

Phytohormone

Inhaltsangabe:

1. Theoretischer Hintergrund	Seite 3
Vergleich Pflanze-Tier	Seite 3
Die Phytohormone	Seite 4-5
Der polare Transport von Auxin	Seite 5-6
2. Material und Methoden	Seite 6-7
3. Ergebnisse	Seite 6-11
4. Diskussion	Seite 11-12
5. Literatur	Seite 12

1. Theoretischer Hintergrund

Phytohormone sind pflanzliche Botenstoffe, die schon im mikromolekularen Konzentrationsbereich eine spezifische oder multiple Wirkung haben und bei denen Synthese- und Wirkungsort unterschiedlich oder identisch sein können. Ihre Wirkung beruht dabei auf der Bindung und Aktivierung von Rezeptoren.

Allgemein unterscheidet man neun Phytohormonklassen, deren Vertreter teilweise antagonistisch, teilweise im Zusammenspiel wirken.

Als Antwort auf Verwundung, Insektenfraß, Befall durch Pilze, Bakterien oder Viren werden von den Pflanzen ganze Arsenale von Abwehr oder Verteidigungsgenen angeschaltet. Bei der Meldung solcher Angriffe spielen als Signalüberträger Jasmonsäure, Salicylsäure und Ethylen eine Rolle.

Vergleich Pflanze-Tier

Wie bei Tieren werden Metabolismus, Wachstum und Entwicklung der verschiedenen Organe durch Hormone reguliert. Diese unterscheiden sich jedoch nicht nur in ihrem Aufbau, sondern auch in den Aufgaben von den tierischen Hormonen.

Tierische und pflanzliche Hormone haben mehrer Merkmale gemeinsam. Zum einen dienen sie als Botenstoffe, also zur Informationsübertragung, die Vorgänge wie Wachstum, Stoffwechselmetabolismus und Entwicklung. Ausserdem binden sie wie die tierischen Hormone an spezifische Rezeptoren und können dadurch schon in sehr kleinen Mengen Reaktionen hervorrufen.

Der große Unterschied zwischen pflanzlichen Hormonen, auch sogenannte Phytohormone, und tierischen Hormonen ist ihre Struktur und auch einige Funktionen unterscheiden sich.

Darüber hinaus werden Phytohormone über die Leitbündel transportiert, also über das Xylem und das Phloem oder sie werden von einer Zelle zur nächsten Zelle abgegeben. Dies ist möglich, da die Zellwand permeabel für diese ist. Dieser Transport der Hormone dauert meist mehrere Stunden und ist deshalb bei weitem langsamer als der tierische Hormontransport, der über die Blutbahn verläuft.

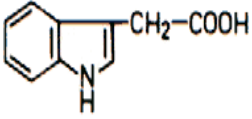
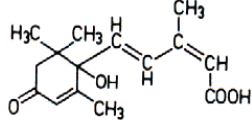
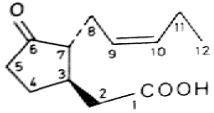
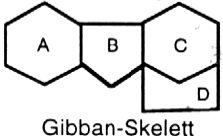
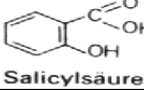
Außerdem können pflanzliche Hormone am Syntheseort wirken, wogegen bei tierischen Hormonen der Syntheseort mit dem Wirkort nie identisch ist. Zudem haben Phytohormone auch oft multiple Funktion, das heißt dass sie nicht nur für eine Reaktion spezifisch sind, wirkspezifisch, sondern für mehrere Stoffwechselvorgänge u.a., zuständig sein können.

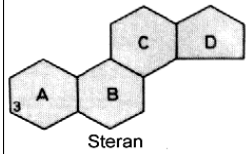
Die Wirkung von pflanzlichen Hormonen ist abhängig von einigen Faktoren, wie z.B. der Temperatur, dem Licht und dem Alter der Pflanze. Je nach dem physiologischen Zustand der Pflanze werden Hormone gebildet.

Die Phytohormone werden durch ihre unterschiedlichen Wirkungsweisen und chemischen Strukturen in 9 Gruppen unterteilt. (siehe Tabelle.....)

Die Phytohormone

Tab.1: Die verschiedenen Klassen der Phytohormone

Klasse	Chem. Struktur	Bildungsort	Wirkung	Beispiel
Auxine	Indolderivate 	Embryonales Gewebe; junge Blätter	Fördernd: Streckungswachstum; erhöhte Zellteilungsaktivität bei Dikotylen; Differenzierung der Leitbündel; Ausbildung von Adventivwurzeln;	Indol-3-Essigsäure
			Hemmend: Apikaldominanz (Hemmung der Achselknospen); Regulation des Fruchtwachstums	
Abscisine	Terpenderivate 	ältere Blätter	Fördernd: Verschluss der Stomata bei Wasserstress; z.T. Seneszenz und Blattfall	ABA Abszissinsäure
			Hemmung: der Viviparie; Zellstreckung; Antagonist zu Auxin, Gibberellin, Cytokinin	
Jasmonate	Cyclopentanon Verbindungen 	Bei höheren Pflanzen im gesamten Organismus	Induktion von Wundgenen; Rankenkrümmung (auf Reiz); eventuell für Kommunikation mit Umwelt	Jasmonsäure
Gibberelline	Diterpene  Gibban-Skelett	Chloroplasten in schnellwachsenden Organen; junge Meristeme	Sproßwachstum, vor allem bei Mutanten; Blütenbildung bei Rosettenpflanzen; Bildung männlicher Blüten; Hydrolaseaktivität und Unterbrechung der Samenruhe; Parthenokarpie	GA ₃ Gibberellinsäure
Ethylen	Alken $H_2C=CH_2$	In reifenden Früchten	Fruchtreife; Blatt- und Fruchtfall; Seneszenz von Blüten und Blättern	Ethylen
Salicylsäure	Phenolderivate  Salicylsäure	Unter der Rinde bei <i>Salix sp.</i> ; Aronstab	Aktivierung von Abwehrgenen gegen Pathogene in der Zelle	Salicylsäure

Cytokinine	Purinderivate	Meristeme, Wurzel	Fördernd: Zellteilung; Austreiben der Seitenknospen	Zeatin, Kinetin
			Hemmend: Seneszenz	
Brassinosteroide	Polyhydroxysterole 	Synthese aus Campesterol	Fördernd: Zellteilung und Zellstreckung; Gravitropismus; Stressresistenz; Xylemdifferenzierung	Brassinolid
			Hemmend: Blattfall	
Systemin	Peptid	In verletzten Blättern	Induktion der Jasmonatsynthese	Systemin

Der polare Transport von Auxin

Der Transport von Proteinen soll hier am Beispiel des polaren Auxintransports erläutert werden.

Auxin wird hauptsächlich in den Apikalmeristemen des Sprosses synthetisiert und von da aus nach unten transportiert. Während dieses Transports wird die Zelle nur dann zum Wachstum angeregt, wenn das Hormon in geringen Mengen vorhanden ist. Bei höheren Konzentrationen wird sie gehemmt.

Auxin wird im Parenchym unter ATP Verbrauch von einer Zelle zur anderen transportiert, dabei kann der Transport nur von oben nach unten erfolgen (deshalb auch Polartransport).

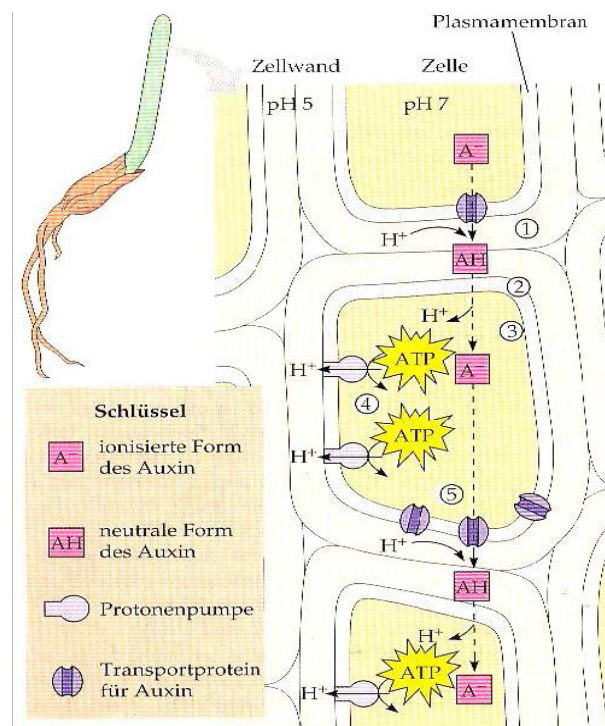


Abb.1: Der polare Auxintransport

[aus: Campbell, Biologie, 2. korrigierter Nachdruck 2000, Spektrum Verlag]

Wie in Abbildung 1 dargestellt, wandert das Hormon von oben her in eine Zelle und tritt an der Unterseite wieder aus (1). Es diffundiert durch die Zellwand und dringt an der Oberseite der folgenden Zelle wieder ein. Im sauren Umfeld der Zellwand nimmt ein Auxinmolekül ein Proton auf und ist jetzt elektrisch neutral geladen (2). Auxin passiert die Plasmamembran als relativ kleines, neutrales Molekül (3). Der Säuregrad im Innern einer Zelle liegt etwa bei pH 7, deshalb geht Auxin wieder in die ionische Form über, sobald es sich in der Zelle befindet. Das Hormon wird dadurch zeitweilig in der Zelle festgehalten, da die Plasmamembran für Ionen nicht so durchlässig ist wie für neutrale Moleküle derselben Größe.

ATP-getriebene Protonenpumpen halten die zwischen Außen- und Innenseite der Zelle herrschende Differenz im pH-Wert aufrecht (4). Auxin kann die Zelle nur an ihrer unteren Seite verlassen, denn dort sind spezielle Transportproteine in die Membran eingelagert (5). Die Protonenpumpen fördern den Ausstrom von Auxin, da sie ein Membranpotential erzeugen. Dieses begünstigt den Transport von Anionen aus der Zelle heraus.

2. Material und Methoden

2.1. Versuch 1: Antheridienbildung in Abhängigkeit von Gibberellinsäure

a) Material

Farnsporen von *Anemia phyllitidis*, Gibberellinsäure (GA_3), Mohr'sche Lösung, welche folgende Inhaltsstoffe enthält: 0,25 g MgSO_4 , 1 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,12 g KNO_3 , 0,25 g KH_2PO_4 , Karminessigsäure, Mikroskop, Petrischalen, Kulturschale, Glasplatte, Pipetten, Spatel, Bunsenbrenner, Objektträger, Deckgläser

b) Methode

Man gibt kleine Mengen Farnsporen von *A. phyllitidis* in Petrischalen, die 20 ml Mohr'sche Nährlösung mit unterschiedlichen Gibberellinsäurekonzentrationen enthalten. Davon sind in 9 Petrischalen die Konzentrationen an Gibberellinsäure bekannt, in der zehnten befindet sich eine unbekannte Konzentration. Die Schalen werden anschließend eine Woche lang inkubiert.

Am Versuchstag werden von jeder Schale mindestens 60 Prothallien unter dem Mikroskop untersucht. Um das Auszählen zu erleichtern gibt man Karminessigsäure dazu, die die Zellkerne anfärbt. Es soll der Prozentsatz an Prothallien bestimmt werden, die bereits Antheridien gebildet haben ("positive Prothallien"). Anschließend wird der Prozentsatz der positiven Prothallien gegen die Gibberellinsäurekonzentration graphisch aufgetragen, um eine Eichkurve zu erstellen. Anhand dieser Eichkurve kann dann die unbekannte Gibberellinsäurekonzentration berechnet werden.

2.2. Versuch 2: Gibberellinsäure im Erbsen-Streckungstest

Die am Versuchstag verwendeten Erbsenkeimlinge wurden bereits eine Woche vorher kultiviert und unter Dauerbelichtung angezogen.

Dafür werden mithilfe einer Mikropipette jeweils 10 μl verschiedener GA_3 -Lösungen zwischen das jüngste Blattpaar gegeben. Man gibt jeweils auf mindestens 10

Pflanzen die gleiche Konzentration. Es werden Lösungen mit 10 µg/ml, 5 µg/ml, 1 µg/ml hergestellt. Außerdem wird als Referenz auf eine Gruppe von Erbsenpflanzen nur Wasser gegeben.

Am Versuchstag werden von jeder Konzentration 10 Pflanzen ausgemessen. Dabei werden die Länge der einzelnen Internodien und die Gesamtlänge gemessen. Das Ergebnis dieses Versuches soll zeigen, dass die Pflanzen bei höherer Hormonkonzentration besser wachsen.

3. Ergebnisse

3.1. Versuch 1

Es fand in keiner Petrischale ein Auskeimen der Farnsporen statt.

3.2. Versuch 2

In den Tabellen 2-5 sind die Längenveränderungen der im Praktikum untersuchten Erbsen- Pflanzen aufgeführt. Man kann einen deutliche Unterschied zwischen der Kontrollgruppe (Tabelle 2) die nicht mit Gibberellinsäure behandelt wurde und den behandelten Pflanzen erkennen. Da der durchschnittlich stärkste Längenzuwachs am ersten Internodium (IN) erfolgt ist, werden diese Werte zur besseren Anschauung graphisch dargestellt.

Für die Berechnung des dreifachen mittleren Fehlers wurde die Formel

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

verwendet.

Wobei N= die Anzahl der Messungen

Xi= Wert der Einzelmessung

X= Mittelwert aus allen Messungen darstellt.

Zur Berechnung der Standardabweichung wurde folgende Formel verwendet.

$$Xs = s / \sqrt{N}$$

Tab. 2: Längenzuwachs der Kontrollgruppe (ohne Zugabe von Gibberellinsäure)

Gesamtlänge der Pflanzen	Länge Erbse-Epikotyl	1. IN- Länge	2. IN-Länge	3. IN-Länge	4. IN-Länge	5. IN-Länge	
6,2	0,9	0,8	1,0	1,0	0,7	0,5	
6,0	2,0	1,0	0,6	1,0	1,0	-	

4,2	0,8	0,8	1,3	0,9	-	-	
5,0	1,5	0,7	0,8	0,8	0,6	-	
5,2	0,8	0,7	1,2	0,8	1,0	--	
4,7	1,3	1,2	1,5	0,7	-	-	
2,8	0,7	0,7	1,1	-	-	-	
4,8	1,0	0,5	1,0	1,1	0,8	-	
5,6	1,2	0,7	1,0	1,0	0,6	-	
5,0	0,3	0,6	0,7	0,9	0,6	0,8	
4,95	1,05	0,77	1,02	0,91	0,75	0,65	Mittelwert
0,918	0,45	0,19	0,26	0,12	0,17	0,15	Dreifache mittlere Fehler
0,29	0,142	0,06	0,082	0,04	0,06	0,11	Standartab weichung

Tab 3: Längenzuwachs der mit Gibberelinsäure behandelten Pflanzen (Konzentration: 1µg/ml)

Gesamtlänge der Pflanzen	Länge Erbse-Epikotyl	1. IN-Länge	2. IN-Länge	3. IN-Länge	4. IN-Länge	5. IN-Länge	6. IN-Länge	
5,4	1,0	0,8	1,3	1,3	0,8	0,3	-	
5,3	1,0	0,7	1,0	1,0	0,9	0,4	-	
6,4	1,0	0,9	1,4	1,1	0,9	0,6	0,5	
5,2	0,7	0,6	1,2	1,2	1,1	1,4	-	
5,3	0,4	0,7	1,1	0,9	0,8	1,1	0,4	
5,0	0,4	0,5	1,2	1,2	1,3	0,4	-	

5,3	1,8	0,6	1,2	0,7	0,8	0,6	0,1	
5,2	0,7	0,5	1,6	0,7	0,6	0,1	0,2	
5,8	0,7	1,1	1,2	1,0	1,1	0,1	0,3	
6,6	0,7	0,7	1,5	1,3	1,2	0,2	-	
5,55	0,84	0,71	1,27	1,04	0,95	0,52	0,3	Mittelwert
0,514	0,383	0,176	0,173	0,211	0,206	0,407	0,141	Dreifache r mittlere Fehler
0,16	0,12	0,06	0,05	0,07	0,07	0,13	0,06	Standardabweichung

Tab 4: Längenzuwachs der mit Gibberelinsäure behandelten Pflanzen (Konzentration: 5µg/ml)

Gesamtlänge der Pflanzen	Länge Erbse- Epikotyl	1. IN- Länge	2. IN-Länge	3. IN-Länge	4. IN-Länge	5. IN-Länge
6,0	0,6	1,2	1,0	1,1	0,5	
6,0	0,6	1,0	1,2	1,2	0,5	
5,4	0,4	1,2	0,7	1,5	0,5	
4,3	0,6	0,7	1,0	0,8	0,4	
5,0	0,6	1,2	0,8	1,0	-	
5,2	0,7	1,0	1,0	1,1	0,4	
5,3	0,6	1,3	0,8	0,8	0,3	
4,8	0,7	1,1	0,8	0,7	0,6	

3,8	0,6	1,2	0,7	0,8	0,1	
4,6	0,4	1,0	0,9	1,0	0,2	
						Mittelwert
5,04	0,58	1,09	0,89	1,0	0,39	
0,664	0,098	0,160	0,151	0,228	0,152	Dreifache mittlere Fehler
0,209	0,031	0,052	0,048	0,072	0,051	Stanardabwe ichung

Tab 5: Längenzuwachs der mit Gibberelinsäure behandelten Pflanzen (Konzentration: 10µg/ml)

Gesamtlänge der Pflanzen	Länge Erbse-Epikotyl	1. IN-Länge	2. IN-Länge	3. IN-Länge	4. IN-Länge	5. IN-Länge	
6,0	1,1	2,0	1,0	0,8	-	-	
5,6	0,5	1,5	0,7	0,8	0,6	-	
6,2	1,1	1,1	1,0	1,0	1,0	1,0	
5,6	1,0	1,6	0,8	0,6	0,5	0,7	
5,7	0,6	0,5	0,8	1,0	1,3	-	
5,8	1,0	1,3	0,8	0,7	0,5	0,7	
5,0	1,1	0,7	1,1	0,7	0,5	-	
5,6	0,9	0,7	0,7	1,2	2,0	-	
6,5	1,2	1,0	0,7	0,6	0,6	0,7	
8,0	2,0	1,5	1,0	1,2	1,4	-	

6,0	1,05	1,19	0,86	0,86	0,76	0,78	Mittelwert
0,768	0,383	0,450	0,143	0,215	0,506	0,129	Dreifache mittlere Fehler
0,243	0,107	0,142	0,045	0,068	0,169	0,058	Standardabweichung

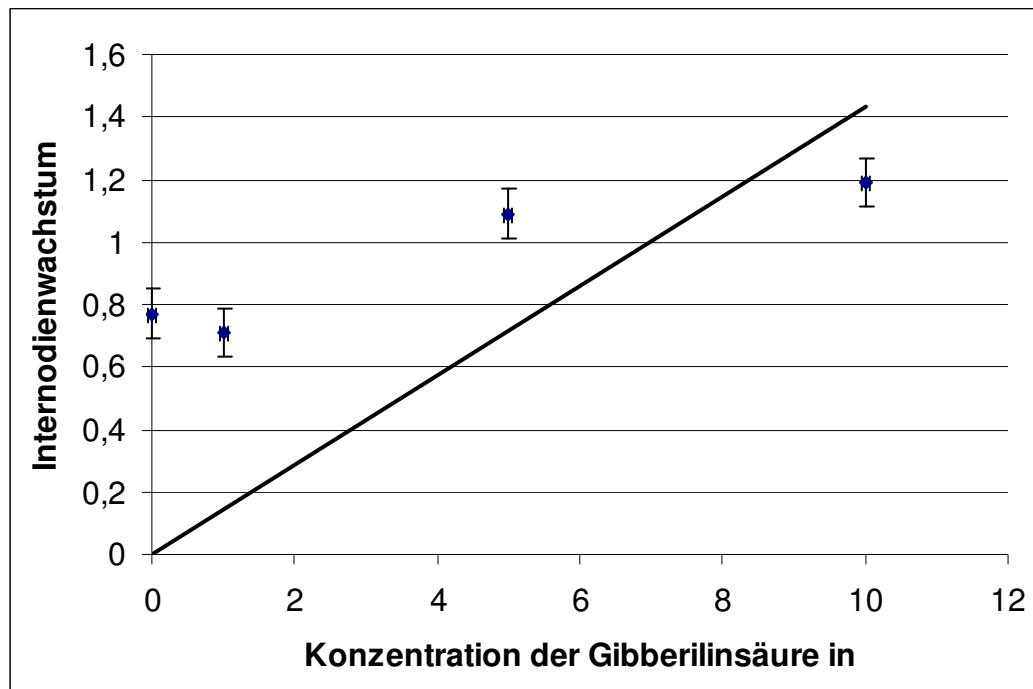


Diagramm 1: Graphische Darstellung des Internodiumwachstums der Erbsenpflanzen

4. Diskussion

4.1. Versuch 1: Antheridienbildung in Abhängigkeit von Gibberelinsäure

Da bei uns in Keiner der Petrischalen ein Auskeimen der Farnsporen zu beobachten war, konnten wir mit unserem Versuchsergebnis nicht nachweisen, dass eigentlich bei einer steigenden Konzentration des Hormons die Prothallienanzahl, die bereits Antheridien gebildet haben, steigen sollte. Gründe für diesen misslungenen Versuch könnten z.B. sein, dass die Mohrsche Nährlösung nicht richtig zusammengesetzt war, oder dass die Chemikalien, die verwendet wurden schon alt waren und sich verändert haben. Zudem kann beim Auswerten, also beim Zählen der Prothallien Fehler unterlaufen sein, da beim Zählen keine Zählkammer verwendet wurden. Dadurch kann der Versuchsdurchführer nicht genau abschätzen, welche positiven Prothallien er oder sie schon gezählt hat.

4.2. Versuch 2: Gibberellinsäure im Erbsen-Streckungstest:

Im Diagramm 1 wurde das Längenwachstum der Erbsen gegen die Konzentration der Gibberellinsäure aufgetragen. Daraus kann man deutlich erkennen, dass bei steigender Konzentration des Hormons das Längenwachstum der Erbsen wie erwartet zunimmt.

Die Unterschiede der Längen im Durchschnitt zwischen den Erbsen die im Nährmedium mit 10µg/ml und 1µg/ml sind nicht so groß wie erwartet. Dies könnte daran liegen, dass sich die Erbsenkeimlinge schon bevor das Hormon zugegeben wurde in der Größe große Unterschiede aufweisen. Dies hat zur Folge, dass ein z.B. kleiner Erbsenkeimling auch durch Zugabe einer sehr hohen Konzentration an Hormon den Wachstumsvorsprung des anderen Erbsenkeimlings nicht mehr aufholen kann. Zudem kann man durch das Auswerten von gerade mal zehn Erbsenkeimlingen pro Konzentration noch keine statistisch verwertbare Aussage machen.

Normalerweise müsste die Gerade im Diagramm 1 gegen Ende abflachen, da ab einer bestimmten Konzentration an Gibberellinsäure das Streckenwachstum nicht mehr gesteigert werden kann, da dann die optimale Konzentration des Hormons erreicht wurde.

Diese Sättigungskurve kann man bei unseren Ergebnissen nicht erkennen. Gründe dafür können sein, da verschiedene Personen gemessen haben, oder auch ungenau gemessen haben. Außerdem können Fehler die beim Wachstum der Keimlinge erwähnt wurden ebenfalls dazu beitragen.

5. Literatur

Munk, K.; Botanik; 2001
Campbell, N.; Biologie; 2000
Skript zum Praktikum Pflanzenphysiologie SS 2005