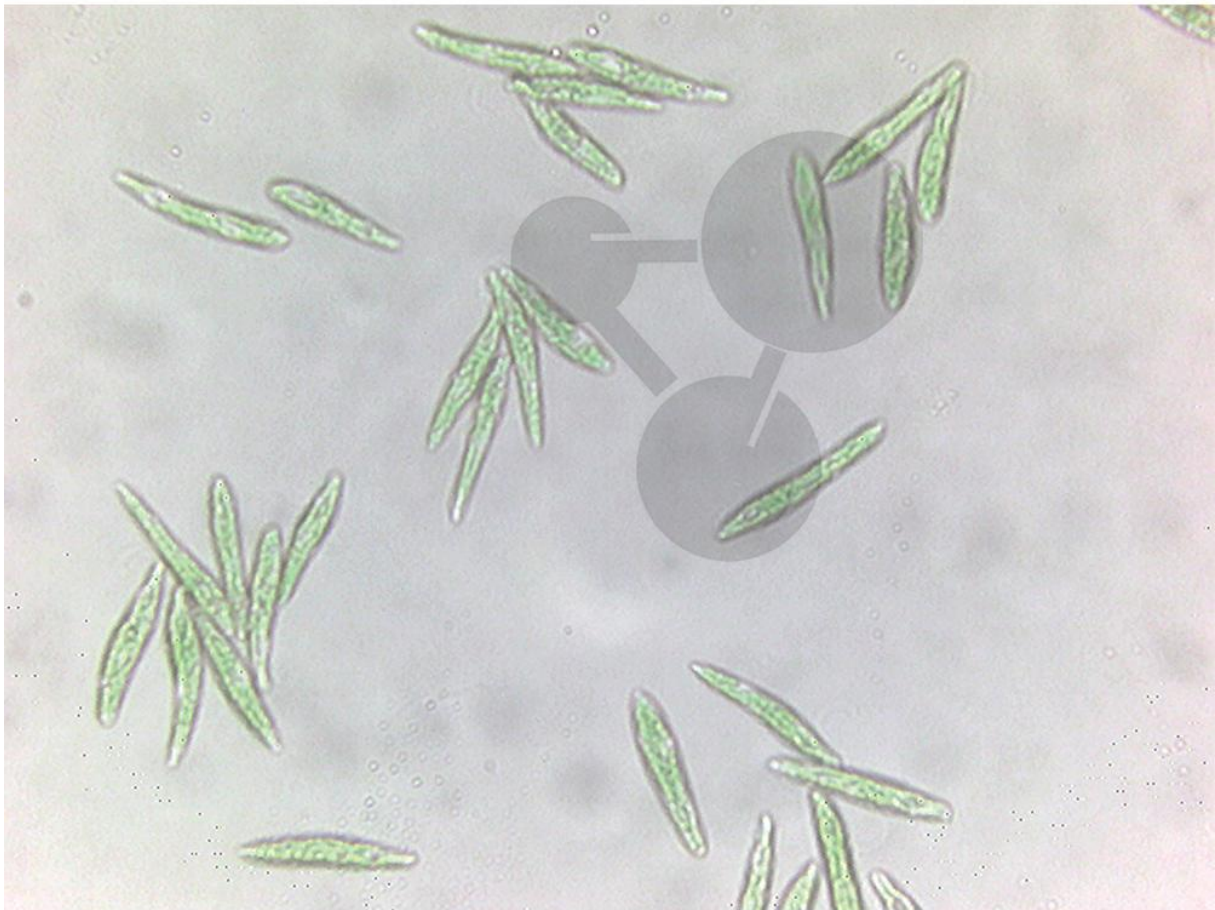


# Kit zur Stoffwechsel- physiologie



**Bei Erhalt der Lieferung:**

Überprüfen Sie die Lieferung nach Erhalt auf Vollständigkeit

**Zusammensetzung der Lieferung:**

- 1 Flasche mit 50 ml einer Suspension von Euglena (beschriftet mit „euglènes“)
- 1 Flasche mit 50 ml einer Suspension von Euglena ohne Chloroplast (beschriftet mit „euglènes sans chloroplaste“)
- 1 Flasche mit 400 ml mineralischem Medium (beschriftet mit MEUG00)
- 1 Flasche mit 400 ml organischem Medium (beschriftet mit MEUG)

**Optionales Material (für 40 Schüler oder 20 Paare):**

Beutel mit:

- 40 sterile Tropfpipetten à 3 ml (Tropfen 40 µl)
- 200 Röhrchen mit Schraubverschluss

**Erforderliches Material:**

- Mikroskop
- Objektträger und Deckgläschen
- Material entsprechend dem optionalen Material
- Permanentmarker
- Bunsenbrenner oder Laminarströmungshaube

**Empfohlenes Material:**

- Brutschrank
- Mikroskopkamera

**Lagerung:**

Lagern Sie die Nährmedien bei **+4°C** (Lagerung bis zu 6 Monate).

Lagern Sie die Stämme bei **Raumtemperatur**:

Für den Transport wurden die Stämme in hermetisch verschlossenen Fläschchen gegeben und ihnen wurde der Sauerstoff entzogen.

Wir empfehlen Ihnen, die Flasche vor der Flamme eines Bunsenbrenners oder unter einer Laminarströmungshaube zu entgasen (zu öffnen), um die in den Probengefäßen enthaltene Luft zu erneuern.

Wenn möglich, ersetzen Sie die hermetische Kappe durch sterile, kardierte Baumwolle um die Sauerstoffversorgung zu ermöglichen. Unter diesen Bedingungen sowie mit konstanter und ausreichender Beleuchtung können die Stämme von Euglena mit Chloroplasten 4 Wochen in der Transportflasche gelagert werden. Andernfalls jeden Tag oder jeden zweiten Tag entgasen.

Bei Raumtemperatur und konstantem Licht aufbewahren.

## VORBEREITUNG

### 1) Vorbereitung der Röhren mit Nährmedium:

**ACHTUNG:** Es ist unerlässlich, diesen Vorgang unter sterilen Bedingungen durchzuführen, um die Verunreinigung des Kulturmediums zu vermeiden. Jede Kontamination würde die Beobachtungen und Ergebnisse verfälschen. Arbeiten Sie vor der Flamme eines Bunsenbrenners oder unter einer Laminarströmungshaube.

Geben Sie 4 ml organisches Medium (beschriftet mit MEUG) in 80 sterile 5 ml- oder 10 ml-Röhren. Mit einem Permanentmarker jedes Röhren mit MO für „Medium organisch“ beschriften.

Geben Sie 4 ml mineralisches Medium (beschriftet mit MEUG00) in 80 sterile 5 ml- oder 10 ml-Röhren. Mit einem Permanentmarker jedes Röhren mit MM für „Medium mineralisch“ beschriften.

Lagern Sie die Röhren aufrecht bei Raumtemperatur (für 2 bis 3 Tage) oder im Kühlschrank über einen längeren Zeitraum.

**Tipp:** Es ist ratsam, Flachboden-Röhren zu verwenden, da sonst für jedes Paar ein geeignetes Gestell benötigt wird.

### 2) Vorbereitung des Arbeitsplatzes:

An jedem Arbeitsplatz sollte vorhanden sein:

- 4 Röhren organisches Medium
- 4 Röhren mineralisches Medium
- 2 sterile Tropfpipetten

### 3) Nach Abschluss der Arbeit durch die Schüler:

Inkubieren Sie die 8 Röhren bei 25°C. 4 Röhren werden im Dunkeln und 4 im Licht inkubiert. Für die Röhren, die im Licht inkubiert werden, ist ein Wechsel von Hell/Dunkel im Verhältnis von 16 h/8 h ideal.

## PRINZIP UND PÄDAGOGISCHES INTERESSE:

### A. Arbeitsorganisation:

Die praktische Arbeit findet in zwei Unterrichtseinheiten statt:

#### - Erste Unterrichtseinheit (Dauer ca. 90 min.):

- Mikroskopische Beobachtung der beiden Stämme
- Kultivierung von Stämmen auf mineralischen und organischen Medien sowie unter hellen und dunklen Bedingungen (siehe Tabelle)

	Medium organisch		Medium mineralisch	
Hell/Dunkel-Zyklus	Euglena	Euglena ohne Chloroplast	Euglena	Euglena ohne Chloroplast
Komplette Dunkelheit	Euglena	Euglena ohne Chloroplast	Euglena	Euglena ohne Chloroplast

#### - Zweite Unterrichtseinheit (in der folgenden Woche oder zwei Wochen später):

- Mikroskopische Beobachtung von Stämmen nach Kultivierung
- Beurteilung der Zellkonzentration gemäß den Kulturbedingungen
- Interpretation der Ergebnisse

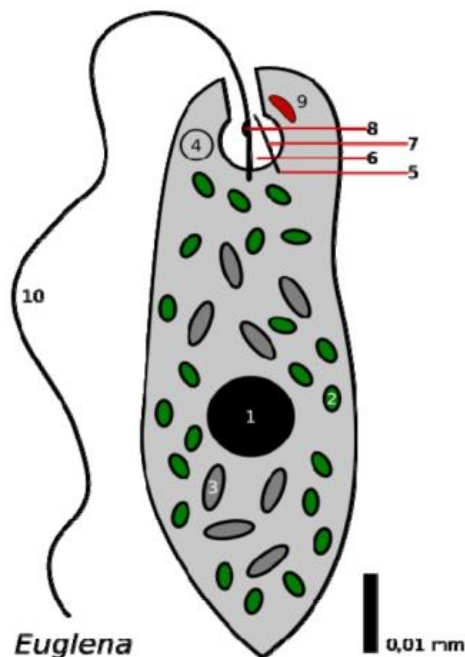
### B. Pädagogisches Interesse:

- Beobachtung von einzelligen Wesen und Zellstrukturen
- Vergleich zweier Stoffwechselarten
- Untersuchung der Photosynthese
- Untersuchung der Wirkung von Mutationen auf den Stoffwechsel

### C. Anmerkungen zu Euglena

#### Allgemeine Informationen:

Euglena sind einzellige Süßwasseralgen (es gibt seltene Arten von Meerwasser-Euglena). Sie sind Flagellaten und haben eine lanzettähnliche Form mit einem einzigartigen Flagellum. Ihre Länge liegt im Allgemeinen zwischen 30 und 70 µm bei einer Breite zwischen 6 und 18 µm. Euglena lassen sich leicht unter dem Mikroskop bei 100-facher bis 600-facher Vergrößerung beobachten.



1. Kern
2. Chloroplasten
3. Paramylon-Granulum
4. Kontraktile Vakuole
5. Kinetosom
6. Reservoir
7. Kurzes Flagellum
8. Photorezeptor (rudimentäres Auge)
9. Stigma
10. Flagellum

Strukturdiagramm Euglena- Quelle: WIKIPEDIA

#### Stoffwechsel:

Euglena ist eine Alge, die die Besonderheit hat, einen doppelten (autotrophen und heterotrophen) Stoffwechsel zu besitzen:

- Euglena haben Chloroplasten, die es ihnen ermöglichen, sich in einem mineralischen Medium in Gegenwart von Licht zu vermehren. Dies gelingt über Photosynthese (autotropher Stoffwechsel).
- Euglena sind auch in der Lage, sich im Dunkeln auf einem organischen Medium zu vermehren (heterotropher Stoffwechsel). Das Medium enthält Milchsäure, aber auch andere organische Quellen können genutzt werden.

Die Verdopplungszeit von Euglena auf mineralischem Medium beträgt 24 Stunden, wenn es einem Hell-Dunkel-Wechsel von 16 h/8 h bei einer Temperatur von 25°C ausgesetzt ist und die Sauerstoffbedingungen gut sind. Nach zwei Wochen Kultur beträgt die Konzentration der Suspension im Allgemeinen etwa  $5 \times 10^5$  Zellen/ml.

Unter den gleichen Bedingungen mit Milchsäure kultiviert, erreicht die Konzentration im gleichen Zeitraum der Suspension  $3 \times 10^6$  bis  $4 \times 10^6$  Zellen/ml.  
Die Verdopplungszeit beträgt ca. 12 Stunden.

Wenn Euglena in organischen Medien und Licht kultiviert werden, profitieren sie von beiden Stoffwechselarten und ihr Wachstum ist optimal.

Wenn Euglena in Gegenwart von Licht auf mineralischen Medien gehalten werden, ernähren sie sich ausschließlich autotroph (durch Photosynthese).

Wenn Euglena im Dunkeln auf einem organischen Medium gehalten werden, ernähren sie sich ausschließlich heterotroph über Atmung und verlieren ihr Chlorophyll. Unter dem Mikroskop sind die Chloroplasten sichtbar, aber sie sind leer. Euglena sieht dann weiß aus.

Euglena können ihre Chloroplasten unter bestimmten Bedingungen verlieren. Wird dem Kulturmedium ein Antibiotikum wie Streptomycin zugesetzt, wird die Chloroplastenteilung gehemmt, wohingegen die Zellteilung nicht beeinträchtigt wird. Während der aufeinanderfolgenden Teilungen von Euglena werden Chloroplasten in Tochterzellen verteilt, aber im Laufe der Generationen gibt es immer weniger von ihnen, da sie sich nicht mehr teilen können. Nach einer Reihe von Zellteilungen haben Tochterzellen keine Chloroplasten mehr. Sie werden daher nur heterotroph und verhalten sich wie tierische Zellen.

## ARBEITSBLATT FÜR DIE PAARE:

### A. Allgemeine Anweisungen für die praktische Übung:

**ACHTUNG:** Zu Ihrer Sicherheit und dem Erfolg der Versuche, beachten Sie die folgenden Arbeitsschritte:

- ✓ Notieren Sie mit einem Permanentmarker stets den Inhalt auf den Röhrchen und die Initialen des Paares, das sie handhabte.
- ✓ Verunreinigen Sie die untersuchten Arten nicht mit externen Stämmen und verschmutzen Sie das Medium nicht durch Experimente, die mit dem untersuchten Stamm durchgeführt wurden:
  - Reinigen Sie den Arbeitsplatz mit Alkohol oder Bleichmittel
  - Alkohol auf die Hände geben
  - Tragen Sie einen Labormantel (aus Baumwolle)
  - Arbeiten Sie in einem sterilen Bereich, wenn Sie mit sterilen Stämmen, Medien und Instrumenten umgehen:
    - Hantieren Sie innerhalb eines Durchmessers von 35 cm um die Flamme eines Bunsenbrenners herum, oder
    - Hantieren Sie innerhalb des vom Hersteller eines Elektrobrenners empfohlenen Durchmessers oder
    - Hantieren Sie innerhalb eines Durchmessers von 25-30 cm um eine Alkoholampe herum, oder
    - Hantieren Sie im Sterilitätsbereich einer Laminarströmungshaube
  - Vermeiden Sie plötzliche Bewegungen und sprechen Sie nicht vor geöffneten Röhrchen
  - Verwenden Sie sterile Instrumente und Medien

**ACHTUNG:** Sobald ein steriles Instrument oder Medium mit einer Zelle, dem Boden, einer Hand, dem Hals eines Röhrchens, mit Lösung etc. in Berührung gekommen ist, ist es kontaminiert.



**B. Erste Unterrichtseinheit:**

Jedes Paar erhält 4 Röhrchen mit organischem Medium und 4 Röhrchen mit mineralischem Medium und zwei sterile Tropfpipetten.

**1) Herstellung von Kulturen und Aufbereitung von Objektträgern zur Betrachtung unter dem Mikroskop:**

Verwenden Sie eine sterile Tropfpipette und geben Sie 0,5 ml Euglena-Suspension (2 Markierungen der Tropfpipetten aus dem optionalen Material) in zwei Röhrchen mit mineralischem Medium und zwei Röhrchen mit organischem Medium.

Bevor Sie zur anderen Sorte übergehen, geben Sie einen Tropfen Euglena-Suspension auf einen Objektträger und bedecken Sie ihn mit einem Deckgläschen, **ohne zu drücken!**

Beschriften Sie die Röhrchen und den Objektträger mit EUG (für Euglena) mit einem Permanentmarker. Beschriften Sie das Röhrchen ebenfalls mit den Initialen des Schülerpaares.

Verwenden Sie die andere sterile Tropfpipette und geben Sie 0,5 ml Chloroplasten-freie Euglena-Suspension in zwei Röhrchen mit mineralischem Medium und zwei Röhrchen mit organischem Medium.

Geben Sie einen Tropfen der Suspension auf einen Objektträger und bedecken Sie ihn mit einem Deckgläschen, **ohne zu drücken!**

Beschriften Sie die Röhrchen und den Objektträger mit ESC (für Euglena ohne Chloroplasten) mit einem Permanentmarker. Beschriften Sie das Röhrchen ebenfalls mit den Initialen des Schülerpaares.

**2) Mikroskopische Betrachtung:**

Euglena sind bei einer 100-fachen Vergrößerung leicht zu beobachten. Eine 400-fache oder 600-fache Vergrößerung ermöglicht eine detailreichere Sicht auf die Kulturen.

Beobachten und beschreiben Sie die Ähnlichkeiten und Unterschiede zwischen den beiden Stämmen. Beobachten Sie ebenfalls das Vorhandensein oder Fehlen von gut sichtbaren Chloroplasten aufgrund der grünen Farbe des darin enthaltenen Chlorophylls.

**Tipp:** Euglena bewegen sich mit ihrem Flagellum recht schnell. Zur besseren Beobachtung ist es möglich, sie (beispielsweise) mit einem Produkt namens Proto-Stop zu verlangsamen. Dazu einen Tropfen Proto-Stop auf einem Objektträger mit einem Tropfen der zu betrachtenden Suspension vorsichtig vermischen, 1 Minute warten, mit einem Deckgläschen abdecken und betrachten.

**3) Kultivierung:**

**ACHTUNG:** Schrauben Sie die Kappen nicht vollständig auf die Röhren, damit Luftaustausch stattfinden kann.

Kultivieren Sie die Röhren bei 25°C.

Legen Sie für jeden Stamm eine entsprechende Kultur an:

	Medium organisch		Medium mineralisch	
Hell/Dunkel-Zyklus	Euglena	Euglena ohne Chloroplast	Euglena	Euglena ohne Chloroplast
Komplette Dunkelheit	Euglena	Euglena ohne Chloroplast	Euglena	Euglena ohne Chloroplast

**Hinweis:** Wenn eine Verunreinigung (z.B. ein Pilz) in einem Röhren auftritt, entfernen Sie es sofort, um eine Kontamination der anderen Kulturen zu vermeiden.

**C. Zweite Unterrichtseinheit (eine oder zwei Wochen später):**

Nehmen Sie aus jedem Kulturröhren einen Tropfen Suspension und fertigen Sie zur Mikroskopie ein Präparat mit Hilfe eines Objektträgers und Deckgläschens an.

Kulturen im Licht:

- Euglena in mineralischem Medium
- Euglena in organischem Medium
- Euglena ohne Chloroplasten in mineralischem Medium
- Euglena ohne Chloroplasten in organischem Medium

Kulturen im Dunkeln:

- Euglena in mineralischem Medium
- Euglena in organischem Medium
- Euglena ohne Chloroplasten in mineralischem Medium
- Euglena ohne Chloroplasten in organischem Medium

Vergleichen Sie die Dichte jeder Kultur (Anzahl der Zellen pro ml Kultur), indem Sie die Anzahl der Zellen, die auf einem Sichtfeld unter einem Mikroskop bei 100-facher Vergrößerung sichtbar sind, betrachten. Es ist nicht notwendig, eine Zählung durchzuführen, eine einfache Schätzung ist ausreichend.

Beobachten Sie die Farbe der Zellen in Bezug auf die Kulturbedingungen.

Beobachten Sie die Chloroplasten der Euglena in Bezug auf die verschiedenen Kulturbedingungen.

## INTERPRETATIONEN UND SCHLUSSFOLGERUNGEN

Stamm	Medium/Kulturbedingungen	Dichte	Farbe
Euglena	MO / Hell-Dunkel-Zyklus	++++	grün
	MO / Komplette Dunkelheit	+++	weiß
	MM / Hell-Dunkel-Zyklus	++	grün
	MM / Komplette Dunkelheit	Stamm wächst nicht an	-
Euglena ohne Chloroplasten	MO / Hell-Dunkel-Zyklus	+++	weiß
	MO / Komplette Dunkelheit	+++	weiß
	MM / Hell-Dunkel-Zyklus	Stamm wächst nicht an	-
	MM / Komplette Dunkelheit	Stamm wächst nicht an	-

MO = Organisches Medium

MM = Mineralisches Medium

Diese Manipulation ist wirklich spannend, weil sie einfach durchzuführen ist und eine Reihe von Punkten im Lehrplan veranschaulicht:

### Euglena:

Wenn Euglena auf einem organischen Medium im Licht wachsen, profitieren sie sowohl vom autotrophen als auch vom heterotrophen Stoffwechsel. Die Dichte der Kultur ist daher optimal und die Zellen sind grün, da das für die Photosynthese notwendige Chlorophyll vorhanden ist.

Wenn Euglena auf mineralischem Medium im Licht wachsen, sind die Zellen immer grün, da sie photosynthetisieren. Die Dichte ist aber geringer, weil sie nicht vom heterotrophen Stoffwechsel profitieren.

Euglena können im Dunkeln nicht auf einem mineralischen Medium wachsen. Das beweist, dass es die Photosynthese ist, die es Euglena ermöglicht, auf einem mineralischen Medium zu wachsen. Licht ist für die Photosynthese unerlässlich.

Euglena können in der Dunkelheit auf organischen Medien wachsen. Sie sind weiß, weil sie keine Photosynthese betreiben und sie das in ihren Chloroplasten enthaltene Chlorophyll verlieren. Ihr Stoffwechsel ist dann rein heterotroph. Dies zeigt den Chloroplasten als das zelluläre Organell der Photosynthese.

**Euglena ohne Chloroplasten:**

Euglena ohne Chloroplasten können weder in der Dunkelheit (wie Euglena), noch im Licht auf mineralischem Medium wachsen. Dies ist der große Unterschied zu nicht mutierten Euglena, welche auf mineralischem Medium im Licht wachsen.

Der Chloroplast ist in der Tat das zelluläre Organell der Photosynthese. Die Mutation dieses Stammes hat einen direkten Einfluss auf seinen Stoffwechsel: Der Stamm kann keine Photosynthese durchführen, sein Stoffwechsel ist rein autotroph.

Auf organischem Medium wächst der Stamm mit der gleichen Wachstumsrate sowohl in Dunkelheit als auch in Licht.

**Aufbewahrung**

Lagern Sie die Stämme bei Raumtemperatur:

Für den Transport wurden die Stämme in hermetisch verschlossenen Fläschchen gegeben und ihnen wurde der Sauerstoff entzogen.

Wir empfehlen Ihnen, die Flasche vor der Flamme eines Bunsenbrenners oder unter einer Laminarströmungshaube zu entgasen (zu öffnen), um die in den Probengefäßen enthaltene Luft zu erneuern.

Wenn möglich, ersetzen Sie die hermetische Kappe durch sterile, kardierte Baumwolle um die Sauerstoffversorgung zu ermöglichen. Unter diesen Bedingungen sowie mit konstanter und ausreichender Beleuchtung können die Stämme von Euglena mit Chloroplasten 4 Wochen in der Transportflasche gelagert werden. Andernfalls jeden Tag oder jeden zweiten Tag entgasen.

Bei Raumtemperatur und konstantem Licht aufbewahren.

Lagern Sie das Medium bei **+4°C**.

**Entsorgung**

Die Kulturröhrchen können nach der Dekontamination in Kunststoffsammlerbehälter geworfen werden.

**ACHTUNG:** Da nie gänzlich kontrolliert werden kann, was auf organischen Medien wächst, ist eine Dekontamination vor Entsorgung unerlässlich.