

Allgemeines zu den Übungen „Bau der Pflanze“

In der Lehrveranstaltung „Bau der Pflanze“ soll einerseits allgemeiner Lehrstoff an Hand von ausgewählten Präparaten vermittelt und andererseits beim Umgang mit den Objekten das Gelernte vertieft bzw. näher gebracht werden.

→ **Um die Objekte richtig zu verstehen und die Übungszeit optimal zum Arbeiten nutzen zu können, wird erwartet, dass der jeweilige Teil des Skriptums VOR der Übungseinheit erarbeitet wird.**

Die meisten Objekte wurden direkt von den mikroskopischen Präparaten digital fotografiert und werden als unbeschriftete Abbildungen ausgeteilt. Beschriften Sie bitte die Abbildungen anhand des mikroskopischen Bildes und der Hinweise in den Arbeitsanleitungen. Zusätzlich sollen frisch hergestellte Präparate bzw. interessante Einzelheiten der von Ihnen beschrifteten Abbildungen gezeichnet werden. Dazu sind schon zur ersten Übung ein Zeichenheft (A5, weiß, glatt), Bleistift (Härte HB oder 2), Radiergummi sowie ein weiches, nicht faserndes Stoffstück zum Reinigen der Objektträger mitzubringen

→ **Es herrscht Anwesenheitspflicht, die Anwesenheit wird überprüft.** In Ausnahmefällen wird versucht, Termine für das Nacharbeiten zur Verfügung zu stellen (Teilnahme in Parallelkursen).

EINLEITUNG

Pflanzen, insbesondere die grünen Pflanzen, stellen die fundamentale Lebensgrundlage aller anderen Organismen dieser Erde dar. Sie sind in der Lage, Photosynthese zu betreiben, d.h. aus rein anorganischen Stoffen und unter Nutzung der Energie des Sonnenlichts organische Stoffe zu bilden. Wir bezeichnen diese Lebensweise als autotroph, genauer als **photoautotroph**. Alle anderen Organismen ernähren sich letztlich von den grünen Pflanzen, sie sind heterotroph. Darüber hinaus sind die grünen Pflanzen ein wichtiges Regulativ für das globale Klima, und sie liefern für den Menschen nicht nur Nahrung, sondern auch eine große Vielfalt an Rohstoffen.

Im Rahmen dieser Lehrveranstaltung befassen wir uns mit dem Bau der höheren Pflanzen, den stammesgeschichtlich am weitesten entwickelten Formen. Einfacher gestaltete Pflanzen, wie Algen, Moose oder Farne, finden geringere Beachtung. Letztere sind durch einzellige, haploide Verbreitungseinheiten,

die Sporen, charakterisiert, während höhere Pflanzen mehrzellige diploide Verbreitungseinheiten bilden, die Samen. Sie heißen deshalb auch **Spermatophyta – Samenpflanzen**. Zu ihnen gehören die **Gymnospermae**, die **Nacktsamer**, bei uns vertreten v. a. durch die Nadelbäume (Coniferopsida) und die **Angiospermae**, die **Bedecktsamer**, welche ihrerseits in einkeimblättrige (**monokotyle**) und zweikeimblättrige (**dikotyle**) Bedecktsamer gegliedert werden. Die Bedecktsamer stellen die jüngste, mannigfaltigste und sich immer noch expansiv entwickelnde Gruppe in der Evolution der Pflanzen dar. Sie eroberten selbst extreme Lebensräume und haben heute den größten Anteil an der Vegetation der Erde. Der überwiegende Teil der vom Menschen kultivierten Pflanzenarten stammt von Wildformen aus dieser Gruppe.

Zum Verständnis von Bau und Funktion pflanzlicher Lebewesen empfiehlt es sich, zunächst deren kleinste lebensfähige Einheit zu betrachten:

DIE ZELLE

Einzellige Organismen, wie etwa viele Algen, sind auf dieser Stufe stehen geblieben. Durch Zusammenschluss von Zellen zu Geweben, dieser wieder zu Organen eines vielzelligen Ganzen erhöhte sich der Grad der Komplexität und Spezialisierung, wenn auch einzelne Zellen ihre Selbstständigkeit zu Gunsten des Gesamtorganismus aufgeben. Selbst dann finden wir einen einheitlichen und für Pflanzen charakteristischen Grundbauplan, der im Folgenden an Hand von erwachsenen (adulten), lebenden Zellen dargestellt sei. Junge, embryonale Zellen werden in der 2. Übung behandelt.

Die typische Pflanzenzelle besteht aus dem Zell-Leib, dem **Protoplasten**, und einer ihn umhüllenden **Zellwand** (Abb. 1). Im Gewebeverband haften die Zellwände benachbarter Zellen aneinander, sie sind über eine aus Pektin bestehende Mittellamelle miteinander verklebt. Die Zellwände bestehen aus Cellulose, Hemicellulosen

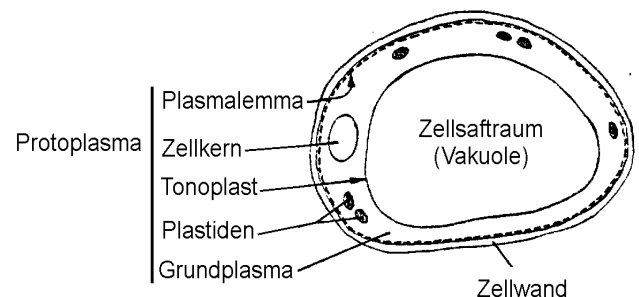


Abb. 1. Schematischer Querschnitt durch eine pflanzliche Zelle

und Pektinen, können aber sekundär verändert sein.

Als Protoplast wird in einer Pflanzenzelle alles innerhalb der Zellwand bezeichnet, d.h. das Protoplasma mit den begrenzenden Membranen **Plasmalemma** zur Zellwand und **Tonoplast** zur Vakuole hin sowie der Vakuole. Das Protoplasma stellt den lebenden Teil der Zelle dar. Das Plasmalemma liegt im Normalfall direkt der Zellwand an, drückt gegen sie und hält sie gespannt. Im Protoplasma liegen die **Zellorganellen**, das sind meist durch Membranen begrenzte, funktionelle Untereinheiten mit jeweils spezifischen Aufgaben, die im Grundplasma, der Matrix, eingebettet sind. Auf diese Weise ist der Protoplast in konkrete Reaktionsräume – in **Kompartimente** – gegliedert und ein wechselseitiger, störender Einfluss wird minimiert.

Die **Vakuole** nimmt in ausgewachsenen (adulten) Zellen etwa 90 % des Protoplastenvolumens ein. Die Vakuole enthält den Zellsaft, eine wässrige Lösung aus anorganischen Salzen und Ionen, sowie organischen Verbindungen wie etwa verschiedenen Zuckern, Säuren oder Farbstoffen. Sie ist also ein zentrales Speicherdepot. Werden z.B. reife Früchte ausgepresst, besteht der abfließende Obstsaft praktisch aus reinem Vakuoleninhalt der Zellen des Fruchtfleisches.

DER ZELLKERN (NUCLEUS)

Alle Lebewesen werden in zwei Gruppen geteilt: die **Prokaryonten** und die **Eukaryonten** (abgeleitet von griech. Karyon = Nuss, Kern). Eukaryonten besitzen einen echten Zellkern. Eine Doppelmembran, die Kernhülle, umgibt den Zellkern. Die oft einzigen erkennbaren Gebilde im Zellkern, die Nucleolen (Singular: Nucleolus), sind in Zellkernen zu finden, die sich nicht in Teilung befinden. Nucleolen sind reich an RNA und Proteinen und werden von der Kern-DNA durchzogen. In den Nucleolen werden Untereinheiten der Ribosomen aufgebaut. Die **DNA** ist im Kern in **Chromosomen** lokalisiert. Außerdem besitzen Eukaryonten Zellorganellen für verschiedene Zellfunktionen. Bei Prokaryonten liegt die DNA frei im Cytoplasma, es gibt keine Kompartimentierung in der Zelle; allgemein sind prokaryontische Zellen kleiner als eukaryontische. Zu den Prokaryonten gehören Bakterien und Blaualgen, zu den Eukaryonten Pflanzen, Tiere und Pilze.

Der Zellkern enthält den Hauptbestandteil der genetischen Information, die in Form einer molekularen Buchstabenschrift verschlüsselt festgelegt ist. Träger dieser Information ist ein sehr langes, fadenförmiges Molekül, die **Desoxyribonukleinsäure** (DNS oder

DNA), das in einer Doppelhelix vorliegt. Seine Struktur ist mit der einer verdrehten Strickleiter vergleichbar (Abb. 2); die beiden in Längsrichtung verlaufenden Stränge sind aus Zuckermolekülen mit 5 C-Atomen, der **Desoxyribose**, aufgebaut. Jedes Zuckermolekül ist mit dem nächsten über eine **Phosphatgruppe** verbunden. Die Querverbindung der beiden Stränge, gleichsam die Leitersprossen, bestehen aus jeweils einem Paar von organischen **Basen** (verbunden durch eine Wasserstoffbrücke), das eine Brücke zwischen zwei gegenüberliegenden Zuckern bildet. Für die DNA sind die folgenden vier Basen charakteristisch: **Adenin** (A), **Thymin** (T), **Guanin** (G) und **Cytosin** (C). Es paaren sich jeweils nur A und T über zwei Bindungsstellen, sowie G und C über drei.

Für zwei wichtige Vorgänge im Zellgeschehen können die Bindungsstellen entlang des DNS-Moleküls wie ein Reißverschluss gelöst werden: (a) für das Ablesen der genetischen Information und (b) für die Zellteilung.

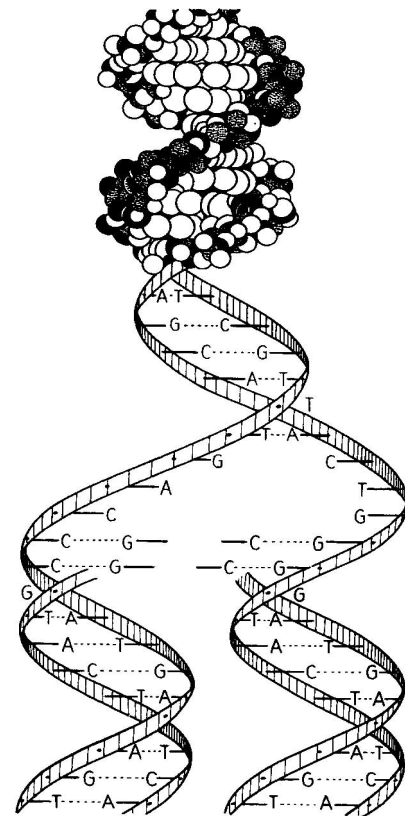


Abb. 2. Struktur der DNA. Oben: Kalottenmodell des Doppelstranges; diese Darstellung gibt die räumliche Anordnung des Moleküls wieder. Mitte: Skelettartige Darstellung der aufgespaltenen DNA und deren Replikation. Unten: Die beiden fertigen, identen Doppelstränge

(a) Der enorme in der DNA gespeicherte Informationsgehalt wird durch die Abfolge der vier

Basen, also ihrer Sequenz festgelegt. Der genetische Code benötigt demnach nur die vier „Buchstaben“ A, T, G und C. Umgesetzt wird die Information so, dass je drei bestimmte aufeinander folgende Basen (ein **Triplet**) für eine bestimmte **Aminosäure** stehen. Aminosäuren, und zwar 20 verschiedene, sind die Bausteine der Eiweißmoleküle (**Proteine**). Sie spielen eine zentrale Rolle im Stoffwechsel, da sie als Katalysatoren (**Enzyme**) den Aufbau, Umbau und Abbau praktisch aller organischer Verbindungen und Strukturen im Zellgeschehen steuern.

Wie werden Proteine synthetisiert?

In einem bestimmten Abschnitt des DNA-Moleküls lösen sich die Wasserstoffbrücken zwischen den Basenpaaren, es liegen nun 2 einzelne DNA-Stränge im Kern vor. Von einem dieser Stränge wird die Information für eine Aminosäure abgelesen. Hierzu wird im Kern ein RNS-Strang synthetisiert. Die **RNS** (RNA) ist ein Einzelstrang, dessen Zucker eine **Ribose** ist. Die Basen in der RNA sind **Adenin**, **Uracil** statt Thymin, **Cytosin** und **Guanin**, es koppeln sich Adenin mit Uracil und Cytosin mit Guanin. Zum Ablesen der Information legt sich der RNA-Strang an den DNA-Strang an, es koppeln die Basen der Reihe nach an einem der aufgespaltenen DNA-Stränge an, wobei U an der DNA an A ankoppelt. Die anderen 3 Basen koppeln so wie innerhalb der DNA auch, nämlich G an C und A an T. Ist die Information der DNA von der RNA abgeschrieben worden, trennt sich der Strang und die **m-RNA** (messenger RNA) wandert aus dem Kern und legt sich an ein Ribosom an. **Ribosomen** sind Zellorganellen, in denen die Proteinsynthese stattfindet. Die m-RNA trägt jetzt den Code zur Synthese von Proteinbausteinen, den sie im Kern von der DNA als Informationsbefehl abgelesen hat. Aminosäuren sind Bausteine der Proteine. Es gibt 20 Aminosäuren, für jede dieser 20 Aminosäuren ist die Abfolge von je 3 Basen (Triplet) charakteristisch. Für jede der 20 Aminosäuren gibt es eine **transfer RNA**. Die t-RNA ist wie ein Stecker gebaut. Der Stecker besteht am vorderen Ende aus einem Basen-Triplett und am hinteren Ende aus einer Aminosäure. Von innen im Ribosom wird die von der m-RNA abgeschriebene Information von der transfer-RNA übersetzt, es werden Basenpaare gebildet und zwar U mit A und G mit C. Die Aminosäuren am hinteren Ende der t-RNA werden mit Peptidbindungen durch **Ligasen** (Enzyme, die Verbindungen knüpfen) verknüpft. Nach Abschluss lösen sich die Wasserstoffbrücken zwischen den Basenpaaren der RNA-Stränge, die m-RNA wandert in den Kern zurück, und das entstandene Protein wandert

aus dem Ribosom.

(b) Im Zuge der Zellteilung entstehen aus einer Mutterzelle zwei Tochterzellen. Als Vorbedingung dafür muss die DNA durch **Replikation** verdoppelt werden. An die einzelnen Basen entlang der getrennten Einzelstränge binden die jeweils komplementären Basen und ergänzen zusammen mit Desoxyribosen und Phosphatgruppen den Einzelstrang zum Doppelstrang. Da dieser Vorgang an beiden Einzelsträngen abläuft, liegen als Ergebnis zwei idente Doppelstränge vor.

Dieser genial einfache Mechanismus stellt sicher, dass in jeder einzelnen Körperzelle eines Organismus nicht nur seine gesamte, sondern auch die gleiche genetische Information vorliegt. Es ist deshalb unter bestimmten Bedingungen möglich, aus einer einzigen Zelle mit den Methoden der Gewebekultur einen kompletten Organismus zu regenerieren. Abschließend sei bemerkt, dass im Verlauf der Entwicklung und je nach Spezialisierung der Zellen immer nur ein kleiner Teil der genetischen Information abgelesen und umgesetzt wird.

Zur Transkription und Replikation liegt die DNS im Kern entfaltet vor. Bei der eigentlichen Kernteilung aber ist das fadenförmige Molekül zu kompakten Strukturen kondensiert. Bei maximaler Kondensation im Zuge der Kernteilung sind diese Gebilde, die **Chromosomen**, sogar im Lichtmikroskop erkennbar (siehe 2. Übung).

DIE PLASTIDEN

Plastiden sind typische Zellorganellen der grünen Pflanzen und fehlen bei Bakterien, Blaualgen, Pilzen und allen Tieren. Sie gehen wie der Kern durch Zweiteilung aus ihresgleichen hervor. Sie verfügen deshalb auch über eigene DNA, RNA und Ribosomen. Das DNA-Molekül ist allerdings relativ klein, ringförmig geschlossen und bildet kein kompaktes Chromosom wie im Kern.

Alle Plastidenformen leiten sich bei höheren Pflanzen von den **Proplastiden** her und sind weitgehend ineinander umwandelbar. Die Proplastiden finden sich in jungen Zellen und Geschlechtszellen. Sie bestehen aus einer Doppelmembran und einer relativ dichten Grundsubstanz ohne besondere Gliederung.

Die **Leukoplasten** sind farblose Plastiden, die in völlig chlorophyllfreien Blütenpflanzen (Parasiten), in unterirdischen Organen (Wurzeln und Wurzelstöcken) und in farblosen und panaschierten (grün-weiß gefleckten) oberirdischen Geweben vorkommen. In Speicherorganen bauen sie aus Zuckern Stärke auf und speichern diese, sie werden in diesen Fällen als **Amyloplasten** oder Stärkebildner bezeichnet.

Die **Chloroplasten** sind durch den Gehalt an Chlorophyllen, den wichtigsten Pigmenten der Photosynthese, grün gefärbt. Außerdem enthalten sie - farblich vom Chlorophyll überdeckt - rötliche und gelbliche Carotinoide (Carotine und Xanthophylle), die bei der Photosynthese Hilfsfunktionen erfüllen.

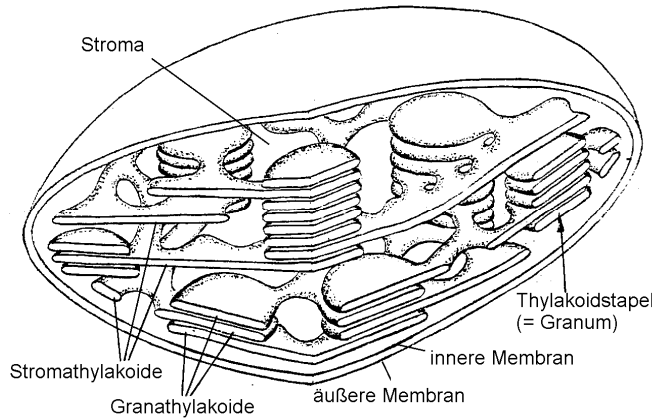


Abb. 3. Chloroplast, angeschnitten, um die Anordnung der Thylakoidmembranen zu zeigen

Die Grundsubstanz der Chloroplasten, das **Stroma**, enthält zahlreiche Membranen, die sogenannten **Thylakoide** (Abb. 3). Diese Membranen hängen untereinander zusammen und sind bei höheren Pflanzen in kurze Granathylakoide und lange Stromathylakoide differenziert. Die Granathylakoide sind gruppenweise zu Stapeln, den **Grana**, übereinandergeschichtet, während die Stromathylakoide die Grundsubstanz meist in größeren Abständen durchziehen. Die Chlorophylle sind auf Thylakoiden lokalisiert; im Lichtmikroskop sind bei geeigneten Objekten die Grana als grüne Bereiche im farblos erscheinenden Stroma zu erkennen.

Die Thylakoide sind nicht stabil und starr, sondern ändern vielmehr in Abhängigkeit von äußeren Bedingungen, besonders der Belichtung, ihre Form. Diese vielschichtige Lamellenstruktur bewirkt eine gewaltige Vergrößerung der inneren Oberfläche. Auf und in diesen Membranen sind die Chlorophyllmoleküle und die zur Photosynthese nötigen Enzyme nach einem bestimmten System angeordnet. Die Hauptaufgabe der Chloroplasten ist die Photosynthese, der Aufbau von Zuckern aus anorganischen Grundstoffen unter Ausnützung der Sonnenenergie. Der Gesamtvorgang ist sehr kompliziert und besteht aus einer großen Anzahl von Einzelreaktionen. In der Summe ergibt sich folgende Gleichung:

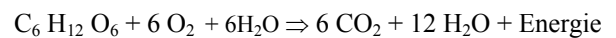


Diese Syntheseleistung der Chloroplasten ist die Grundlage allen Lebens auf Erden!

Die **Chromoplasten** finden sich in gelben und orangegefärbten Blüten (z.B.: Narzissen, Kapuzienkresse, Trollblume), in Früchten (Tomate, Hagebutte) und manchmal auch in vegetativen Pflanzenteilen, etwa der Karottenwurzel. (Allerdings sei darauf hingewiesen, dass keineswegs alle Gelb-, Rot- und Orangetöne durch Chromoplasten bewirkt werden; oft sind auch Zellsaftfarbstoffe beteiligt, wie etwa bei Rose und Tomate, oder auch allein verantwortlich, wie bei roten Zwiebeln und roten Rüben). Die Chromoplasten sind photosynthetisch inaktiv und finden sich besonders in spezialisierten und in alternden Zellen. In alternden Zellen lassen z.B. die Herbstlaubplastiden einen Zusammenbruch der Feinstruktur der Thylakoide erkennen, die Färbung beruht auf dem hohen Gehalt an lipophilen (fettlöslichen) Carotinoiden. Die Chromoplasten und ihre Farbstoffe spielen zwar im Zellstoffwechsel keine bedeutende Rolle mehr, können aber ökologisch sehr wichtig sein (Anlockung von Tieren für Befruchtung und Samenverbreitung).

DIE MITOCHONDRIEN

Im Gegensatz zu den Plastiden, in denen sich aufbauende Stoffwechselleistungen (Photosynthese, Stärkeaufbau) vollziehen, handelt es sich bei den viel kleineren Mitochondrien, die in keiner pflanzlichen oder tierischen Zelle (wohl aber bei Bakterien und Blaualgen) fehlen, um Strukturen, die in erster Linie der Energiegewinnung durch den Abbau energiereicher Kohlenstoffverbindungen dienen (Kraftwerke der Zelle). Diesen Abbau unter Energiegewinn nennt man **Zellatmung**:



Nur Teile der komplizierten Abbauvorgänge, die in dieser einfachen Summenformel zusammengefasst sind, spielen sich in den Mitochondrien ab, darunter jene Schritte, bei denen am meisten Energie frei wird. Das Wesen der Energieproduktion bei der Atmung besteht nicht in der Freisetzung von Wärme, wie dies bei der summenmäßig gleichen Verbrennung von Zucker in einer Sauerstoffatmosphäre der Fall wäre: Bei der Atmung bleibt ein Großteil der Energie als chemische Energie in energiereichen Verbindungen, wie z.B. Adenosintriphosphat (ATP), gespeichert. Diese Verbindungen werden im Zellstoffwechsel überall dort eingesetzt, wo Energie erforderlich ist (aktiver Transport, Syntheseleistungen).

Die Mitochondrien sind zwar im Lichtmikroskop erkennbar, doch benötigt man eine spezielle optische Ausrüstung oder besondere Färbemethoden, um sie deutlich zu sehen. Sie erscheinen dann als längliche bis ovale Gebilde (Abb. 4).

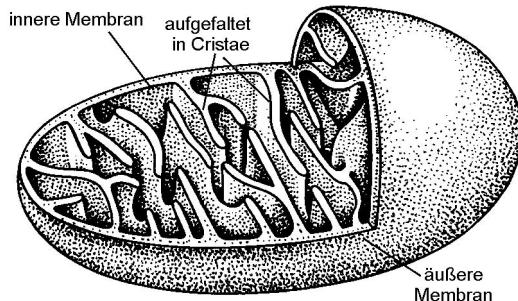


Abb. 4. Mitochondrium, angeschnitten, um die eingefaltete Innenmembran zu zeigen

Sie besitzen wie die Plastiden eine Doppelmembran, deren innere Hälfte sich einstülpt. Mitochondrien gehen wie Plastiden auseinander durch Teilung hervor. Auch ihr genetischer Apparat ist mit dem der Plastiden vergleichbar.

WEITERE ZELLORGANELLEN

Im Folgenden seien einige weitere Organellen aufgelistet, deren Feinbau erst elektronenmikroskopisch aufgeklärt werden konnte.

Das **endoplasmatische Reticulum (ER)** ist ein Netzwerk verzweigter Membranen, die das Plasma durchziehen. Sie umhüllen einen meist flachen Innenraum. An der dem Plasma zugekehrten Außenseite haften in bestimmten Regionen die Ribosomen für die Synthese von Proteinen. Daneben finden sich auch Ribosomen frei im Plasma. Das ER hat ferner Anteil an der Bildung der Kernmembran.

Die **Dictyosomen** sind wie das ER flache Membransysteme, allerdings scheibenförmig übereinandergestapelt und ohne Ribosomenbesatz. In ihrem Inneren findet die Synthese von Sekreten und anderen Substanzen statt, die aus einer Zelle ausgeschleust werden. In erster Linie wäre die Bildung von Zellwandmaterial zu nennen. Von den Rändern der scheibenförmigen Membranstapel schnüren sich Bläschen (Vesikel) ab, wandern an das Plasmalemma, verschmelzen mit diesem und entleeren den Inhalt nach außen. Nach ihrem Entdecker **GOLGI** heißt die ganze Anordnung auch **Golgi-Apparat** und die Vesikel **Golgi-Vesikel**.

Abschließend sei noch das so genannte **Cytoskelett**

erwähnt. Es besteht aus kontraktilen Proteinmolekülen, entweder fadenförmig (**Mikrofilamente**) oder röhrenförmig (**Mikrotubuli**). Sie verbinden die einzelnen Organellen oder Strukturen miteinander und können diese im Plasma bewegen und verschieben. So ziehen sie z.B. bei der Kernteilung die Tochterchromosomen auseinander, oder sie verlagern Chloroplasten innerhalb der Zelle.

DIE BIOMEMBRANEN

sind zu dünn (5 - 10 nm), um im Lichtmikroskop selbst sichtbar zu sein, können aber lokalisiert werden, wenn die beiden angrenzenden Kompartimente z.B. unterschiedlich gefärbt sind. Sie sind für gelöste Stoffe unterschiedlich leicht, für andere gar nicht passierbar und werden daher als **selektiv permeabel** bezeichnet (Permeabilität = Durchlässigkeit). Diese Membraneigenschaft ermöglicht die Aufteilung der Stoffe auf einzelne Reaktionsräume, in denen die Vereinigung der Enzyme mit ihren **Substraten** (= Substanzen, deren Umbildung die Enzyme beschleunigen) gesteuert werden kann. Membranen dienen der **Kompartimentierung** der Zelle und ihrer Abgrenzung zur Umwelt.

Alle Biomembranen bestehen aus einer Doppelschicht von **Lipiden**, die an einem Ende **hydrophile** Gruppen tragen, die Wassermoleküle oder wasserlösliche Substanzen anziehen und binden, am anderen Ende **hydrophobe** (Wasser unlösliche, fettlösliche) Gruppen. Im wässrigen Milieu der Zelle taucht der hydrophile Bereich des Moleküls in das Wasser ein, während die hydrophoben Enden mit denen der gegenüberliegenden Schicht in Kontakt treten. Auf diese Weise entsteht in den Membranen eine **Doppelschicht** aus Lipidmolekülen. In diese Membranmatrix sind verschiedene Proteine, die wesentlich Eigenschaften und Funktion der Membran bestimmen, eingebettet oder daran angelagert (Abb. 5). Der Aufbau aus Lipiden und Proteinen bedingt die selektive Permeabilität der Membran. Die Permeabilität vieler wichtiger Stoffe (Nährstoffe, Zucker etc.) kann durch die Proteine kontrolliert werden, wodurch sich unterschiedliche Konzentrationen an den beiden Seiten ergeben. Durch **aktiven Transport**, der biochemischer Energie bedarf, können Substanzen **gegen** einen Konzentrationsgradienten transportiert und angereichert werden, wobei zwischen Zelle und Umgebung ein Ungleichgewicht entsteht. Wichtige Nährsalze, die im Außenmedium oft nur in Spuren vorhanden sind, werden im Zellinneren zu vielfach höheren Konzentrationen akkumuliert. **Mit** dem Konzentrationsgradienten erfolgt der Transport ohne

Energieaufwand, oder es kann daraus sogar biochemische Energie gewonnen werden.

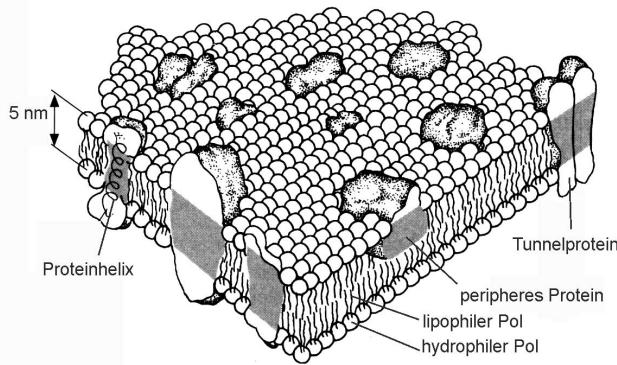


Abb. 5. Modell der Lipidmembran mit integrierten Proteinen

OSMOSE

Die wichtigste Substanz, die von außen in die Zelle eindringt, ist das **Wasser**. Plasmalemma und Tonoplast sind für Wasser außerordentlich leicht zu durchdringen. Diffusion von Wasser durch eine selektiv permeable Membran bezeichnet man als **Osmose**. Wasser wandert dabei stets aus einem Bereich höherer Wasserkonzentration (d.h. niedrigerer Konzentration an gelösten Stoffen) in einen Bereich niedrigerer Wasserkonzentration (d.h. höherer Konzentration an gelösten Stoffen). Entscheidend für alle osmotischen Erscheinungen ist die **Zahl** der gelösten Teilchen, nicht ihre chemische Natur. Lösungen werden **isotonisch** genannt, wenn sie die gleiche Anzahl gelöster Teilchen enthalten. In einer **hypotonischen** Lösung ist die Konzentration an gelösten Substanzen niedriger als in der Vergleichslösung, in einer **hypertonischen** Lösung hingegen höher. Wasser hat immer die Tendenz, aus einem Kompartiment mit einer **hypotonischen** Lösung in ein Kompartiment mit einer **hypertonischen** Lösung zu strömen, bis die beiden Lösungen isotonisch sind.

TURGORDRUCK

Im Normalfall ist die Konzentration osmotisch wirksamer gelöster Substanzen in der Zelle höher als in der (hypotonischen) Außenlösung, wodurch sich ein Konzentrationsgradient ergibt. Da die Membranen selektiv permeabel sind und Wasser sehr gut, gelöste Stoffe hingegen nicht (oder lediglich in beschränktem Ausmaß) permeieren, dringt nur Wasser ein und strömt in das Plasma und die Vakuole. Der Wassereinstrom erzeugt im Zellinneren einen höheren Druck, der das Plasma gegen die Zellwand presst. Die Zellwand selbst ist für gelöste Stoffe frei passierbar. Dieser

hydrostatische Druck wird **Turgordruck** genannt. Die Zellwand dehnt sich elastisch, bis ihr Gegendruck (Wanddruck) eine weitere Ausdehnung verhindert. Der Turgordruck hält die Zellwände und damit die Gewebe gespannt: sie sind **turgeszent**. Dieses Prinzip verleiht selbst zartwandigen Zellen und Geweben mechanische Festigkeit.

PLASMOLYSE UND DEPLASMOLYSE

Wird die Zelle in eine hypertonische Außenlösung gebracht, die mehr gelöste Stoffe als der Zellsaft enthält, so herrscht im Zellsaft eine höhere Konzentration an Wassermolekülen vor. Daher wird Wasser freiwillig aus der Vakuole in die Außenlösung permeieren. Dadurch wird dem Protoplasten Wasser entzogen, der Turgordruck nimmt ab und die Spannung der Zelle geht verloren: sie welkt. Die Wasserabgabe der Zelle muss so lange weitergehen, bis Zellsaft und Außenlösung die gleiche Konzentration an gelösten Stoffen haben. Erst dann ist auch die Konzentration an Wasser gleich. Ist ohne Turgor die Konzentration der gelösten Stoffe außen immer noch höher als innen, strömt weiter Wasser aus der Vakuole durch das Protoplasma in die Außenlösung. Da die Zellwand selbst relativ starr ist und sich nicht zusammen zieht, die Vakuole aber ihr Volumen verringert, folgt das Protoplasma der Vakuole und löst sich von der Zellwand los. Die Außenlösung (das **Plasmolytikum**) dringt zwischen den Protoplasten und die Zellwand ein (Abb. 6). Diese Erscheinung heißt **Plasmolyse**.

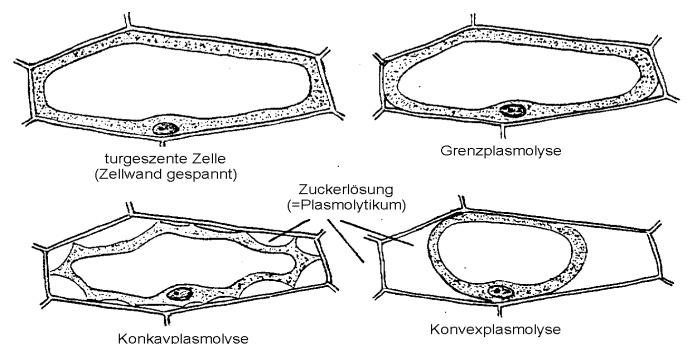


Abb. 6. Plasmolyse in Zuckerlösung, schematisch

Der Ablauf einer Plasmolyse wird durch Skizzen verdeutlicht. Legt man kleine Stücke eines Pflanzengewebes in eine Traubenzuckerlösung, die mehr gelöste Teilchen enthält als in der Vakuole vorhanden sind, so heben sich nach kurzer Zeit die Protoplasten an einigen Stellen von der Wand ab. Diese konkaven Buchten

werden immer größer (**Konkavplasmolyse**). Später runden sich die Protoplasten manchmal vollständig ab (**Konvexplasmolyse**).

Werden die plasmolysierten Zellen wieder in eine hypotonische Außenlösung gebracht (Zusatz von reinem Wasser!), so dehnen sich die noch lebenden Protoplasten erneut aus und legen sich der Zellwand an. Die Plasmolyse wird rückgängig gemacht (**Deplasmolyse**).

Da nur lebendes Protoplasma selektiv permeable Membranen besitzt, ist die Plasmolyse ein wichtiger Nachweis dafür, dass eine Zelle lebt. Abgestorbene Protoplasten sind für Wasser und gelöste Stoffe gleich durchlässig. Nach dem Zelltod gehen Turgordruck und Gewebespannung verloren, der Plasmaschlauch hebt sich auch in konzentrierten Zuckerlösungen nicht mehr von der Zellwand ab.

ZELLEN IM VERBAND

Die Zelle ist ein dreidimensionales Gebilde, das von mehreren Nachbarzellen umgeben wird. Nach der groben Dimension der Zelle unterscheidet man zwei Formen: **isodiametrische** Zellen sind in alle Richtungen des Raumes ungefähr gleich ausgedehnt, **prosenchymatische** Zellen sind flach und langgestreckt.

Als **Gewebe** wird ein Verband von Zellen bezeichnet, die eine Funktionseinheit bilden (Abb. 7). Durch Auflösen der **Mittellamellen** zerfallen Gewebe in Einzelzellen, ein Vorgang, der als **Mazeration** bezeichnet wird. Fast alle Gewebe können durch mehr oder minder drastische Eingriffe (z.B. Kochen) mazeriert werden. Bei der natürlichen Mazeration sind dafür zelleigene Enzyme verantwortlich, deren Bildung vom Protoplasma gesteuert wird. Der bekannteste dieser Vorgänge spielt sich in fleischigen Früchten ab: Die im unreifen Zustand harten, festen Gewebe zerfallen bei der Reife in ihre Einzelzellen. Die Protoplasten werden dadurch in ihrer Lebenstätigkeit nicht beeinträchtigt und natürlich mazerierte Zellen können zumindest eine Zeit lang weiterleben.

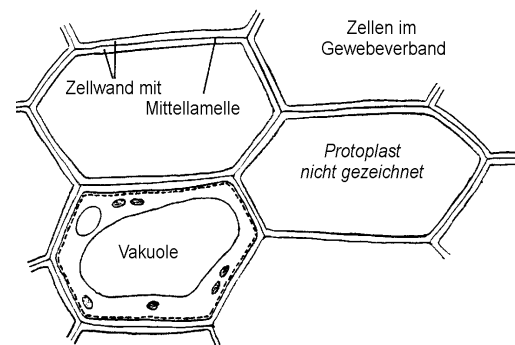


Abb. 7. Zellen im Gewebeverband

1. Übung

DAS MIKROSKOPIEREN

DIE PFLANZENZELLE

ALLGEMEINES ZUR LICHTMIKROSKOPIE

Zwei eng benachbarte Punkte können vom unbewaffneten menschlichen Auge nur dann "aufgelöst", d.h. als getrennt wahrgenommen werden, wenn sie mehr als 100 μm voneinander entfernt sind (1 Mikrometer [μm] = 1/1000 mm = 1000 Nanometer [nm]). Strukturen, die näher als 100 μm beisammenliegen, können mit Hilfe **optischer Systeme**, die den Sehwinkel des Auges vergrößern, getrennt werden.

Ein solches optisches System, bei dem zwei Linsen, **Objektiv** und **Okular**, hintereinander geschaltet sind, wird als **zusammengesetztes Mikroskop** bezeichnet. Das **Objektiv** erzeugt ein reelles, vergrößertes, seitenverkehrtes Zwischenbild des Objektes (1. Vergrößerungsstufe). Das als Lupe wirkende **Okular** vergrößert dieses Bild ohne nochmalige Umkehr (2. Vergrößerungsstufe).

Für die Qualität eines Mikroskopes ist allerdings in erster Linie nicht die **Vergrößerungsleistung** (= Vergrößerung Objektiv x Vergrößerung Okular), sondern das **Auflösungsvermögen** entscheidend. Letzteres ist ein Maß für die Unterscheidbarkeit zweier Punkte und wird ausschließlich durch die Qualität des Objektivs bestimmt. Je höher die Auflösung, umso geringer ist die Schärfentiefe. Die Grenze des lichtmikroskopischen Auflösungsvermögens liegt bei 0.2 μm oder 200 nm.

BAU UND HANDHABUNG DES MIKROSKOPS

Der Aufbau und die wichtigsten Bestandteile des in den Übungen verwendeten Mikroskops werden aus Abb. 8 ersichtlich. Das **optische System**, bestehend aus **Leuchte**, **Kondensor** mit **Irisblende**, **Objektiv** und **Okular**, liefert von dem im Präparat eingeschlossenen Objekt ein **vergrößertes** und **seitenverkehrtes Bild**.

Die beiden Objektive erlauben, verschieden starke Vergrößerungen zu wählen. Das Objektiv mit dem gelben Markierungsring ergibt zusammen mit einer 10-fachen Okularvergrößerung eine 100-fache Gesamtvergrößerung, das Objektiv mit dem blauen Markierungsring eine 600-fache. (**Achtung: Je größer die**

Eigenvergrößerung des Objektivs, desto geringer wird der Abstand zwischen Frontlinse und Deckglas!)).

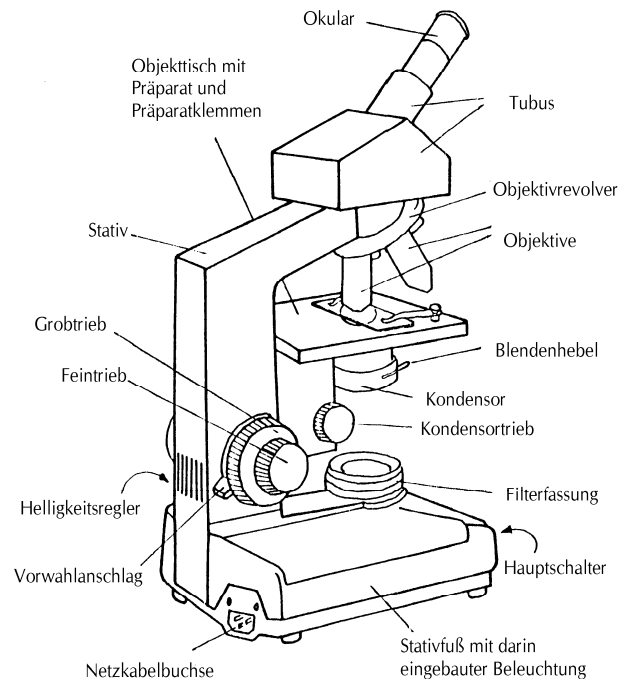


Abb. 8. Bau des Lichtmikroskops

INBETRIEBNAHME DES MIKROSKOPS UND EINSTELLEN EINES PRÄPARATES

Das Mikroskop wird so aufgestellt, dass der Objektisch vor dem Stativ liegt und dem Beobachter zugewandt ist. Der geneigte Tubus mit dem Okular kann nach Lockern der rechts liegenden Rändelschraube nach vorne geschwenkt werden. Es sollte mit dem linken Auge beobachtet und rechts neben dem Mikroskop gezeichnet werden (für Linkshänder umgekehrt!).

Nach dem Einschalten des Lichtes legt man das Präparat mit dem Deckglas nach oben so auf den Objektisch, dass das Objekt genau über der Mitte der Kondensorlinse zu liegen kommt, und befestigt es mit Präparatklemmen. Der Kondensor sammelt die Lichtstrahlen in der Objektebene und leuchtet das Präparat exakt aus. Das ist bei den Kursmikroskopen dann der Fall, wenn sich der Kondensor in der höchsten Stellung befindet.

Die optische Scharfstellung erfolgt durch Heben und Senken des Objektisches, also durch Einstellen einer bestimmten Entfernung zwischen Präparat und Objektiv. Zunächst wird das schwach vergrößernde Objektiv (gelber Markierungsring!) in die optische Achse

eingeschwenkt. Dann wird mit dem **Grobtrieb** das Präparat bis ca. 8 mm an das Objektiv herangebracht. Die Irisblende am Kondensor ist so weit zu schließen, dass das Präparat gerade noch beleuchtet wird. Nun blickt man in das Okular und dreht den Objektstisch mit Hilfe des Grobtriebes langsam hoch, bis das mikroskopische Bild des Objektes erscheint. Die weitere Scharfeinstellung erfolgt mit dem **Feintrieb**. Gleichzeitig wird mit der Irisblende auf optimalen Kontrast eingestellt.

Soll eine bestimmte Stelle im Präparat stärker vergrößert werden, wird das Präparat auf dem Objektstisch so lange verschoben, bis diese Stelle genau in der Mitte des Blickfeldes liegt. Nun schwenkt man vorsichtig das stärker vergrößernde Objektiv (blauer Markierungsring!) in die optische Achse, bis der Objektivrevolver einrastet. Das erscheinende Bild wird meist etwas unscharf, auf jeden Fall aber zu dunkel sein. Man erhöht die auf das Objekt einfallende Lichtmenge durch Betätigen des Helligkeitsreglers und stellt mit dem **Feintrieb** die Schärfe nach. Auf keinen Fall darf nun mit dem Grobtrieb operiert werden, da der Abstand zwischen dem Objektiv und dem Präparat so klein ist, dass die Frontlinse des Objektivs beschädigt werden könnte (beim kleineren Objektiv beträgt der Abstand rund 7 mm, beim größeren nur ca. 0.2 mm!). **Vor dem Präparatwechsel muss immer auf das kleinere Objektiv zurückgedreht werden!** Nach richtiger Positionierung des neuen Präparates wird mit dem Feintrieb scharf gestellt. Eine Neueinstellung durch Betätigung des Grobtriebes ist nicht notwendig.

DAS MIKROSKOPISCHE BILD

Das mikroskopische Bild ist zweidimensional, dennoch kann man bei entsprechender Handhabung der Irisblende eine Vorstellung von der räumlichen Ausdehnung eines Objektes gewinnen. Wie bei einem Fotoapparat ist die Schärfentiefe von der Einstellung der **Irisblende** abhängig: bei kleiner Blende ist die Schärfentiefe groß und das Objekt erscheint in seiner ganzen räumlichen Tiefe scharf. Bei der Durchleuchtung dreidimensionaler Objekte überlagern sich allerdings die einzelnen Ebenen, wodurch die Struktur oft schwerer zu erkennen ist. Bei geöffneter Blende wird die Schärfentiefe gering, sodass nur noch ein schmaler Bereich des Objektes scharf abgebildet wird: Man beobachtet einen optischen Schnitt. Beobachtet man nun, während man den Feintrieb betätigt, eine Abfolge von solchen Schnittbildern, kann eine räumliche Vorstellung des Objektes gewonnen werden.

HERSTELLUNG MIKROSKOPISCHER PRÄPARATE

Ein mikroskopisches Präparat besteht aus dem Objektträger, dem in ein meist flüssiges Medium (meist Wasser) eingebetteten Objekt und dem Deckglas. Die Herstellung eines solchen Frischpräparates zeigt Abb. 9.

Zunächst wird auf einen gereinigten Objektträger ein Tropfen destilliertes Wasser (Aqua dest.) aufgebracht und darin das zu beobachtende Objekt (ein Pflanzenschnitt, Einzelzellen) eingelegt. Dann setzt man das Deckglas schräg an den Tropfen und lässt es mit Unterstützung einer Präpariernadel langsam auf den Objektträger niedergleiten. Wichtig ist die Tropfengröße: Zu viel Wasser verursacht ein Wegschwimmen des Deckglases, zu wenig Wasser den Einschluss von Luftblasen und die Zerstörung empfindlicher Objekte durch Adhäsionsdruck.

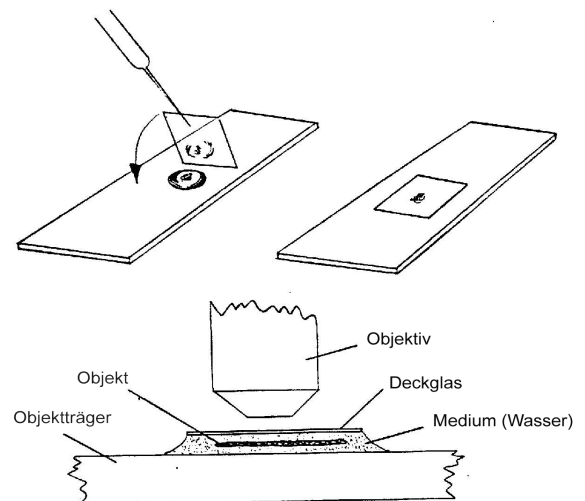


Abb. 9. Herstellen eines mikroskopischen Präparates

Einige **Fehler**, die beim Mikroskopieren auftreten, und ihre Ursachen:

Undeutliches und trübes Bild ⇒ Okularlinse verschmutzt (Trübung dreht sich beim Drehen des Okulars mit); Frontlinse des Objektivs verschmutzt; Deckglas verschmutzt; Wasser unter dem Deckglas verdunstet; Wasser zwischen Deckglas und Frontlinse

Mit kleinem Objektiv ein "normales" Bild, mit großem Objektiv kein Bild ⇒ Objektiv berührt das Glas, weil Objektträger verkehrt liegt (Deckglas nach unten)

Beim Heben und Senken des Objektstisches verschiebt sich das Bild seitlich ⇒ Wasser zwischen Deckglas

und Frontlinse; Objektivrevolver nicht ganz eingerastet; Objekt zu dick, das Deckglas liegt schief und berührt die Frontlinse

Beugungsränder, zu starke Kontraste ⇒ Irisblende zu stark geschlossen

Zarte Strukturen zu hell bis überstrahlt ⇒ Irisblende zu stark geöffnet; Helligkeit der Lampe zu hoch eingestellt

DAS MIKROSKOPISCHE ZEICHNEN

Mikroskopisches Zeichnen erfordert genaue Beobachtung und Verständnis des gesehenen Objektes. Eine mikroskopische Zeichnung soll das Wesentliche herausarbeiten, von Zufälligem oder gar Störendem soll abstrahiert werden. In dieser Hinsicht ist eine sorgfältig durchgearbeitete Zeichnung der Mikrofotografie überlegen. Wissenschaftliches Zeichnen setzt keine künstlerische Begabung voraus, sondern ist prinzipiell von jedem erlernbar.

Die Zeichnungen müssen **während** der Übungseinheit im Zeichenheft ausgeführt werden. Die nachträgliche Übertragung von Skizzen ins Zeichenheft führt ohne mikroskopische Kontrolle zu sachlichen Fehlern. Die Zeichnung sollte nicht zu klein begonnen werden und ca. 2/3 bis 3/4 des A5 Blattes füllen. Zuerst werden mit einigen skizzenhaften Strichen die richtigen Lagebeziehungen und Proportionen festgelegt, anschließend die Details herausgearbeitet. Sind größere Gewebebereiche zu zeichnen, empfiehlt es sich, eine Übersichtszeichnung anzufertigen und lediglich charakteristische Ausschnitte im Detail darzustellen. Alle Bleistiftlinien sollen sauber durchgezogen und nicht gestrichelt werden. Die Verwendung von Farb- und Filzstiften ist unerwünscht, ebenso die Schraffur von Flächen. Alle identifizierten Strukturen werden mit Bleistift beschriftet.

Jede Zeichnung trägt einen Titel (Name des Objekts und dargestellte Strukturen), der der Präparationsanleitung zu entnehmen ist.

***Mnium* sp. (Mniaceae)**
 Sternmoos
 Blättchen
 Zellen mit Chloroplasten

Herstellung des Präparates

Die Blättchen dieses Mooses sind aus einer einzigen Lage von flachen Zellen aufgebaut. Es genügt, ein Blättchen mit einer Pinzette herauszuzupfen, in einen

Tropfen Wasser einzubetten, und das Deckglas ohne Luft einschlüsse über das Präparat zu legen.

Zu beobachten:

Man erkennt gleichartig gestaltete, meist sechseckige Zellen, die mit ihren Zellwänden lückenlos aneinander schließen. Das Zellinnere ist dicht mit vielen Chloroplasten erfüllt, sodass andere Strukturen kaum erkennbar sind. In der Aufsicht erscheinen sie kreisrund. Bei genauer Justierung von Feintrieb und Blende sind bisweilen auch die Grana der Chloroplasten erkennbar, die sich als kleine dunkle Körnchen abheben.

Nach einiger Zeit des Beobachtens wird man erkennen, dass die Chloroplasten immer mehr an die Seitenwände wandern. Dort erscheinen sie dann, weil hochkant gestellt, elliptisch. Sie sind also räumlich gesehen linsenförmig.

Das Ausweichen an die Seitenwände wird durch das starke Licht des Mikroskops verursacht. Diese Reaktion hat am natürlichen Standort des Mooses, am schattigen Waldboden, eine Funktion. Wird das Moos von Sonnenflecken plötzlich stark belichtet, bieten die sich beschattenden Chloroplasten weniger Angriffsfläche und vermeiden so den Lichtstress.

Zu zeichnen:

- Einige Zellen im Verband. Eine Zelle mit Chloroplasten genauer

***Allium cepa* (Alliaceae)**
 Küchenzwiebel
 Zellen der Innenepidermis der Blattbasis (Zwiebelschale)

Eine Zwiebel ist ein Speicherorgan und besteht aus verdickten Blattbasen, den Zwiebelschuppen, auf einer extrem verkürzten Achse, dem Zwiebelteller.

Herstellung des Präparates

Eine Zwiebel wird zerschnitten und eine der inneren saftigen „Schalen“ (= Blattbasen) entnommen. An ihrer Innenseite setzt man mit der Rasierklinge zwei aufeinander senkrechte Reihen von Schnitten im Abstand von etwa 5 mm, sodass Quadrate entstehen. Da die Innenepidermis mit dem darunterliegenden Gewebe nur lose verbunden ist, lassen sich die quadratischen Epidermisstücke leicht mit der Pinzette abziehen (an einer Ecke anfassen!). Die Epidermis wird in einen Tropfen destillierten Wassers gebracht und mit dem Deckglas abgedeckt.

Zu beobachten:

Die Epidermis ist ein einschichtiges Gewebe, d.h. sie besteht nur aus einer einzigen Lage von Zellen. Die Zellwände bilden ein ziemlich regelmäßiges Muster von langgestreckten Fünf- oder Sechsecken. Das Plasma liegt als sehr dünner Belag der Wand an, während die Vakuole mit dem farblosen Zellsaft den Hauptbestandteil des Zellvolumens einnimmt. Im Plasma liegt ein relativ großer Kern (**Nucleus**), in dem ein bis mehrere, meist aber zwei Kernkörperchen (**Nucleoli**) als stärker lichtbrechende Scheibchen zu erkennen sind. Die Kernmembran weist bei *Allium cepa* eine typische Einstülpung auf (**Kernfalte**). Das restliche Plasma erhält durch Zellorganellen, Fetttröpfchen und andere Plasmaeinschlüsse eine körnige Struktur. In einer lebenden Zelle kann man bei genauer Beobachtung das Plasma mit seinen Einschlüssen strömen sehen.

Zu zeichnen:

- Ein Ausschnitt des Gewebes, der einige Zellen umfasst; davon eine Zelle genauer