

Erbsentest



Pflanzenhormone sind wesentlich in die biologischen Prozesse, die das Wachstum und die Entwicklung der Pflanzen regulieren beteiligt. Um die Auswirkungen von Hormonen belegen zu können, sind bislang verschiedene biologische und chemische Methoden entwickelt worden. Biologische Verfahren sind generell empfindlicher als chemische Methoden. Eine der am häufigsten angewandten Methoden ist der sogenannte „Erbsentest“. Fertigt man einen Längsschnitt durch bestimmte junge Organe (Epicotyl, Blütenstiel ...), so biegen sich die beiden Hälften nach außen. Dieses Phänomen kommt zu Stande, weil die Zellen im Mittenbereich dieser Organe komprimiert vorliegen. Zum Zeitpunkt des Schnittes strecken sich diese Zellen abrupt – während sich die Zellen der Epidermis zusammenziehen. Bettet man eine derart geschnittene Pflanze in reinem Wasser oder in Pufferlösung, so krümmen sich beiden Segmente nach außen. In Anwesenheit von Auxin, werden die epidermalen Zellen und das kortikale Gewebe stimuliert, so dass sich beide Segmente zueinander biegen. In diesem Fall dient der Krümmungswinkel als Maß für die Hormonaktivität. Mit dieser Methode ist es auch möglich, die Wirksamkeit von verschiedenen synthetischen Hormonen zu testen.

MATERIAL

- Etiolierten Keimlinge von *Pisum sativum* im Alter von 6 Tage
- 7 Petrischalen pro Gruppe
- Test
- Pipetten
- Alkohol
- Destilliertes Wasser
- Millimeterpapier
- Berichterstatter
- Rasierklingen

Samenkeimung der Erbsen

Waschen Sie die Samen unter fließendem Wasser für 36 bis 48 Stunden.
Die Aussaat erfolgt in Watte während 6 Tagen in vollkommener Dunkelheit.
Nach 6 Tagen haben die Keimlinge eine Größe zwischen 6-8 cm.

Herstellung der Auxin-Stammlösung

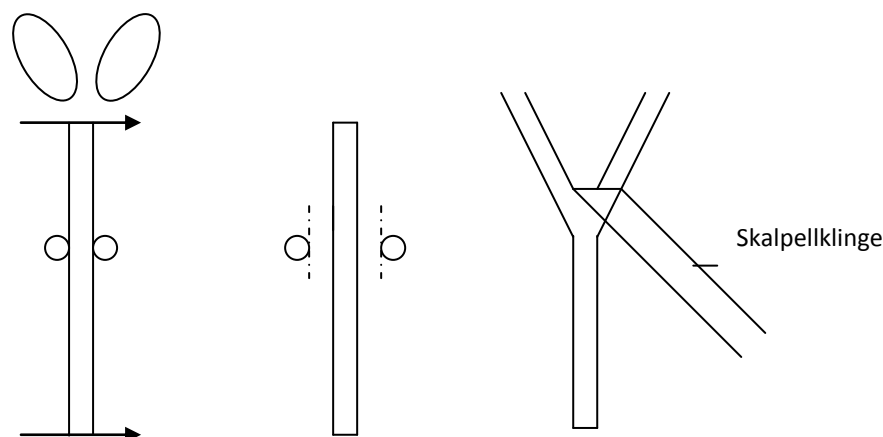
Geben Sie den Phosphatpuffer zusammen mit 2,1 Liter destilliertem Wasser in eine Flasche.
Lösen Sie den Inhalt des Auxin-Röhrchens in 5 ml Alkohol und geben Sie die Lösung zusammen mit 395 ml Puffer in eine Flasche. Der Alkohol dient einzig zum Lösen des Auxins und hat keinen weiteren Einfluss auf das Experiment, da er hinsichtlich der Konzentration in der Gesamtlösung zu stark verdünnt vorliegt.

Aus dieser Stammlösung erstellen Sie jetzt eine Verdünnungsreihe

N°1	60ml Stammlösung + 240ml Phosphatpuffer =	0,5 mg/l
N°2	33ml Stammlösung + 297ml Phosphatpuffer =	0,25 mg/l
N°3	33ml Lösung N°2 + 297ml Phosphatpuffer =	$0,25 \times 10^{-1}$ mg/l
N°4	33ml Lösung N°3 + 297ml Phosphatpuffer =	$0,25 \times 10^{-2}$ mg/l
N°5	30ml Lösung N°4 + 270ml Phosphatpuffer =	$0,25 \times 10^{-3}$ mg/l

Durchführung

Geben Sie jeweils 30ml der entsprechenden Lösungen in eine Petrischale
In die Kontrollschale geben Sie 30ml Pufferlösung
In jede Schale geben Sie fünf Epicotylfragmente, die wie folgt präpariert werden:



Mit einer Rasier- oder Skalpellklinge führen Sie einen Schnitt unterhalb der ersten Blätter des Keimlings durch und einen weiteren knapp oberhalb der Watte zur Entfernung der Wurzel.
Diesen Stengel legen Sie auf ein Blatt Millimeterpapier und führen einen weiteren apikalen Schnitt auf dem oberen Drittel des Stengels durch. Der Schnitt sollte relativ symmetrisch

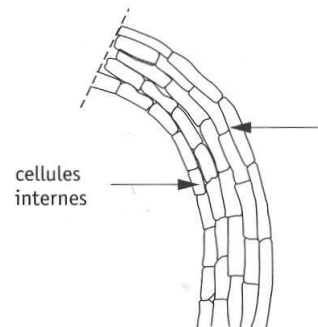
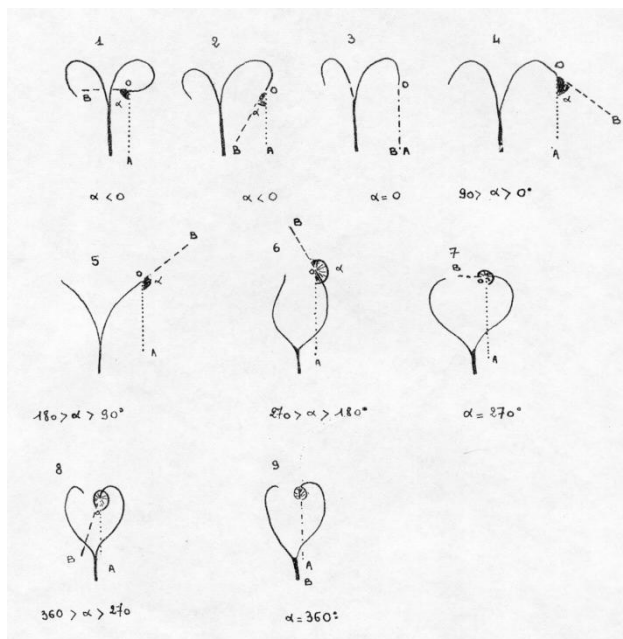
ausgeführt werden. Im besten Fall hat der Stengel nach erfolgreicher Durchführung eine Y-Form.

Verschließen Sie dann die Petrischalen und lagern Sie selbige für 6-24 Stunden bei Raumtemperatur.

Auswertung und Ergebnisse

Beschreiben Sie ihre Beobachtungen.

Vermessen Sie den Krümmungswinkel im oberen Drittel des Stengels.



Die peripheren Zellen
Dehnen sich aus, die inneren
Zellen ziehen sich zusammen.

Der Krümmungswinkel ist abhängig von der Auxinkonzentration der Lösung.
Es gibt eine Konzentrationsoptimum von Auxin.

Versuchsplanung

Tag 1
Waschen der Erbsensamen
Vorbereitung der Lösungen



Tag 6
Vorbereitung der Petrischalen
Weiterverarbeitung der Keimlinge (Schnitte)



Tag 7
Auswertung