©Bayerische Akademie für Naturschutz und Landschaftspflege (ANL)

Laufener Sem.beitr. 3/88 – Akad. Natursch. Landschaftspfl. (ANL) – Laufen/Salzach 1989

Einfluß von UV-B-Strahlung auf die Photoorientierung von Flagellaten

Donat-P. Häder

1. Mechanismen der Orientierung im Habitat

Viele marine sowie limnische Phytoplankton-Organismen sind beweglich und orientieren sich in ihrem Habitat mit Hilfe von spezifischen Bewegungsreaktionen an externen Stimuli, wie z.B. thermische oder chemische Gradienten, die Schwerkraft oder an mechanischen Reizen (COLOMBETTI et al., 1982; NULTSCH & HÄDER, 1988). Sicherlich spielt das Licht nicht nur für photosynthetische Organismen eine entscheidende Rolle (HÄDER, 1986a; 1987a; 1988). Häufig benutzen Flagellaten antagonistische Bewegungsreaktionen, um spezifische Horizonte in der Wassersäule zu besetzen. Der grüne Flagellat *Euglena gracilis* verwendet eine sehr präzise negative Gravitaxis, um zur Wasseroberfläche zu gelangen (HÄDER, 1987b). Unterstützt wird diese Bewegung durch eine, wenn auch weniger deutlich ausgeprägte positive Phototaxis (HÄDER et al., 1981). Die dadurch induzierte Aufwärtsbewegung der Zellen wird durch eine ebenfalls sehr präzise negative Phototaxis kompensiert, die dann einsetzt, wenn die Zellen hohen Bestrahlungsstärken ausgesetzt sind (HÄDER, 1987b). Die biologische Signifikanz dieses Verhaltens ist offensichtlich, denn einerseits benötigen diese photosynthetischen Organismen das Licht als Energiequelle und andererseits werden sie durch zu hohe Bestrahlungsstärken ausgebleicht und letztendlich abgetötet (HÄDER, 1985). Als Konsequenz dieses Verhaltens sollten sich die Organismen in einem Horizont ansammeln, dessen Lage sich im Verlauf tagesperiodischer Intensitätsänderungen ständig ändert.

2. Distribution von Populationen in der Wassersäule

Da man mit Hilfe von gezielten Wasserproben die Aufenthaltswahrscheinlichkeit von Mikroorganismen in der Wassersäule nur schlecht bestimmen kann, wurde eine Plexiglassäule von 1 m Länge und 90 mm innerem Durchmesser konstruiert (Abb. 1), die mit einer vorher angezogenen Reinkultur der Organismen gefüllt wurde (HÄDER and GRIEBENOW, 1988). Diese Säule wurde in einen Wasserkörper (Teich des Botanischen Gartens in Marburg) abgesenkt und ein Temperaturausgleich abgewartet. Entlang der Säule waren 18 Entnahmestellen im Abstand von 50 mm angebracht, die über Schläuche mit einer Peristaltikpumpe verbunden waren, die 18 Proben gleichzeitig entnehmen konnte.
In regelmäßigen Zeitabständen wurden Proben entnommen, ins Labor gebracht und die Zelldichte bestimmt. Dazu wurde eine computergesteuerte Bildverarbeitungsanlage (Abb. 2) so programmiert, daß sie die Zellzahlen automatisch bestimmte (HÄDER and GRIEBENOW, 1987).

Zu Beginn des Experimentes sind die Zellen etwa gleichmäßig im Rohr verteilt und beginnen bereits nach kurzer Zeit mit einer schnellen Abwärtsbewegung, da sie aufgrund der hohen Bestrahlungsstärke eine präzise negative Phototaxis zeigen (Abb. 3). Wenn man Proben in kürzeren Zeitabständen entnimmt, wird deutlich, daß die Zellen dichte Cluster bilden, die sich in Wellen an den Meßstellen vorbeibewegen. Während der Nachtphase bewegen sich die Zellen wieder nach oben und verteilten sich gleichmäßig im Medium, wenn auch die Aufwärtsbewegung deutlich langsamer erfolgt.

3. Einfluß solarer UV-B-Strahlung auf die Photoorientierung

Monochromatische, artifizielle UV-B-Strahlung hemmt die Photoorientierung bei verschiedenen Mikroorganismen, wie das Cyanobacterium *Phormidium* (HÄDER, 1984; HÄDER et al., 1986), die Desmidiacee *Cosmarium* (HÄDER, 1987c) und den Schleimpilz *Dictyostelium* (HÄDER, 1983). Besonders bei Flagellaten ist die Hemmung der Phototaxis intensiv untersucht worden (HÄDER, 1985; 1986b).

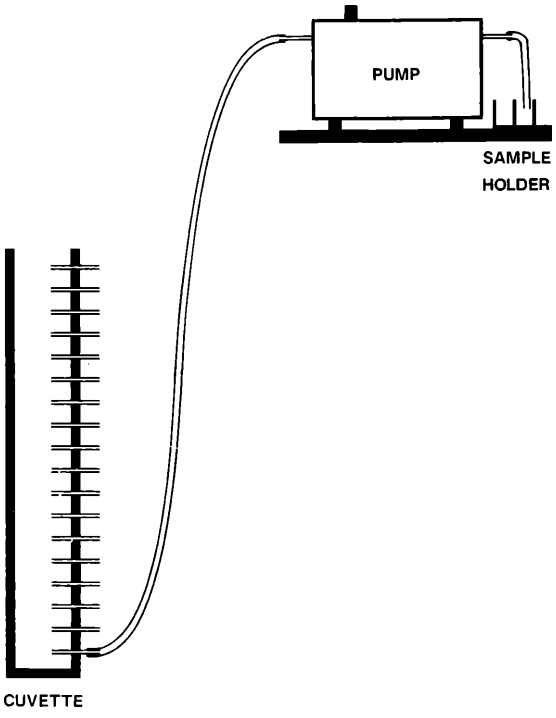

Abbildung 1

Schematische Darstellung einer Plexiglassäule mit 18 Probenentnahmestellen im Abstand von 50 mm entlang der Längsachse der Säule (nach HÄDER and GRIEBENOW, 1988)

©Bayerische Akademie für Naturschutz und Landschaftspflege (ANL)

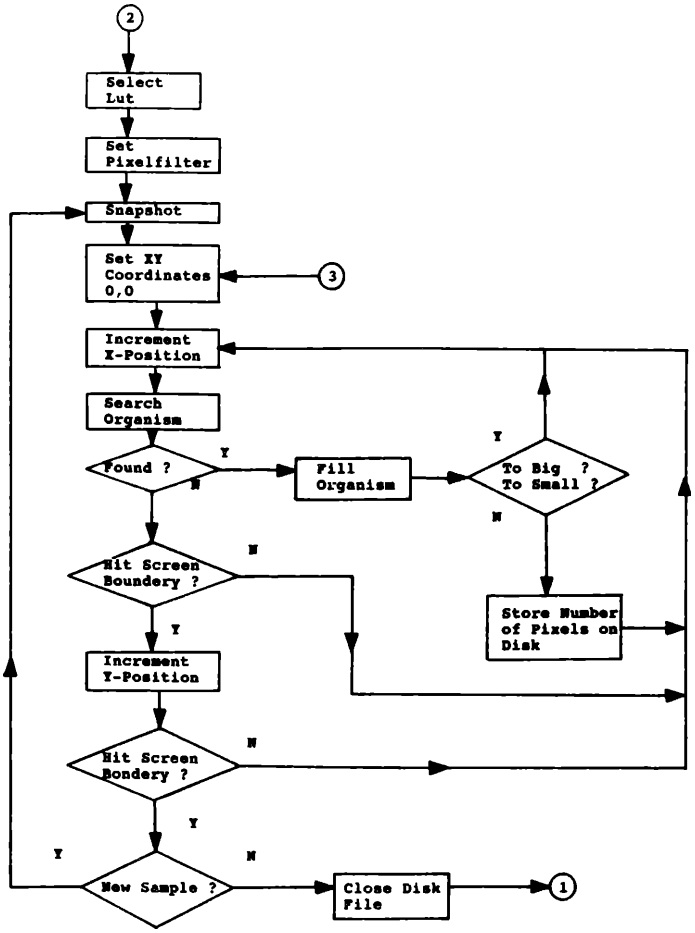

Abbildung 2

Flowchart der computergesteuerten Bildverarbeitungsanlage zur Bestimmung von Zellzahlen in einer Population. Das Bild der nicht fixierten Organismen wird von einer CCD-Kamera erfaßt und mit einer Auflösung von 512 x 512 Pixeln bei einer möglichen Grauabstufung von 256 digitalisiert. Das in Assembler geschriebene Programm scannt das Bild zeilenweise und errechnet die Fläche jedes Organismus, sowie deren Gesamtzahl (nach HÄDER and GRIEBENOW, 1987).

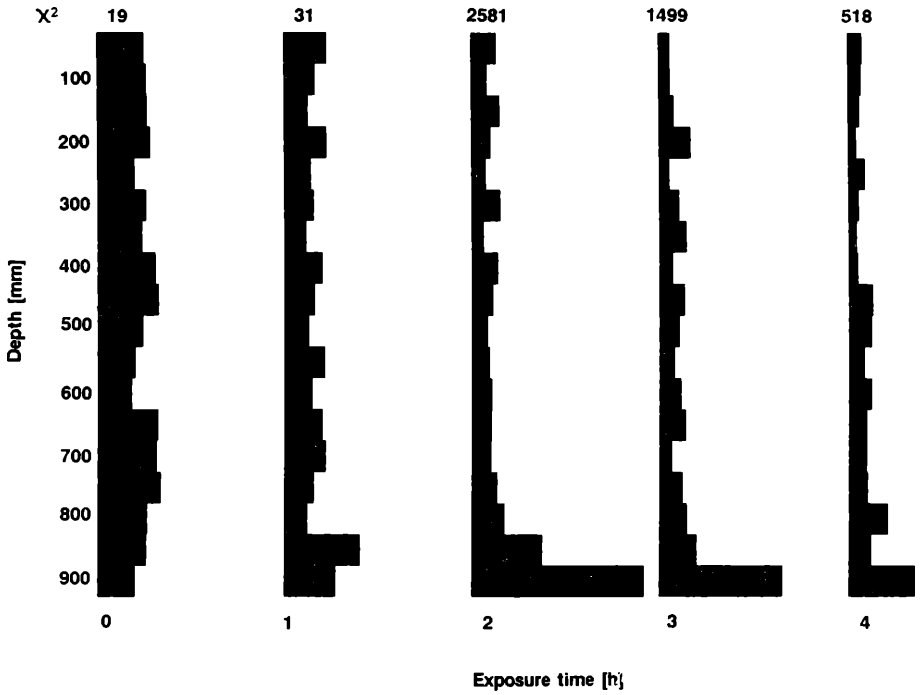

Abbildung 3

Histogramme der Populationsdichte entlang der Säule in einstündigen Zeitabständen während einer starken Insolation. Die Zahlen über den Histogrammen gegen das Ergebnis des Chi-Quadrat-Tests an (nach HÄDER and GRIEBENOW, 1988).

©Bayerische Akademie für Naturschutz und Landschaftspflege (ANL)

Während der letzten Messungen in Portugal wurden Populationen von *Euglena* in einer temperierten Kammer, die von der Arbeitsgruppe von Prof. Tevini (Karlsruhe) für die Untersuchung höherer Pflanzen aufgestellt war, der Solarstrahlung ausgesetzt, die durch die Plexiglas-Küvette einfiel, die die Kammer nach oben abdeckte. Aus den exponierten Kulturen wurden in regelmäßigen Abständen Proben entnommen, ins Labor gebracht und mit Hilfe einer Bildanalyse (HÄDER and LEBERT, 1985) auf ihre Photoorientierung untersucht (HÄDER and HÄDER, 1988a). Zu Beginn der Exposition war die Orientierung auf das seitlich eingestrahlte Testlicht noch unbeeinträchtigt (Abb. 4a), aber bereits nach 180 min war eine extreme Verschlechterung der Orientierung deutlich (Abb. 4b), und nach 300 min solarer Exposition war die Photoorientierung völlig gestört (Abb. 4c).

Die Quantifizierung der Phototaxis mit Hilfe des Rayleigh-Testes (BATSCHELET, 1965; 1981; MARDIA, 1972) zeigte eine signifikante Verschlechterung bereits nach 90 min Solarexposition (Abb. 5, offene Symbole). Wenn jedoch die Dachküvette mit Ozon geflutet wurde, was einen Teil der UV-B-Strahlung der Sonne herausgefiltert hat, so waren die Zellen länger orientiert (Abb. 5, geschlossene Symbole).

Der UV-B-Effekt kann nicht auf eine Absorption durch die photosynthetischen Pigmente zurückgeführt werden, da dunkelgezogene Zellen, die die Plastiden eingebüßt haben, ebenfalls durch Solarexposition in ihrer phototaktischen Orientierung gehemmt sind (HÄDER and HÄDER 1988b).

4. Hemmung der Motilität durch solare UV-B-Strahlung

Parallel zur Hemmung der phototaktischen Orientierung wird auch die Motilität der Zellen sehr stark beeinträchtigt. Der Prozentsatz an beweglichen Zellen in einer normal pigmentierten Kultur von *Euglena gracilis* verringert sich bereits nach einer Expositionszeit von 200 min (HÄDER and HÄDER 1988a). Die tolerierte Expositionszeit verlängert sich deutlich, wenn die Kultur durch die mit Ozon geflutete Küvette bestrahlt wird (Abb. 6). Wenn die Kultur mit einem WG 320 Cutoff Filter abgedeckt ist, ist die Kultur länger beweglich als in der ungefilterten Strahlung, aber weniger lange als unter der Ozonküvette. Interessanterweise sind dunkel gebleichte (chlorophyllfreie) Zellen noch sensitiver und werden bereits nach kürzeren Expositionszeiten geschädigt (Abb. 7). Auch bei diesen Zellen wird eine Verlängerung der tolerierbaren Expositionszeiten erreicht, wenn die Solarstrahlung durch ein WG Glas bzw. die ozongeflutete Küvette gefiltert wird (HÄDER and HÄDER 1988b). Als Parallele zu den dunkel-gebleichten Zellen wurden die farblosen Zellen von *Astasia* untersucht; auch bei diesen Organismen wurde die Motilität bereits nach sehr kurzen Expositionszeiten drastisch eingeschränkt (Abb. 8). Jedoch scheint die Sensitivität der Organismen eine Spezies-spezifische Komponente zu sein, denn die grüne Schneealge *Chlamydomonas nivalis* ist noch weitaus sensitiver und wird bereits nach Expositionszeiten von weniger als 20 min signifikant inhibiert (Abb. 9).

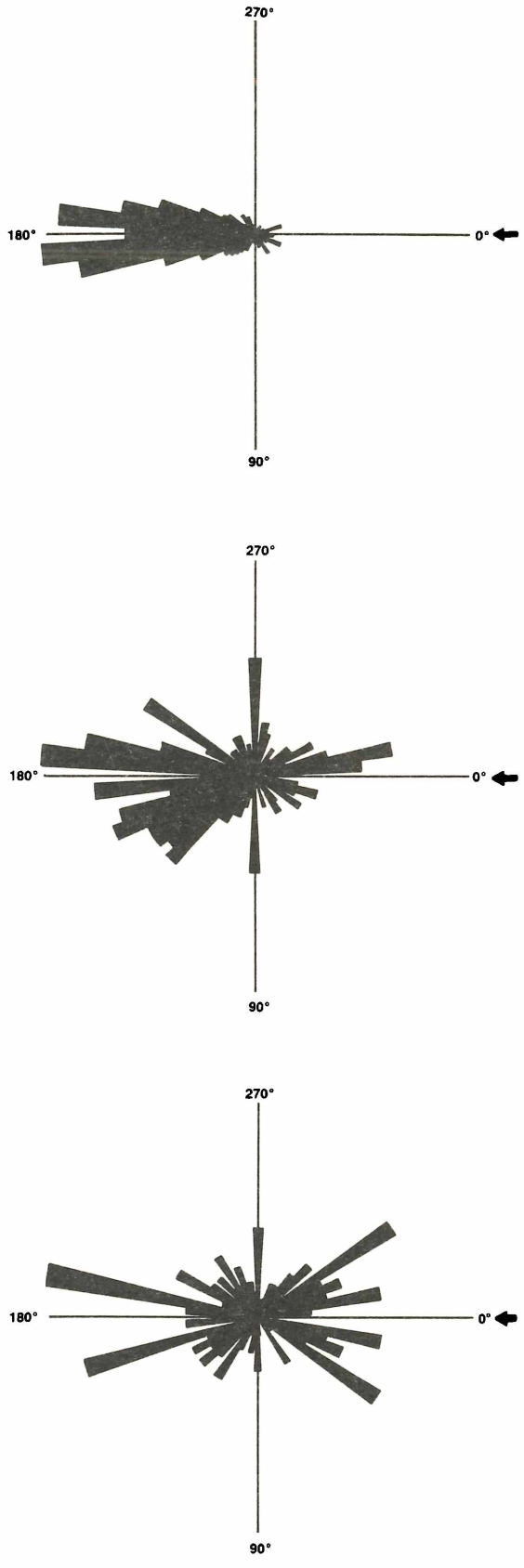

Abbildung 4

Histogramme der phototaktischen Orientierung von *Euglena* auf seitlich eingestrahltes weißes Testlicht (30 klx) vor Solarexposition (oben), nach 180 min (Mitte) und nach 300 min (unten) Solarexposition (nach HÄDER and HÄDER, 1988a).

©Bayerische Akademie für Naturschutz und Landschaftspflege (ANL)

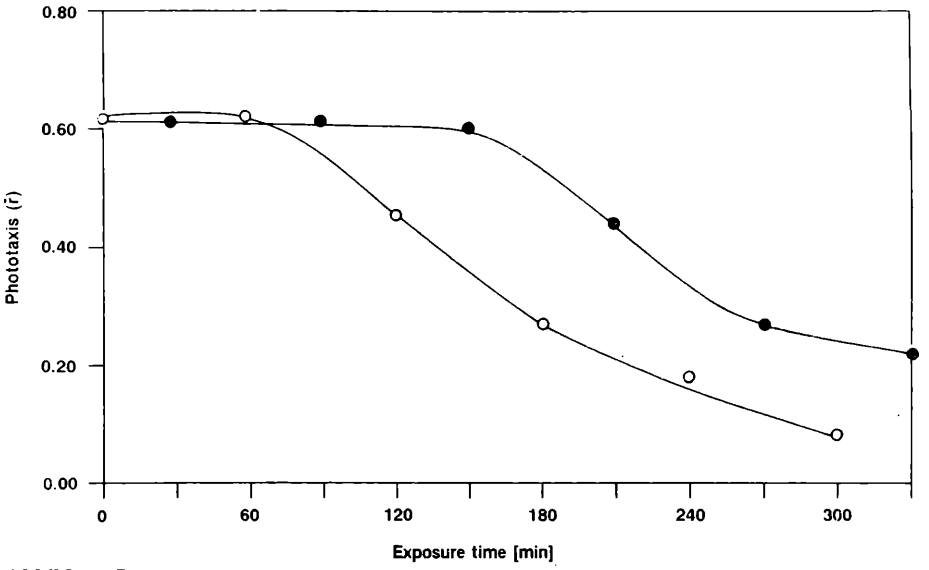

Abbildung 5

Effekt der solaren Bestrahlung auf die Gerichtetheit (Rayleigh-Test) von *Euglena* auf ein weißes Testlicht nach steigenden Expositionen unter ungefilterter Solarstrahlung (offene Symbole) **und unter Strahlung, die durch die Ozonküvette gefiltert wurde** (geschlossene Symbole) (nach HÄDER and HÄDER, 1988a).

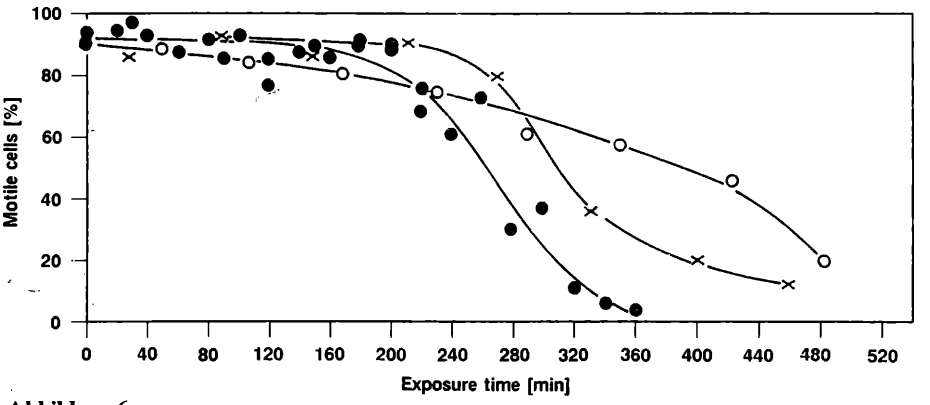

Abbildung 6

Prozentsatz an beweglichen Zellen einer normal pigmentierten Kultur von *Euglena gracilis* in Abhängigkeit von der Expositionszeit in ungefiltertem Sonnenlicht (geschlossene Punkte), **unter der Ozonküvette** (offene Punkte) **und unter einem WG 320 Cutoff-Filter** (Kreuze) (nach HÄDER and HÄDER, 1988b).

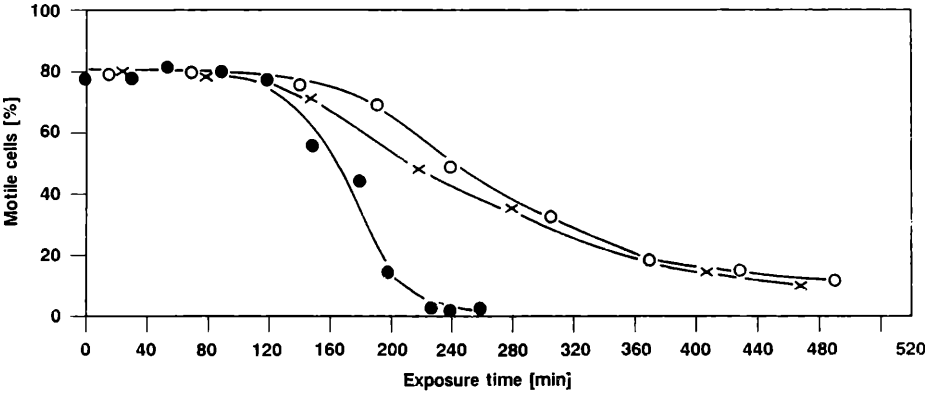

Abbildung 7

Prozentsatz an beweglichen Zellen einer dunkel-gebleichten Kultur von *Euglena gracilis* in Abhängigkeit von der Expositionszeit in ungefiltertem Sonnenlicht (geschlossene Punkte), **unter der Ozonküvette** (offene Punkte) **und unter einem WG 320 Cutoff-Filter** (Kreuze) (nach HÄDER and HÄDER, 1988b).

©Bayerische Akademie für Naturschutz und Landschaftspflege (ANL)

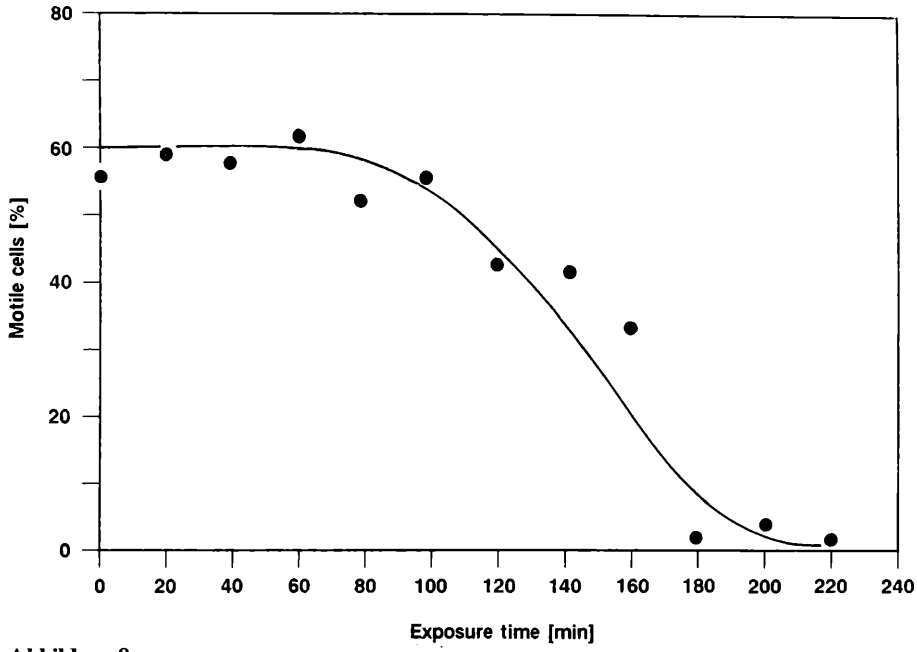

Abbildung 8

Prozentsatz an beweglichen Zellen einer Kultur von *Astasia* in Abhängigkeit von der Expositionszeit in ungefiltertem Sonnenlicht (nach HÄDER and HÄDER, 1989).

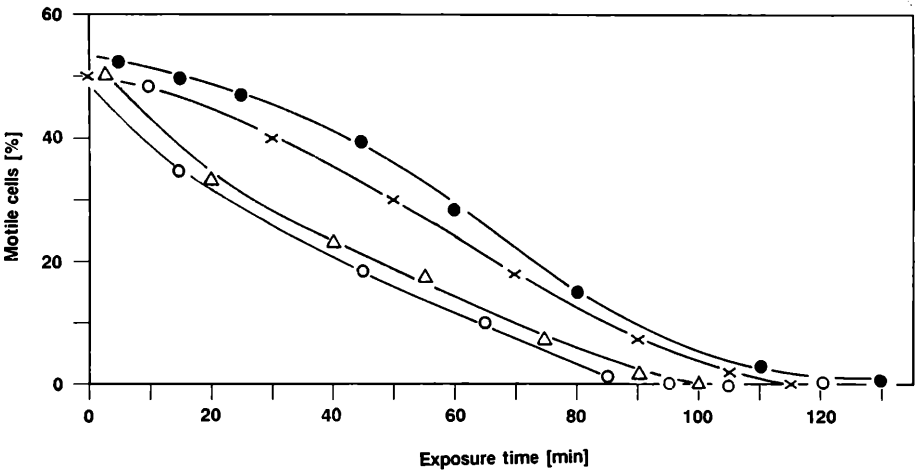

Abbildung 9

Prozentsatz an beweglichen Zellen einer Kultur von *Chlamydomonas nivalis* in Abhängigkeit von der Expositionszeit in Sonnenlicht unter WG Cutoff-Filtern: WG 280 (offene Punkte), **WG 295** (Dreiecke), **WG 395** (Kreuze) **und WG 320** (geschlossene Punkte) (nach HÄDER and HÄDER, 1989).

5. Hemmung der Schwimmgeschwindigkeit durch UV-B

Zusätzlich zu der signifikanten Beeinflussung des Prozentsatzes an beweglichen Zellen in der Kultur wird auch die Bewegungsgeschwindigkeit deutlich durch die UV-B-Komponente der Solarstrahlung beeinträchtigt (HÄDER and HÄDER, 1988a). Diese Aussage läßt sich durch den Einsatz einer Bildverarbeitungsanlage quantifizieren, bei der die Bewegungsstrecke der Organismen gemessen und die dabei verstrichene Zeit aus der Hardware-Uhr des Computers abgeleitet wird. Nachgeschaltete Programme errechnen die Geschwindigkeitsverteilung der Organismen in der Population und konstruieren aus den Rohdaten die Verteilungshistogramme. Zellen aus einer normal pigmentierten Kultur von *Euglena gracilis* schwimmen mit einer mittleren Geschwindigkeit von ca. 90 µm/s (HÄDER and HÄDER, 1988a). Wenn die Zellen der Solarstrahlung ausgesetzt werden, steigert sich die Geschwindigkeit während der ersten 40 min um ca. 30 % (Abb. 10). Dieser Effekt ist unter dem Begriff 'Photokinese' bekannt (WOLKEN and SHIN, 1958). Mit zunehmender Bestrahlungsdauer sinkt jedoch die mittlere Bewegungsgeschwindigkeit (HÄDER and HÄDER, 1988a). Nach etwa 6 h waren fast alle Organismen unbeweglich.

Ähnliche Effekte, wenn auch schon nach kürzeren Expositionszeiten, ergaben sich bei dunkelgebleichten *Euglena* und bei dem farblosen Flagel-

©Bayerische Akademie für Naturschutz und Landschaftspflege (ANL)

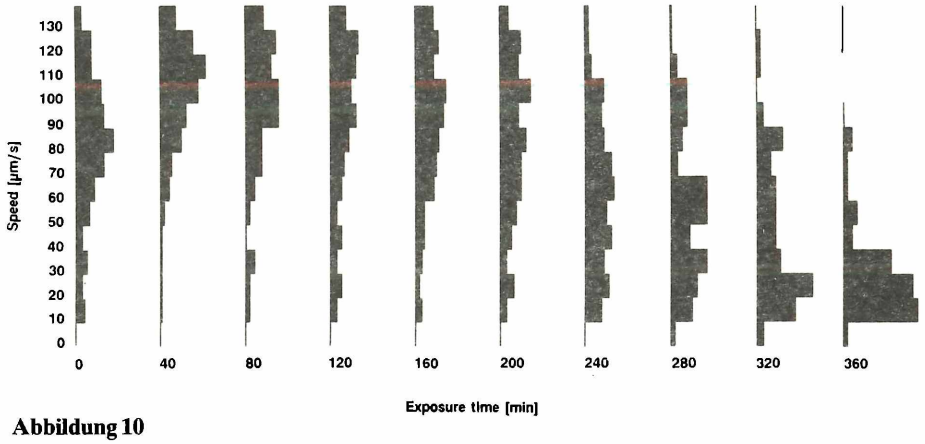

Abbildung 10

Lineare Histogramme der Geschwindigkeitsverteilung von einer grünen *Euglena gracilis* Kultur in Abhängigkeit von der Expositionszeit unter ungefilterter Solarstrahlung (nach HÄDER and HÄDER, 1988).

laten *Astasia*; interessanterweise zeigen auch die farblosen Organismen eine Photokinese, während kein photokinetischer Effekt bei *Chlamydomonas nivalis* zu beobachten war (HÄDER and HÄDER 1989).

6. Ökologische Auswirkungen der UV-B Strahlung auf bewegliche Mikroorganismen

Die Untersuchungen mit solarer UV-Bestrahlung zeigen deutlich, daß die eingesetzten farblosen und grünen Flagellaten unter einem erheblichen UV-B-Stress stehen. Dabei wird bereits bei derzeitig auftretenden UV-B-Dosen sowohl die Photoorientierung gehemmt, als auch die Motilität und die Bewegungsgeschwindigkeit beeinträchtigt.
Als Konsequenz dieser Befunde ist die Vorhersage sicherlich gerechtfertigt, daß bei einer Erhöhung des UV-B-Anteils der Solarstrahlung aufgrund einer partiell reduzierten Ozonschicht ernste Konsequenzen für das Wachstum solcher Mikroorganismen zu erwarten sind. Jedoch lassen sich die resultierenden Einbußen in der Biomasseproduktion aus den bisherigen Daten noch nicht quantifizieren.

7. Literatur

BATSCHELET, E. (1965):
Statistical methods for the analysis of problems in animal orientation and certain biological rhythms; In: GALLES S.R., SCHMIDT-KOENIG K., JACOBS G.J., BELLEVILLE R.F. (eds.): Animal orientation and navigation. pp. 61-91. Washington, NASA.

BATSCHELET, E. (1981):
Circular Statistics in Biology. – Acad. Press, London.

COLOMBETTI, G., LENCI, F. and DIEHN, B. (1982):
Responses to photic, chemical, and mechanical stimuli; in: Buetow D.E. (ed.): The Biology of Euglena, Physiology Vol. 3:169-195, Acad. Press, New York.

HÄDER, D.-P. (1983):
Inhibition of phototaxis and motility by UV-B irradiation in *Dictyostelium discoideum* slugs. – Plant Cell Physiol. 24:1545-1552.

---------- (1984):
Effects of UV-B on motility and photoorientation in the cyanobacterium, *Phormidium uncinatum*. – Arch. Microbiol. 140:34-39.

---------- (1985):
Effects of UV-B on motility and photobehavior in the green flagellate, *Euglena gracilis*. – Arch. Microbiol. 141:159-163.

---------- (1986a):
Signal perception and amplification in photomovement of prokaryotes. – Biochim. Biophys. Acta 864:107-122.

---------- (1986b):
Effects of solar and artificial UV irradiation on motility and phototaxis in the flagellate, *Euglena gracilis*. – Photochem. Photobiol. 44:651-656.

---------- (1987a):
The relation of photosynthesis to blue light effects. In: Senger, H. (ed.): Blue light responses: phenomena and occurence in plants and microorganisms. CRC Press, Inc., pp. 145-160.

---------- (1987b):
Polarotaxis, gravitaxis and vertical phototaxis in the green flagellate, *Euglena gracilis*. – Arch. Microbiol. 147:179-183.

---------- (1987c):
Effects of UV-B irradiation on photomovement in the desmid, *Cosmarium cucmis*. – *Photochem. Photobiol. 46:121-126.*

---------- *(1988):*
Ecological consequences of photomovement in microorganisms. – J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 1:385-414.

HÄDER, D.-P. and GRIEBENOW, K. (1987):
Versatile digital image analysis by microcomputer to count microorganisms. – EDV Med. Biol. 18:37-42.

HÄDER, D.-P. and GRIEBENOW, K. (1988):
Orientation of the green flagell+te, Euglena gracilis, in a vertical column of water. – FEMS Microbiol. Ecol. 53:159-167.

HÄDER, D.-P. and HÄDER, M.A. (1988a):
Inhibition of motility and phototaxis in the green flagellate, *Euglena gracilis*, by UV-B radiation. – Arch. Microbiol. 150:20-25.

---------- (1988b):
Ultraviolet-B inhibition of motility in green and dark bleached *Euglena gracilis. - Current Microbiol. 17:215-220*

HÄDER, D.-P. and HÄDER, M. (1989):
Effects of solar UV-B irradiation on photomovement and motility in photosynthetic and colorless flagellates. – Environ. Exper. Bot. 29:273-282

©Bayerische Akademie für Naturschutz und Landschaftspflege (ANL)

HÄDER, D.-P. and LEBERT, M. (1985):
Real time computer-controlled tracking of motile microorganisms. – Photochem. Photobiol. 42:509-514.

HÄDER, D.-P., COLOMBETTI, G., LENCI, F. and QUAGLIA, M. (1981):
Phototaxis in the flagellates, *Euglena gracilis* and *Ochromonas danica*. – Arch. Microbiol. 130:78-82.

HÄDER, D.-P.: WATANABE, M. and FURUYA, M. (1986):
Inhibition of motility in the cyanobacterium, *Phormidium uncinatum*, by solar and monochromatic UV irradiation. – Plant Cell Physiol. 27:887-894.

MARDIA, K. V. (1972):
Statistics of Directional Data. Acad. Press, London

NULTSCH, W. and HÄDER, D.-P. (1988):
Photomovement in motile microorganisms II. – Photochem. Photobiol. 47:837-869.

WOLKEN, J.J. and Shin, E. (1958):
Photomotion in *Euglena gracilis*. – J. Protozool. 5:39-46.

Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. Donat-P. Häder
Institut für Botanik
und Pharmazeutische Biologie
Friedrich-Alexander-Universität
Standtstraße 5
D-8520 Erlangen

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Laufener Spezialbeiträge und Laufener Seminarbeiträge (LSB)

Jahr/Year: 1988

Band/Volume: 3_1988

Autor(en)/Author(s): Häder Donat.-P.

Artikel/Article: Einfluß von UV-B-Strahlung auf die Photoorientierung von Flagellaten 67-73