feuchter“ Standorte ableiten?

Literatur zur prakt. Durchführung: R: S. 800-815

b) Das geschlossen kollaterale Leitbündel (*Zea mays*)

Lernziele: - Anordnung der Leitbündel
- Bau eines Leitbündels

Aufgaben:

1. Sprossachse quer – Übersichtszeichnung (Doppelfärbung mit Astrablau-Safranin)
Beachten Sie bitte Orientierung, Häufigkeitsverteilung und Größe der Leitbündel!
2. Leitbündel quer – Übersichtszeichnung
3. Leitbündel quer – zelluläre Zeichnung in doppelter Kontur

Fragen:

1. Wie sind Lage und Orientierung der Leitbündel im Spross von *Zea mays* zu beschreiben? Stichworte zur Zeichnung!
2. Erläutern Sie den Begriff „geschlossen kollaterales Leitbündel“!
2. Für welche systematische Pflanzengruppe sind solche Leitbündel repräsentativ?

Literatur zur prakt. Durchführung: P: S. 115–117
W: S. 164-165

8. Kurs: Spross II

Lernziele:

- Anordnung der Leitungselemente

a) Das sekundäre Dickenwachstum bei *Pinus sylvestris*
- Primärer und sekundärer Bau eines Sprosses

Aufgaben:

1. Sprossquerschnitt – Übersichtszeichnung (Stellen Sie ggf. das Alter des von Ihnen geschnittenen Sprosstückes fest.)
Anfärbung mit Safranin bzw. Safranin/Astrablau
2. Sprossquerschnitt – zelluläre Zeichnung; Ausschnitt aus dem Holzteil (mit Markstrahl im Längsschnitt) in doppelter Kontur ausgeführt
3. Tangentialschnitt – (wie 2)
4. Detailzeichnungen – Tüpfel quer und in Aufsicht (doppelte Kontur)

Anleitung:

Zu 1. Ein schmaler, annähernd sektorieller Ausschnitt genügt.

Zu 2. Ein wenige Zellen breiter Ausschnitt ist ausreichend. Suchen Sie sich bitte einen dünn geschnittenen Bereich im Holzteil.

Zu 3. Die Schnittfläche muss peripher liegen.

Fragen:

1. Was verstehen Sie unter „Holz“ bzw. „Bast“?
2. Welche Gewebearten enthalten Ihre Zeichnungen? Welche Funktionen haben diese zu erfüllen?
3. Was verstehen Sie unter primärem und sekundärem Dickenwachstum?
4. Was sind Jahresringe bzw. Jahresgrenzen? Erklären Sie den unterschiedlichen Durchmesser der Gefäße!
5. Welche Zellen lagern Lignin ein und wozu dient es? Wo erfolgt die Ablagerung innerhalb der Zelle?
Nennen Sie mindestens eine Nachweisreaktion für Lignin!
6. Nennen Sie die wichtigsten Gefäßtypen! Wo kommen diese vor, in welcher Reihenfolge werden sie angelegt?
7. Welche Funktionen haben die Gefäße zu erfüllen? Nennen Sie die entsprechenden Strukturen!
8. Wie gleicht z. B. eine Kiefer im Bereich des Bastteiles die Vergrößerung des Umfanges der Sprossachse aus?
9. Erklären Sie den Unterschied zwischen einem Radial- und einem Tangentialschnitt!

Literatur zur prakt. Durchführung: P: S. 146–153; W: S. 190-199

b) Folgen des sekundären Dickenwachstums in der Rinde von *Sambucus nigra*

Lernziele:

- Sekundäres Abschluss- und Durchlüftungsgewebe
- Peridermbildung

Aufgabe:

Querschnitt durch das Periderm von *Sambucus nigra* (doppelte Kontur)

Anleitung:

Wählen Sie kleine, wenige Zellen umfassende Ausschnitte!

Fragen:

1. Wie sind die Korkzellen angeordnet und wodurch wird ihre Undurchlässigkeit erreicht?
2. Wie bezeichnet man das aus dem Rindenparenchym hervorgegangene Korkkambium?
3. Was ist Borke?

Nachweisreaktionen:

Lösungen:

Färbung der Zellwände:

Sudan III

orangerot (Suberin; Kork), Cutin

Literatur zur prakt. Durchführung:

P: S. 162–166

W: S. 210-215

9. Kurs: Wurzel (primärer Bau)

Arbeit mit dem Präparationsmikroskop: Nachweis physiologischer Scheiden

Stoff	Objekt	Beobachtungsziel	Präparation und Untersuchungsmethoden	Literatur zur prakt. Durchführung (Seiten)	Belege
Äußerer Bau der Wurzelspitze	<i>Lepidium sativum</i>	Entwicklung der Wurzelhaare, Übersicht über die Wurzelspitze mit Kalyptra, Initialen usw.	Totalpräparat (Samen abtrennen)	P: 222-228 W: 216-219	Z Stadien der Wurzelhaarbildung, Übersicht
Bau der primären Wurzel	<i>Iris germanica</i>	Bau der primären Wurzel im Querschnitt (Übersicht) bes.: mehrschichtige einheitliche Exodermis, tertiäre Endodermis als U-Scheide	Wurzelquerschnitt, Färbung mit Astrablau und Safranin	P: 228-235 W: 220-227	Z Übersicht über den Bau d. prim. Wurzel Z Ausschnitt aus Exodermis u. Endodermis mit Durchlasszelle (in doppelter Kontur)

10. Kurs: Enzymaktivität am Beispiel der Amylase

Bearbeiten Sie den Versuch in einem 2 er Team!

Allgemeines:

Amylasen bauen Stärke über verschiedene Zwischenstufen zu Maltose ab. Sie sind im Pflanzenreich (besonders in keimenden Samen) und im Tierreich (Bauchspeicheldrüsensekret, Speichel) weit verbreitet. Je nachdem, wie Amylasen Stärkemoleküle angreifen, unterscheidet man α - und β -Amylasen:

α -Amylase (α -1,4-Glucan-Glucanohydrolase, E.C.3.2.1.1) baut Stärke rasch ab, indem sie die 1,4-glykosidischen Bindungen wahllos angreift; es entstehen zunächst noch höhermolekulare Verbindungen, die sog. Dextrine. Endgültige Abbauprodukte sind jedoch Maltose und niedermolekulare Dextrine bzw. Isomaltose.

β -Amylase (α -1,4-Glucan-maltohydrolase, E.C.3.2.1.2) baut Stärke langsam ab, da sie vom Ende der Polysaccharidketten her schrittweise Maltosereste abspaltet.

Der zeitliche Verlauf des Stärkeabbaus kann bequem mit Hilfe der Jodstärkereaktion verfolgt werden: Es ist bekannt, dass Jod mit Stärke eine sog. Einschlussverbindung (Clathrat) bildet, die sich durch eine tiefblaue Färbung auszeichnet. Jodketten ($\text{KJ} \cdot \text{J}_2$) sind dabei im kanalartigen Hohlraum der spiralig gewundenen Stärkeketteneinheiten eingeschlossen. Die Dextrine sind, je nach Kettenlänge violett, rot oder braun gefärbt oder bei niedrigem Molekulargewicht ganz farblos.

Unter der Einwirkung von β -Amylase bleibt die blaue Jodstärkefarbe lange erhalten, es wird jedoch rasch reduzierender Zucker (Maltose) freigesetzt (saccharogene Amylase); α -Amylase verwandelt Stärke schnell in Dextrine, dagegen taucht das Endprodukt Maltose erst relativ spät auf (dextrinogene Amylasen). Der Abbau von Stärke durch eine β -Amylase erfolgt von den nicht-reduzierenden Kettenenden her nur bis zur ersten 1,6-Verzweigung. Da sich das Enzym jenseits dieser Verzweigungsstellen nicht mehr neu ansetzen kann, bleiben in diesem Fall neben Maltose auch hochmolekulare Dextrine, sog. Grenzdextrine, als Endprodukt zurück.

Da β -Amylase, wahrscheinlich aufgrund ihrer weniger kompakten Struktur und ihres höheren Molekulargewichtes (ca. 150000 Da), im Gegensatz zu α -Amylase (MW ca. 45000 – 50000 Da) sehr temperaturlabil ist, lässt sich β -Amylase-Aktivität leicht durch kurzzeitiges Erhitzen auf 70 °C von α -Amylase-Aktivität abtrennen. Die Geschwindigkeit der enzymatischen Stärkespaltung ist von folgenden Faktoren abhängig: (a) von der Substrat-Konzentration, (b) von der Temperatur, (c) vom pH-Wert des Reaktionsansatzes, (d) von der Gegenwart von Ionen (so ist Amylase erst in Gegenwart von Cl^- -Ionen voll aktiv) und (e) von der Enzymkonzentration.

Es ist erwähnenswert, dass die Amylase das erste Enzym war, das entdeckt wurde. Bereits 1833 hatten BAYEN und PERSOZ in Alkoholpräzipitaten von Malzextrakt eine thermolabile Substanz gefunden, die sie aufgrund ihrer Eigenschaft, Zucker und lösliches Dextrin aus unlöslicher Stärke zu bilden, Diastase nannten.

Ziel des Versuchs ist es, die pH-Abhängigkeit enzymatischer Reaktionen zu veranschaulichen.

Ausführung:

Die folgenden Lösungen werden in drei Reagenzgläser oder 15 ml Röhrchen einpipettiert:

Reagenzglas Nr.	1	2	3
1 %ige Stärkelösung	10 ml	10 ml	10 ml
Puffer	0,5 ml, pH 4,0	0,5 ml, pH 5,0	0,5 ml, pH 7,0

Der Inhalt der drei Reagenzgläser wird jeweils gemischt. Anschließend werden 1 ml der Diastaselösung zupipettiert und der Reaktionsansatz wird danach wiederum gemischt. Zu den folgenden Zeiten werden je 0,5 ml Proben aus den drei Ansätzen entnommen und in vorbereitete Reagenzgläser mit je 2 ml der $\text{KJ} \cdot \text{J}_2$ -Lösung (**Vorsicht! Lösung ist toxisch!**) eingebracht: Zeit 0 (= **sofort** nach Zugabe des Enzyms) 5, 10 und 15 min. nach Zeit 0. Dabei ist darauf zu achten, dass für jeden der drei pH-Ansätze eine **eigene Pipette** verwendet wird und dass die Entnahmen immer in der **gleichen Reihenfolge** durchgeführt werden.

Anschließend wird der Versuch bei gleichem pH, aber unterschiedlicher Temperatur nach folgendem Schema wiederholt:

Reagenzglas Nr.	1	2	3
1 %ige Stärkelösung	10 ml	10 ml	10 ml
Puffer	0,5 ml, pH 4,0	0,5 ml, pH 4,0	0,5 ml, pH 4,0
Temperatur	auf Eis	30 °	70 °
Probeentnahme	sofort, nach 10, 20, 30 min	sofort, nach 10, 20, 30 min.	sofort, nach 10, 20, 30 min.

Wichtig! Bevor die Diastaselösung hinzugegeben wird, müssen die Reagenzgläser mit Stärkelösungen und Puffer bei der jeweiligen Temperatur 15 Minuten vorinkubiert werden.

Nach Beendigung des Versuchs werden die Reagenzgläser 1 und 3 in das 30° Wasserbad gestellt und die Enzymaktivität nach 15 min. überprüft.

Auswertung:

Das Ergebnis ist in einer Tabelle festzuhalten, ebenso die Farbintensität und der Farbton und theoretisch auszuwerten. Das Farbschema und die dazugehörige Bewertung wird Ihnen vom Kursleiter vorgelegt.

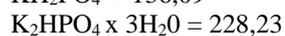
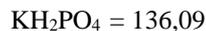
Lösungen:

- 1 %ige (w/v) Stärkelösung (Stärke in kaltem Wasser suspendieren, dann unter Rühren kurz aufkochen)
- Verdünnung KJ-J₂-Lösung/Wasser wie 1:10
- Lösung von 0,1 mg/ml Diastase (α - und β -Amylase aus Malz)
- 1 mol/l Na-Acetatpuffer, pH 4,0
- 1 mol/l K-Phosphatpuffer, pH 5,0 und pH 7,0

Fragen zum Versuch:

1. Von welchen Faktoren ist die Geschwindigkeit einer Enzymreaktion abhängig?
2. Warum werden Enzymlösungen (z. B. Diastase) bei 0 – 4 °C aufbewahrt? Warum wird die Reaktion aber bei höherer Temperatur (Diastase: 30 °C) durchgeführt?
3. Warum untersuchen Sie die Stärkespaltung bei verschiedenen pH-Werten? Was kann man aus dem Ergebnis schließen?
4. Welche Alternative(n) gibt es zu der doch recht subjektiven Beurteilung des Farbtons per Auge?
5. Warum ist das Mischen von Reaktionsansätzen (z. B. im Reagenzglas; Verschluss mit Parafilm, nicht mit dem Daumen!) zwingend? Genügt immer einmaliges, gründliches Mischen, wenn daraus zu vergleichende Proben hergestellt werden sollen?
6. Wie stellen Sie 100 ml einer 1%igen (w/v) Stärkelösung her? Was bedeutet (w/v)?
7. Wie stellen Sie 500 ml eines 1 molaren K-Phosphatpuffers pH 7,0 her?

Angabe: MW:



Literatur zur prakt. Durchführung: R: S. 110-115

11. Kurs: Bewegung I

Bearbeiten Sie alle Versuche in diesem Kurs in 2er Teams!

a) Zytoplasmaströmung, Photodinese

Objekt	Beobachtungsziel	Präparation und Untersuchungsmethoden	Literatur zur prakt. Durchführung (Seiten)	Belege
<i>Elodea spec.</i>	Zytoplasmaströmung (Rotation)	Abzupfen eines Blattes, Aufsicht auf das Blatt. Die Strömung ist am besten in den Zellen nahe der Mittelrippe zu beobachten	P: 52-55 W: 56-57	Z Angabe der Strömungsrichtung Protokoll
	Messung der Strömungsgeschwindigkeit anhand der Bewegung der Chloroplasten	Okular (10x) mit Okularmessplatte verwenden. Bei Objektiv (40x) entspricht 1 Teilstrich etwa 1,7µm, bei Objektiv (20x) etwa 3,4 µm.	P: Methodenregister 89 und 94	Protokoll, Durchschnittswert aus mindestens 3 Messungen
	Photodinese	kurzfristige intensive Beleuchtung durch Öffnen der Blenden	P: 52-55	Protokoll Durchschnittswert aus mindestens 3 Messungen

b) Quellungsbewegungen (Modellversuch zum Verständnis der Quellungsbewegungen)

Allgemeines:

Versuchsziel: Demonstration anisotroper Quellungen in Schreibmaschinenpapier. Die Orientierung der Faserelemente zweier Papierschichten bestimmt bei Quellungs- und Entquellungsvorgängen die Richtung der überwiegenden Größenveränderung; diese erfolgt quer zur Faserrichtung. In Schreibmaschinenpapier (DINA 4) sind aufgrund des Fertigungsprozesses die Fasern vorwiegend in einer Richtung angeordnet. Diese Faserrichtung soll bestimmt werden.

Material:

Schreibmaschinenpapier, Schere, Bleistift, Lineal mit Millimereinteilung, kleiner Pinsel, wasserlöslicher Klebstoff (z.B. Gummi arabicum bzw. Tapetenkleister), Glas mit Wasser, Trockenschrank, Filtrierpapier.

Durchführung und Auswertung:

Auf einem Bogen Schreibmaschinenpapier werden mehrere Bleistiftlinien parallel zur längeren Kante des Papiers gezogen; damit ist auch nach dem Zerschneiden eine eindeutige Orientierung möglich. Mehrere Streifen von ca. 10x200 mm werden ausgeschnitten, und zwar in verschiedenen Richtungen: Längs, quer und schräg im Winkel von etwa 45°. Folgende Streifen werden mit ihren Rückseiten paarweise zusammengeklebt.

- ein längs und ein quer verlaufender Streifen,
- ein längs und ein schräg verlaufender Streifen,
- ein quer und ein schräg verlaufender Streifen,
- zwei schrägverlaufende Streifen so, dass die Markierungsrichtungen senkrecht aufeinander stehen.

Streifen im Wasser einweichen, überflüssiges Wasser leicht abtrocknen, Klebstoff gleichmäßig auftragen und die Streifen zusammenkleben. Den Klebstoff ca. 10 Minuten antrocknen lassen, danach im Trockenschrank bei 60-80° C trocknen; die Auswertung kann nach 15 Minuten oder später vorgenommen werden. Beurteilen Sie die aufgetretenen Krümmungen, versuchen Sie diese zu skizzieren und ermitteln Sie daraus die Quellungs- und Faserrichtung. Führen Sie einen einfachen Versuch aus, der beweist, dass die Krümmung reversibel ist.

Kontrollieren Sie Ihre Folgerungen über Quell- und Faserrichtung durch Längenmessung eines längs- und eines querorientierten Streifens (auf Millimeter genau) im trockenen und im feuchten Zustand.

c) **Turgorbewegungen (Nastische Bewegungen bei *Mimosa pudica*)**

Allgemeines:

Versuchsziel: Prinzipien der Turgorbewegung, Blattgelenk und seine Anatomie als Voraussetzung für eine schnelle Turgorbewegung; Auslösung durch Außenfaktoren; Einführung in reizphysiologische Grundlagen.

Material:

Topfpflanzen von *Mimosa pudica*, Mikroskop, Rasierklingen, Uhr mit Sekundenzeiger, Pinzette, Pinsel, Eiswasser, heißes Wasser, Streichhölzer.

Durchführung und Auswertung:

a) skizzieren Sie schematisch eine Mimose und kennzeichnen Sie die Primär-, Sekundär- und Tertiärgelenke. Zeichnen oder beschreiben Sie die Stellung der verschiedenen Blattteile vor und nach der Reizung. Auf welcher Seite müssen die verschiedenen Gelenke ihren Turgor verlieren, damit es zur beobachteten Bewegung kommt?

b) Führen Sie folgende Versuche an *Mimosa* durch:

*) Ein Sekundärgelenk wird durch einen Tropfen Eiswasser oder einen Tropfen heißes Wasser thermisch gereizt und die Reaktion beschrieben. Führen Sie eine Kontrolle durch, die sicherstellt, dass die Temperatur und nicht die Berührung den Reizanstoss darstellt. Ermitteln Sie die Reaktionszeit der Bewegung vom Sekundär- zum Primärgelenk.

**) Versuchen Sie, ein Endblättchen mechanisch zu reizen, ohne dabei die benachbarten Blättchen in Mitleidenschaft zu ziehen.

***) Bestimmen Sie die Stelle größter Empfindlichkeit des Primärgelenks, indem Sie mit dem Pinsel vorsichtig über die Ober- oder Unterseite des Gelenks streifen. Vergleichen Sie das Ergebnis mit Ihrer Aussage unter a).

d) **Gravitropismus am Beispiel von *Coleus blumii* (Demonstrationsversuch)**

Literatur zur prakt. Durchführung: N: S. 548-549; 555-557; 566-568; 579-586

12. Kurs: Bewegung II

Algen, Phototaxis

Bearbeiten Sie den Versuch in einem 2 er Team!

Allgemeines:

Chlamydomonas reinhardtii ist eine einzellige, zweigeißlige Grünalge. Sie hat sich in den letzten Jahren als eukaryotischer Modellorganismus für gezielte Fragestellungen (z.B. Chloroplasten – Biogenese und seine Funktionen; Flagellen und Basalapparat mit ihrem Potential für humane Erkrankungen, Aufklärung von Mechanismen der circadianen Uhr bei taxischen Bewegungen) entwickelt. Das Genom dieser Alge ist vollständig sequenziert (*Chlamydomonas* Center in den USA: <http://www.biology.duke.edu/chlamy/>).

Die Alge kann sich photo – und chemotaktisch orientieren. Die Phototaxis ist abhängig von unterschiedlichen Parametern (z.B. Wachstumskinetik, Lichtintensität, Lichtqualität; Licht – Dunkel – Zyklus). Als Photorezeptor fungiert ein Rhodopsin. Inhibitoren bestimmter Stoffwechselwege sollen in diesem Versuch hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Phototaxis überprüft werden. Informieren Sie sich, welche zelluläre Auswirkungen diese Inhibitoren haben.

Vorsicht! Es handelt sich hierbei um giftige Substanzen!

Material:

- Kulturen von *Chlamydomonas reinhardtii* (Zellen mit einer eingestellten Dichte werden zur Verfügung gestellt.)

Durchführung:

1. Stellen Sie die Unterseite einer kleinen Petrischale auf ein Blatt Papier, das zur Hälfte schwarz ist. Die Petrischale soll halb auf der weißen und halb auf der schwarzen Seite stehen. Der Deckel der Petrischale ist ebenso zur Hälfte schwarz und soll mit der schwarzen Papierseite übereinstimmen. Oberhalb der Petrischale wird eine Beleuchtung angebracht.
2. Nehmen Sie 2 ml der *Chlamydomonas* – Kultur aus dem zur Verfügung gestellten Kolben und pipettieren Sie diese in die Petrischalen; setzen Sie den Deckel auf.
3. Nach ca. 5-10 min. bewegen Sie die Petrischale **vorsichtig** auf ein weißes Blatt Papier und entfernen den Deckel. Notieren sie sich die Position der Zellen.
4. Wiederholen Sie den Versuch und drehen Sie dabei die Petrischale um 90°. Überprüfen Sie mit dem Mikroskop, ob die Zellen noch voll mobil sind.
5. Wiederholen Sie den Versuch (siehe Punkt 1-3), nehmen Sie aber eine neue 2 ml *Chlamydomonas* – Kultur, tauschen jedoch den Deckel gegen eine Farbfolie aus. Es sollen Rot-, Blau- und Grünlichtfolien getestet werden. Notieren Sie das Ergebnis wiederum nach 5-10 min., nachdem Sie die Folien entfernt haben. Spülen Sie Ihre Petrischale und trocknen Sie diese mit Papier.
6. Beginnen Sie nun mit den Versuchen der Inhibitoren: nehmen Sie aus den entsprechend beschrifteten Kolben 2 ml *Chlamydomonas* – Kultur, die einen bestimmten Inhibitor enthält (Chloramphenicol, Cycloheximid), heraus und pipettieren Sie diese in Ihre Petrischale. Nach 5-10 min. beobachten Sie die Auswirkung. Überprüfen Sie die Motilität der Zellen auch im Mikroskop (**Vorsicht! Giftige Substanzen!**).

Fragen:

1. Welche pflanzlichen Photorezeptoren kennen Sie?
2. Wo liegt deren Absorptionsmaximum?
3. Welche Wirkung haben Chloramphenicol und Cycloheximid?

Literatur zur prakt. Durchführung: R: S. 376-378; WN: S. 151-153