

Vergleichende Untersuchungen zur Gravitaxis und Phototaxis bei Ciliaten

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

Jan Bechert

aus

Bonn

Bonn 2009

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

1. Referent: Herr Prof. Dr. H. Bleckmann

2. Referent: Frau PD Dr. R. Hemmersbach

Tag der Promotion: 28.08.2009

Inhalt

1.	Einleitung	1
1.1.	Ciliaten als Modellorganismen	1
1.2.	Elektrophysiologische Grundlagen des Schwimmverhaltens von Ciliaten	2
1.2.1.	Das Membranpotential	2
1.2.2.	Die elektromotorische Kopplung	3
1.3.	Bestimmung der Sedimentationsgeschwindigkeit von Ciliaten	4
1.4.	Hypothesen zur Graviperzeption von Ciliaten	6
1.4.1.	Physikalische Hypothesen zur Gravitaxis.....	6
1.4.2.	Physiologische Hypothesen zur Graviperzeption	6
1.4.3.	Gravikinese	11
1.4.4.	Intrazellulärer Schweresensor	13
1.5.	Verhalten von Ciliaten bei variablen Beschleunigungen.....	14
1.6.	Photoperzeption bei Ciliaten	14
1.7.	Ziele der Arbeit.....	17
2.	Material und Methoden	18
2.1.	Ciliatenspezies	18
2.1.1.	<i>Ophryoglena flava</i>	18
2.1.2.	<i>Didinium nasutum</i>	20
2.1.3.	<i>Paramecium caudatum</i>	22
2.1.4.	<i>Paramecium aurelia</i>	23
2.2.	Versuchsaufbau	24
2.2.1.	Apparatur für Langzeit-Experimente und Photoreaktionen	24
2.2.3.	Parabelflugapparatur.....	28
2.2.4.	Apparatur zur Ausrichtungsbestimmung sedimentierender Zellen.....	29
2.3.	Versuchsdurchführung	30
2.3.1.	Konzentrieren der Zellen	30
2.3.2.	Langzeit-Experimente zum Verhalten der Zellen in den Versuchskammern	30
2.3.3.	Experimente mit wechselnden Lichtreizen	31
2.3.4.	Experimente bei variablen Beschleunigungen.....	32
2.3.5.	Sedimentationsexperimente zur Bestimmung der Zellausrichtung bei <i>Ophryoglena flava</i>	34
2.4.	Auswertung der Videoaufzeichnungen schwimmender Zellen.....	34
2.4.1.	Digitalisieren der Videoaufzeichnung	34
2.4.2.	Bestimmung der Schwimmspurparameter.....	36
2.5.	Statistik.....	37

2.5.1.	Zusammenfassen der Daten	37
2.5.3.	Statistische Tests	37
2.5.5.	Berechnung von Orientierungskoeffizienten	38
2.5.6.	Bestimmung der Ausrichtung der Zelle aus den Schwimmspurdaten....	39
2.5.7.	Berechnung der Kinesen.....	40
3.	Ergebnisse	42
3.1.	Datenzahlen	42
3.2.	Langzeitexperimente	42
3.3.	Verhalten der Zellen bei verschiedenen Lichtbedingungen	44
3.3.1.	Klassenhäufigkeitsverteilungen der Schwimmgeschwindigkeiten	45
3.3.2.	Photoorientierung	47
3.3.3.	Schwimmgeschwindigkeiten	51
3.4.	Vereinigung der bei verschiedenen Lichtintensitäten gemessenen Schwimmgeschwindigkeiten	57
3.4.1.	Aktionsspektren	57
3.4.1.1.	Wellenlängenabhängige Photoorientierung	57
3.4.1.2.	Aktionsspektren der Schwimmgeschwindigkeiten	59
3.4.1.3.	Aktionsspektren der Photokinesen.....	63
3.5.	Bestimmung der Ausrichtung des Zellkörpers immobilisierter Ophryoglenen.....	64
3.6.	Experimente unter variablen Beschleunigungen	65
3.6.1.	Beschleunigungsabhängige Datenzahlen der Schwimmspuren	65
3.6.2.	Beschleunigungsabhängige Orientierungen.....	67
3.6.3.	Schwellenbestimmung der Graviorientierung	68
3.6.4.	Beschleunigungsabhängige Schwimmgeschwindigkeiten.....	69
3.6.5.	Beschleunigungsabhängige Gravikinesen	71
3.6.6.	Abhängigkeit der Gravikinese von der Beschleunigung	72
4.	Diskussion	74
4.1.	Versuchsbedingungen	74
4.1.1.	Zeitlicher Verlauf der Experimente	74
4.1.2.	Versuchsbedingungen	75
4.1.2.1.	Möglicher Einfluss mechanischer Reize	75
4.1.2.2.	Möglicher Einfluss von Licht.....	75
4.1.2.3.	Möglicher Einfluss von Temperaturschwankungen.....	76
4.1.2.4.	Möglicher Einfluss von Sauerstoffgradienten	77
4.1.2.5.	Kammergeometrie	77
4.1.3.	Auswahl der Versuchszellen.....	78

4.2.	Photoreaktionen	79
4.2.1.	Photoorientierung	79
4.2.2.	Schwimgeschwindigkeiten und Photokinese	82
4.2.3.	Modelle zur Lichtperzeption	83
4.2.4.	Photopigmente	88
4.3.	Gravireaktionen bei variablen Beschleunigungen.....	89
4.3.1.	Richtungsbezogene Datenzahlen.....	90
4.3.3.	Gravorientierungen	91
4.3.4.	Gravikinesen.....	92
4.3.5.	Das Problem der Schwellenbestimmung	93
4.3.6.	Schwellenbestimmung der Gravorientierungen.....	95
4.3.7.	Schwellenbestimmung der Gravikinesen	97
4.4.	Taxien.....	100
4.4.1.	Gravitaxis	101
4.4.2.	Thermotaxis, Chemotaxis	103
4.5.	Evolute und ökologische Aspekte.....	104
5.	Zusammenfassung	107
6.	Literaturverzeichnis	108
7.	Danksagungen	116
8.	Lebenslauf	117

1. Einleitung

1.1. Ciliaten als Modellorganismen

Protisten stellen unter den eukaryotischen Zellen die stammesgeschichtlich älteste Gruppe dar. Schon diese Zellen sind fähig, Reaktionen auf unterschiedliche externe Reize wie Licht, Schwerkraft, Temperatur und chemische Einflüsse zu zeigen. Sie bieten im Gegensatz zu den Metazoen auch viele Vorteile für die Untersuchung von zellphysiologischen Prozessen.

Signaltransduktionsprozesse können hier an einer einzelnen Zelle untersucht werden. Bei mehrzelligen Organismen hingegen sind Reizaufnahme, Reizverarbeitung und Reizantwort in spezialisierten Geweben lokalisiert, welche meist auch räumlich voneinander getrennt sind. Dies führt zu komplexen und schwer erfassbaren Zusammenhängen.

Im Gegensatz zu hoch spezialisierten Gewebezellen ist die Kultivierung von Protozoen wenig aufwändig. Verhaltensphysiologische Experimente sind mit Einzellern meist einfach durchzuführen.

Wie in Kapitel 1.2. erläutert wird, lässt sich der physiologische Erregungszustand einer Ciliatenzelle direkt am Schwimmverhalten ablesen. Daher sind aufgrund von Verhaltensanalysen, wie sie auch in der vorliegenden Arbeit durchgeführt wurden, Aussagen über die Perzeption von spezifischen externen Reizen möglich. Im Rahmen dieser Dissertation wurde das Schwimmverhalten von vier Ciliatenspezies (*Ophryoglena flava*, *Didinium nasutum*, *Paramecium aurelia* und *Paramecium caudatum*) auf die Reize Schwerkraft (einschließlich μg - Bedingungen) und Licht untersucht.

Die zur Beurteilung des Verhaltens verwendeten Begriffe Orientierung, Kinese und Taxis werden in der Literatur nicht einheitlich verwendet. In der vorliegenden Arbeit werde ich mich an folgende Begriffsdefinitionen halten:

Orientierung beschreibt die Ausrichtung der Zelle, in Bezug auf die Richtung des Reizes. Die Orientierung kann sowohl auf einem aktiven Vorgang (Photoorientierung) als auch durch eine passive Ausrichtung der Zelllängsachse aufgrund eines Bojenmechanismus der Zelle (Gravioorientierung) erfolgen.

Kinese beschreibt eine Modulation der Schwimgeschwindigkeit, welche nach Fraenkel und Gunn (1940) nur von der Reizstärke, aber nicht von der Reizrichtung abhängt (s. auch zur Photokinese: Diehn et al., 1977). Diese Definition trifft jedoch für die

Gravikinese nicht zu, da diese auch von der Reizrichtung abhängig ist (Mogami et al., 1988; Machemer et al., 1991; Machemer, 1994, 1995).

Taxis beschreibt die Verhaltensantwort einer Zellpopulation in Bezug auf einen Reiz. Positive Taxien beschreiben Bewegungen der Population in Richtung des Reizes, wogegen sich taktisch negativ verhaltende Populationen von der Reizquelle entfernen. Taxis kann als Ergebnis von Orientierung und Kinese verstanden werden.

1.2. Elektrophysiologische Grundlagen des Schwimmverhaltens von Ciliaten

1.2.1. Das Membranpotential

Das Membranpotential eines Süßwasserciliaten ist im Wesentlichen durch die Gleichgewichtspotentiale sowie die Leitwerte der Membran für Kalium- und Calciumionen definiert.

Nach der Nernst'schen Gleichung (1.1.) hängen die Gleichgewichtspotentiale direkt von den Konzentrationsunterschieden der entsprechenden Ionen, welche durch eine semipermeable Membran getrennt sind, ab.

Gleichung 1.1:
$$E_x = \frac{R}{F} \frac{T}{z} \ln \frac{[X]_a}{[X]_i}$$

R = allgemeine Gaskonstante
T = absolute Temperatur
F = Faraday-Konstante
z = Anzahl der durch ein Ion transportierten Ladungen
[X]_{a/i} = Ionenkonzentration zu beiden Seiten der Membran
E_x = Gleichgewichtspotential

Die Konzentrationsgradienten der beiden Ionenspezies verlaufen antiparallel. So ist der Konzentrationsgradient für K⁺ Ionen zellauswärts gerichtet, was zu einem negativen Gleichgewichtspotential für K⁺ Ionen (E_K) führt. Der nach innen gerichtete Ca²⁺ Konzentrationsgradient führt analog zu einem positiven Gleichgewichtspotential (E_{Ca}).

Die Leitwerte der Zellmembran für bestimmte Ionen (g_{Ca}, g_K) werden durch die Öffnungswahrscheinlichkeit der in die Zellmembran inkorporierten Membrankanäle bestimmt. Für einen Änderung des Membranpotentials ist es nicht notwendig, dass eine bestimmte Anzahl an Ionen die Membran passiert und so der Konzentrationsverhältnis zwischen Außenmedium und Cytoplasma verschoben wird; schon eine Veränderung des Membranwiderstandes reicht aus.

Für die Berechnung des Membranpotentials einer Ciliatzelle (V_m) gilt nach Hodgkin und Huxley, (1952) die Beziehung:

Gleichung 1.2:
$$V_m = E_{Ca} \frac{g_{Ca}}{g_K + g_{Ca}} + E_K \frac{g_K}{g_{Ca} + g_K}$$

Das von Machemer und Deitmer bei *Paramecium caudatum* gemessenen Gleichgewichtspotential von -30 mV lässt unter Berücksichtigung der Gleichgewichtspotentiale von K^+ und Ca^{2+} auf ein Verhältnis der Leitwerte $g_{Ca}/g_K = 1/2,5$ schließen (Deitmer und Machemer, 1989).

1.2.2. Die elektromotorische Kopplung

Durch elektrophysiologische Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass bei allen untersuchten Ciliatenspezies eine strenge Kopplung zwischen der Cilienbewegung und dem Membranpotential besteht: Eine Änderung des Membranpotentials beeinflusst sowohl die Frequenz als auch die Richtung des Cilienschlages (Machemer, 1974; 1975; 1976; De Peyer und Machemer 1978), s. Abb. 1.1.

Eine hyperpolarisierte Zelle zeigt eine erhöhte Cilienschlagfrequenz. Ferner wird die Richtung des effektiven Cilienschlages im Uhrzeigersinn nach posterior verstellt, wodurch die helikale Schwimmbahn enger wird. Beide Effekte führen zu einer Steigerung der Schwimgeschwindigkeit.

Bei einer geringen Depolarisation kommt es zu einer Verringerung der Cilienschlagfrequenz. Außerdem verstellt sich die Richtung des effektiven Cilienschlages entgegen dem Uhrzeigersinn nach anterior. Dies bewirkt eine Zunahme des Durchmessers der helikalen Schwimmbahn einer depolarisierten Zelle. Beides führt zu einer Reduktion der Schwimgeschwindigkeit. Bei erhöhter Depolarisation kommt es zunächst zu einer Phase völliger Cilieninaktivität, die bei noch stärkerer Depolarisation wieder in eine Erhöhung der Schlagfrequenz übergeht. Allerdings wird hier die Richtung des Cilienschlages antierad verstellt, so dass die Zelle rückwärts schwimmt.

Da Membranpotential und Verhalten von Ciliatzellen auf die beschriebene Weise streng miteinander gekoppelt sind, kann mit verhaltensphysiologischen Methoden direkt auch auf die Perzeption und Transduktion von Reizen geschlossen werden.

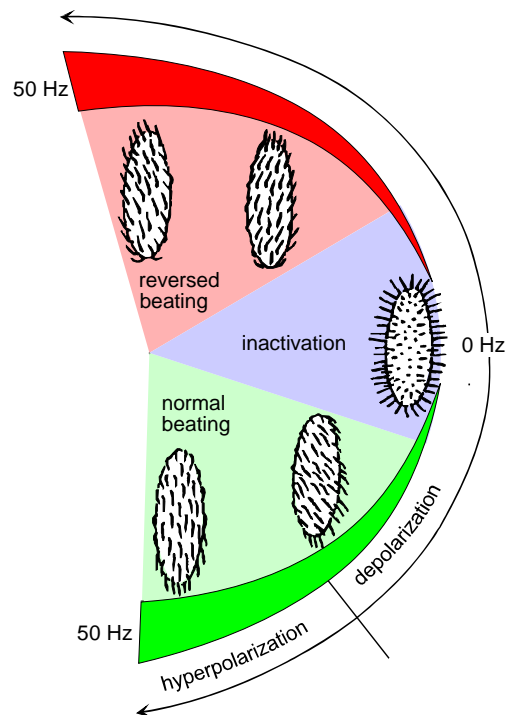


Abb. 1.1: Cilienschlagfrequenz und der Richtung des effektiven Cilienschlages in Abhängigkeit vom Membranpotential (modifiziert nach Machemer, 1974). Bei hyperpolarisierten Zellen schlagen die Cilien mit bis zu 50 Hz. Mit beginnender Depolarisation nimmt die Schlagfrequenz kontinuierlich ab (grüne Fläche), bis eine Phase absoluter Cilieninaktivität erreicht wird (blaue Fläche). Bei starker Depolarisation beginnen die Cilien rückwärts zu schlagen (rote Fläche). Im Bereich des Membranruhepotentials schlagen die Cilien mit etwa 20 Hz.

1.3. Bestimmung der Sedimentationsgeschwindigkeit von Ciliaten

Ciliaten weisen in der Regel eine höhere Dichte als das sie umgebende Wasser auf. Bei *Paramecium caudatum* (Lyon 1905; Kanda 1914; Taneda 1987a; Kuroda und Kamiya, 1989) liegt die Dichtedifferenz zwischen der Zelle und dem umgebenden Medium bei $0,04 \text{ g/cm}^2$. Für *Didinium nasutum* und *Loxodes striatus* kann ebenfalls eine spezifische Dichte von $1,04 \text{ g/cm}^3$ angenommen werden (Nagel et al., 1997).

Alle Körper, die eine höhere Dichte als das sie umgebende Medium aufweisen, sinken mit einer konstanten Geschwindigkeit. Für eine nach unten schwimmende Ciliatenzelle gilt daher, dass sie gleichzeitig nach unten fällt. Eine nach oben schwimmende Zelle muss gegen das durch die Schwerkraft hervorgerufene Absinken anschwimmen. Daher ist die Sedimentationsgeschwindigkeit, eine unverzichtbare Größe für die Berechnungen von Gravikinesen und Graviorientierungen.

Die Sedimentationsgeschwindigkeit von Kugeln kann nach der Stoke'schen Gleichung berechnet werden (Gleichung 1.3.).

Gleichung 1.3:
$$V_{\text{Sed}} = \frac{2r^2 \Delta \rho g}{9 \eta}$$

V_{Sed} = Sedimentationsgeschwindigkeit
 r = Radius der Kugel
 $\Delta \rho$ = Dichtedifferenz zwischen Kugel und Medium
 g = Fallbeschleunigung (9,81 m/s²)
 η = Viskosität des Mediums

Die für Ciliaten nach dieser Gleichung berechneten Sedimentationsgeschwindigkeiten stimmen nicht mit den gemessenen Werten überein. Aufgrund der Stoke'schen Gleichung wäre ein exponentieller Zusammenhang zwischen Objektgröße und Sedimentationsgeschwindigkeit zu erwarten. Mit zunehmendem Zellvolumen weichen die für unterschiedliche Spezies experimentell bestimmten Sedimentationsgeschwindigkeiten jedoch immer weiter von der erwarteten Beziehung ab: es besteht ein linearer Zusammenhang (Machemer, 1987; Nagel et al., 1997; Kowalewski et al., 1998; Krause, 1999; Machemer et al., 1998, Bechert, 2004).

Zum einen ist eine Ciliatenzelle keine starre Kugel, wie sie das Stoke'sche Gesetz voraussetzt, zum anderen wirkt sich die Viskosität des Mediums bei kleinen Körpern anders aus (Ciliaten haben eine niedrige Reynoldszahl). Da die Stoke'sche Gleichung diesen Umstand nicht berücksichtigt, ist ihre Gültigkeit für kleine Objekte begrenzt. Außerdem ist die Oberfläche einer Ciliatenzelle nicht homogen (Mundhöhle, Ciliatur). Die hierdurch entstehenden Mikroströmungen werden in der Stoke'schen Gleichung ebenfalls nicht berücksichtigt. Es ist daher erforderlich, Auswertungen des Schwimmverhaltens von Ciliaten mit experimentell bestimmten Sedimentationsgeschwindigkeiten durchzuführen.

Die Sedimentationsgeschwindigkeit hängt ferner von der wirksamen Beschleunigung ab. In Zentrifugenexperimenten konnte gezeigt werden, dass bei *Paramecium caudatum*, *Paramecium tetraurelia*, *Tetrahymena pyriformis*, *Didinium nasutum* und bei *Loxodes striatus* ein linearer Zusammenhang zwischen Sedimentationsgeschwindigkeit und der Beschleunigung besteht (Nagel et al., 1997). Daher wird bei den Parabelflugexperimenten für die Berechnungen der Gravikinese und Graviorientierungen eine beschleunigungsabhängig interpolierte Sedimentationsgeschwindigkeit angewendet.

1.4. Hypothesen zur Graviperzeption von Ciliaten

Die bei verschiedenen Ciliaten beobachtete Gravireaktion können entweder ausschließlich passiv auf physikalische Prinzipien und/oder auf eine Wahrnehmungsleistung der Zelle zurückgeführt werden.

Die beiden folgenden Abschnitte geben eine Übersicht über einige Hypothesen zur Gravitaxis.

1.4.1. Physikalische Hypothesen zur Gravitaxis

Max Verworn (1889) prägte den Begriff der negativen Geotaxis. Er beobachtete, dass Paramecien im oberen Bereich einer Wassersäule akkumulierten.

Diese Beobachtung erklärte Verworn mit der so genannten „**statischen Hypothese**“, welche auf das physikalische Prinzip einer Boje zurückzuführen ist. Die Hypothese beruht auf der Annahme einer ungleichen Dichteverteilung innerhalb der Zelle.

Paramecium weist im posterioren Zellbereich einen größeren Durchmesser auf als im anterioren Bereich. Daher vermutete Roberts, dass der posteriore Zellpol schneller sedimentiert („**hydrodynamische Hypothese**“; Roberts, 1970).

Beide Hypothesen beruhen auf demselben Prinzip. Durch die Wirkung der Schwerkraft wird ein Drehmoment hervorgerufen, welches die Zelle negativ gravitaktisch ausrichtet. Da die Zellen in der Regel vorwärts schwimmen, können sie so den oberen Bereich der Wassersäule erreichen. Diese Hypothesen werden durch Sedimentationsversuche mit *Paramecium caudatum* unterstützt, denn es konnte gezeigt werden, dass die Mehrzahl NiCl_2 immobilisierter Zellen mit ihrem posterioren Zellpol voran sedimentieren (Watzke, 2000). Außerdem weisen mit Eisen gefütterte Paramecien einen erhöhten Orientierungskoeffizienten auf (Watzke et al., 1998).

Alternativ könnte das Antriebszentrum der Zelle nach anterior verschoben sein. Dies würde ebenfalls zu einer vertikalen Ausrichtung der Zelle mit ihrem anterioren Zellpol nach oben führen (Winet und Jahn, 1974).

1.4.2. Physiologische Hypothesen zur Graviperzeption

Davenport (Davenport, 1897) ging davon aus, dass eine Ciliatenzelle in der Lage sei, während der Fortbewegung den **Energieverbrauch** zu bestimmen. Da eine nach oben schwimmende Zelle gegen die Sedimentation anschwimmen muss, ist ihr Energieverbrauch erhöht.

Die „**hydrostatische Hypothese**“ (Jensen, 1891) postulierte, dass eine Zelle den hydrostatischen Druck in unterschiedlichen Tiefen wahrnehmen kann. Wenn sie dann Orte geringeren Druckes aufsucht, orientiert sie sich nach oben. Diese Hypothese wurde von Taneda (1987a) experimentell widerlegt, indem er die Zellen wechselnden Drücken aussetzte, was das gravitaktische Verhalten jedoch nicht beeinflusst hat.

1905 etablierte Lyon die „**generelle Statocystenhypothese**“ (Lyon, 1905). Er ging davon aus, dass die Masse des gesamten Cytoplasmas als „Statolith“ fungiert. Die reizempfangende Struktur sollte die gesamte somatische Zellmembran sein. Da man aber noch zu wenig über die Erregbarkeit biologischer Membranen wusste und entsprechende Messverfahren unbekannt waren, konnte diese Hypothese damals nicht weiter verfolgt werden.

Basierend auf der Lyon'schen Hypothese formulierte Machemer die „**spezielle Statocystenhypothese**“ (Machemer et al., 1991). Durch elektrophysiologische Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass in der Zellmembran von Paramecien Ionenkanäle lokalisiert sind, welche durch mechanische Reizung aktiviert werden.

Zwei bipolar verteilte Ionenkanalspezies konnten bestimmt werden (Ogura und Machemer, 1980). Posterior finden sich Kalium-, anterior überwiegend Calciumabhängige Ionenkanäle. Bei lateraler mechanischer Reizung der Zellmembran heben sich bei *Paramecium caudatum* die Leitwertänderungen der beiden Ionenkanalspezies auf.

Abb. 1.2. zeigt die Leitwertänderungen der Membran in Abhängigkeit vom Ort der mechanischen Reizung.

Da die Zelle schwerer ist als das sie umgebende Medium, übt das Cytoplasma einen Druck auf die jeweils unten liegende Seite der Zellmembran aus. Dadurch werden die mechanosensitiven Ionenkanäle aktiviert – sie ändern ihre Konformation. Aufgrund dessen kommt es zu einer Leitwertänderung für K^+ bei einer nach oben schwimmenden Zelle (Hyperpolarisation) und für Ca^{2+} bei einer nach unten schwimmenden Zelle (Depolarisation; Abb. 1.3.).

Der Druck, den das Cytoplasma auf die Zellmembran von *Paramecium caudatum* ausübt, wird von Machemer und Bräucker auf 0,1 Pa geschätzt (Machemer und Bräucker, 1992). Um einen Rezeptorkanal zu aktivieren, muss der ausgeübte Reiz stärker sein als die Energie des thermischen Rauschens (2×10^{-21} J). Die Autoren schätzten in Analogie zu bekannten Mechanorezeptoren die nötige Energie zur Kanalaktivierung auf etwa 3×10^{-19} J. Da diese nur eine Zehnerpotenz über dem thermischen Rauschen

liegt, ist von einem extrem empfindlichen System auszugehen. Die „gating energy“ der Haarzellen im Innenohr liegt auf einem ähnlichen Niveau (Hudspeth, 1985; Howard et al., 1988).

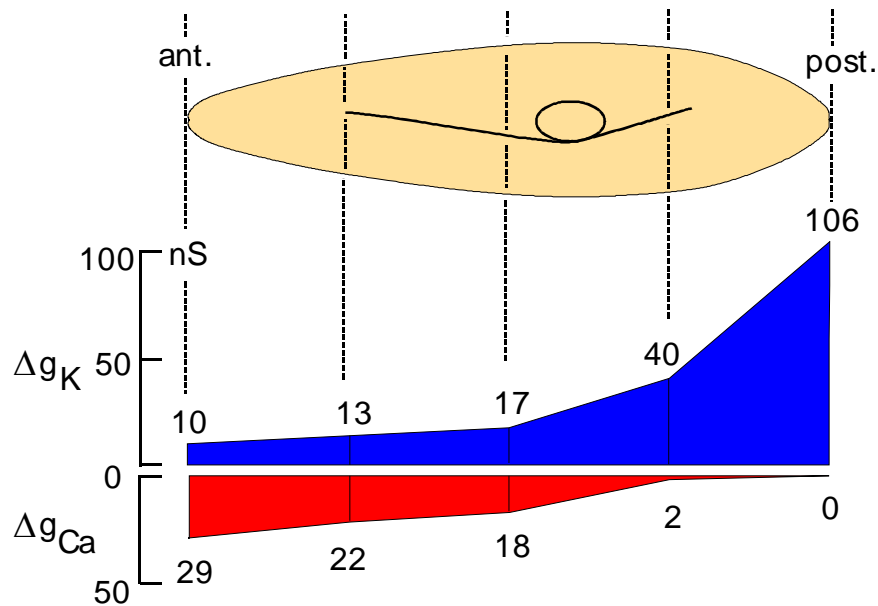


Abb. 1.2: Leitwertänderung für K^+ - und Ca^{2+} -Ionen in Abhängigkeit von der Stelle einer mechanischen Reizung der somatischen Zellmembran bei *Paramecium caudatum* (verändert nach Ogura und Machemer et al., 1980).

Die spezielle Statocystenhypothese fordert, dass durch die auf den posterioren Zellpol einer nach oben schwimmenden Zelle ausgeübte mechanische Last des Cytoplasmas die mechanosensitiven K^+ Ionenkanäle geöffnet werden. Dies würde zu einer Hyperpolarisation führen, welche aufgrund der elektromotorischen Kopplung eine Erhöhung der Schwimgeschwindigkeit bewirkt. Analog würden bei einer nach unten schwimmenden Zelle die mechanosensitiven Ca^{2+} Ionenkanäle aktiviert. Die dadurch entstehende Depolarisation der Zelle führt zu einer Reduktion der Schwimgeschwindigkeit (Machemer, 1986). Wenn die Zelle gegen ein Hindernis schwimmt, führt dies zu einer stärkeren Depolarisation und die Zelle zeigt ein „reversal“ (Rück- Vorbewegung der Zelle mit Reorientierung). Bei einer horizontal schwimmenden *Paramecium caudatum* Zelle kommt es zu keiner Änderung des Membranpotentials, da hier die beiden Ionenkanalspezies in etwa gleicher Quantität lokalisiert sind; die Leitwertänderungen der mechanosensitiven K^+ und Ca^{2+} Ionenkanäle weisen den gleichen Betrag auf (Ogura und Machemer et al., 1980) (Abb. 1.2.).

Inwieweit second messenger an der Graviperzeption beteiligt sind, ist noch nicht geklärt. Diskutiert werden cAMP (Hyperpolarisation) und cGMP (Depolarisation). In einem Höhenraketenexperiment (Texus No. 39) konnte gezeigt werden (Hemmersbach

et al., 2002), dass sich der cAMP Titer bei *Paramecium aurelia* während einer hyper-g Exposition im Mittel um 300% erhöht. Entsprechend reduziert sich der cAMP Titer in der Schwerelosigkeitsphase. Während der hyper-g Phase erhöht sich der Anteil von Paramecien die nach oben schwimmen. So nehmen die Autoren an, dass cAMP in der Signaltransduktionskette negativ gravitaktischer Zellen eine Rolle spielt. Die Rolle von cGMP bei Zellen, die sich positiv gravitaktisch verhalten wird noch geklärt.

In Abbildung 1.3. ist die spezielle Statocystenhypothese einschließlich der möglichen Wirkung von second messenger dargestellt.

Baba (1991) und Ooya (Ooya et al., 1992) vermuten basierend auf der speziellen Statocystenhypothese, dass durch alternierende De- und Hyperpolarisationen auf der helikalen Schwimmbahn eine nach unten schwimmende Zelle kontinuierlich nach oben ausgerichtet wird.

Die in dieser Arbeit untersuchten Arten haben eine unterschiedliche Ausstattung von Mechanorezeptorkanälen. Im Gegensatz zu den beiden Paramecien Arten (*Paramecium aurelia*: Nagel, 1998) sind bei *Didinium nasutum* ausschließlich depolarisierende mechanosensitive Ionenkanäle lateral und anterior nachgewiesen worden (Pernberg und Machemer, 1980, Pape und Machemer, 1982; Hara und Asai, 1980; 1985). Bei aufwärts schwimmenden Zellen konnte bei 1 g keine aktive Änderung der Schwimgeschwindigkeit festgestellt werden (Bräucker et al., 1994c). Die Zelle zeigt schon bei einer schwachen Membrandepolarisation eine Reduktion der Cilienschlagfrequenz (Pernberg und Machemer, 1995). Diese Reduktion der Schwimgeschwindigkeit zeigt sich bereits bei horizontal schwimmenden Zellen.

An *Ophryoglena flava* sind noch keine elektrophysiologischen Messungen vorgenommen worden. Aufgrund der verhaltensphysiologischen Befunde aus meiner Diplomarbeit (Bechert, 2004) wäre bei *Ophryoglena flava* eine Verteilung der Mechanorezeptorkanäle ähnlich wie bei *Didinium* oder den Paramecien Arten möglich.

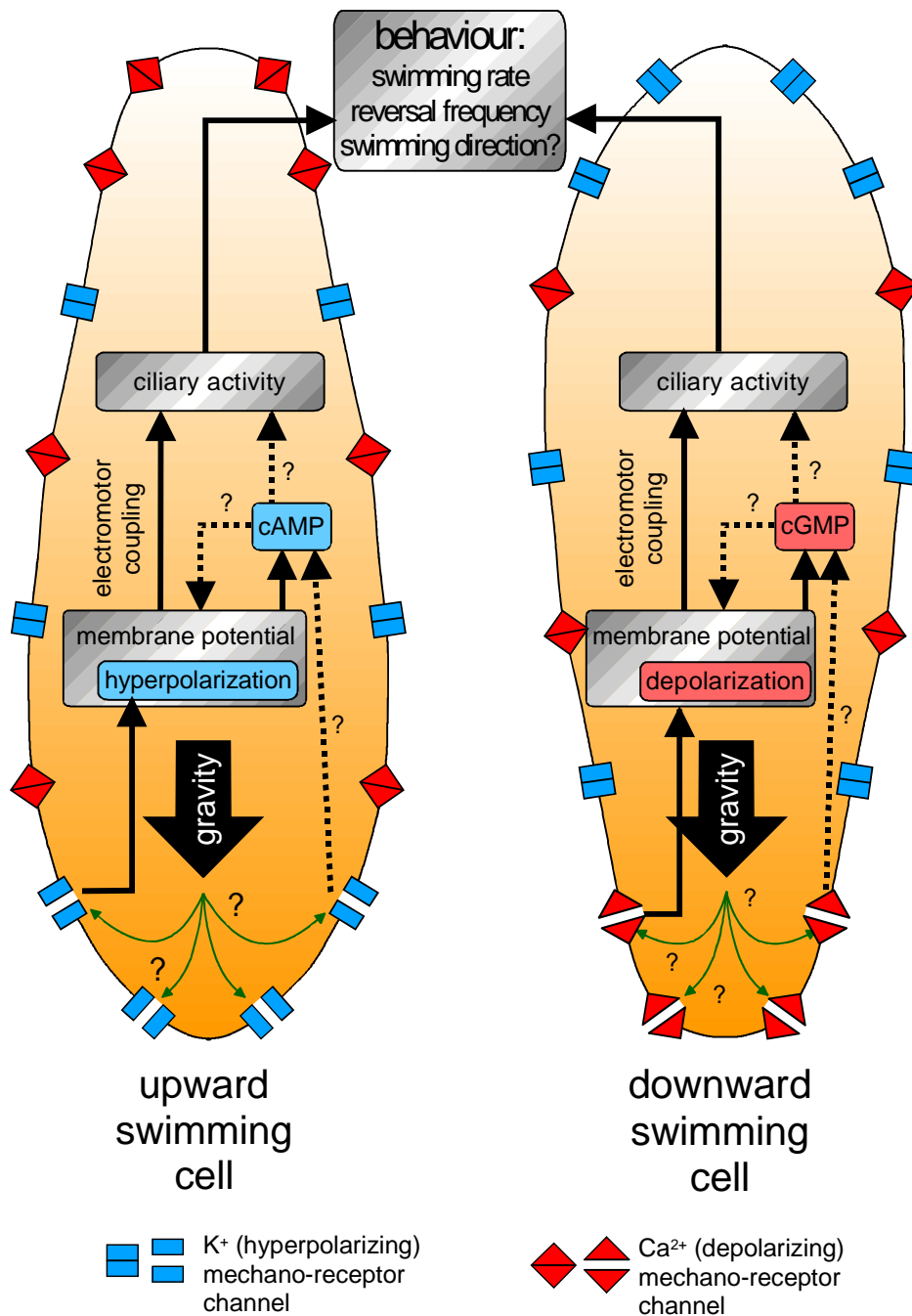


Abb. 1.3: Schematische Darstellung der speziellen Statocystenhypothese nach Machemer et al., 1991 (Abb. Bräucker et al., 2001). Links: Eine aufwärts schwimmende Zelle. Die Wirkung der Schwerkraft aktiviert mechanosensitive K⁺ Kanäle. Dies führt zu einer Hyperpolarisation. Durch das geänderte Membranpotential kommt es (ggf. unter Beteiligung von cAMP) zu einer Änderung des Schwimmverhaltens: die Zelle erhöht ihre Schwimmgeschwindigkeit. Rechts: Eine abwärts schwimmende Zelle. Durch die Last des Cytoplasmas werden mechanosensitive Ca²⁺-Rezeptorkanäle angesprochen. Die so depolarisierte Zelle ändert ihr Schwimmverhalten – sie schwimmt langsamer.

Es konnte bisher noch nicht geklärt werden, an welcher Stelle der Gravitransduktionskette die second messenger cAMP und cGMP involviert sind (Hemmersbach et al., 2002).

1.4.3. Gravikinese

Wie oben beschrieben, müsste sich das Membranpotential einer Zelle aufgrund der Aktivierung von mechanosensitiven Ionenkanälen orientierungsabhängig ändern. Diese Annahme wurde durch elektrophysiologische Untersuchungen bestätigt (Gebauer, 1999; Gebauer et al., 1999; Krause, 2003). Gemäß der elektromotorischen Kopplung ändert sich das Schwimmverhalten in Abhängigkeit vom Membranpotential. Eine nach oben schwimmende Zelle erhöht ihre Schwimmgeschwindigkeit, eine nach unten schwimmende Zelle verringert dieselbe. Diese aktive Schwimmgeschwindigkeitsmodulation wird als Gravikinese (Δ) bezeichnet (Machemer et al., 1991). Nach Fraenkel und Gunn (1940) wird eine Kinese als Geschwindigkeitsänderung definiert, welche nur von der Intensität eines Reizes abhängt, nicht aber von dessen Richtung. Die Gravikinese widerspricht dieser Definition. Machemer et al. (1991) konnten zeigen, dass die Gravikinese von der Stärke und der Richtung des Gravitationsvektors abhängig ist.

Für die Berechnung einer Gravikinese müssen die richtungsabhängigen Schwimmgeschwindigkeiten (V_{ab} und V_{auf}) gemessen werden. In diese gehen verschiedene Teilkomponenten ein (Gleichungen 1.4. bis 1.7.; Abb. 1.4.):

P (Propulsion) sei die nicht durch die Schwerkraft beeinflusste Vortriebsgeschwindigkeit einer Zelle. Sie entsteht durch Aktivität aller Cilien und kann nur unter Schwerelosigkeitsbedingungen (μg) bestimmt werden. Bei *Paramecium caudatum* kann die Schwimmgeschwindigkeit in horizontaler Richtung in erster Näherung dem Vortrieb gleichgesetzt werden (Machemer et al., 1992).

Bei einer abwärts schwimmenden Zelle wirken die Vortriebsgeschwindigkeit P und die Sedimentationsgeschwindigkeit V_{Sed} in dieselbe Richtung (Abb. 1.4.). Daher addieren sich die beiden Geschwindigkeitsbeträge. Analog dazu wird P bei einer aufwärts schwimmenden Zelle um V_{Sed} vermindert (Machemer und Bräucker, 1992).

Die spezielle Statocystenhypothese sagt eine Reduktion der Schwimmgeschwindigkeit einer abwärts schwimmenden Zelle um den Betrag Δ_{ab} voraus. Analog dazu wird die Erhöhung der Schwimmgeschwindigkeit einer aufwärts schwimmenden Zelle um den Betrag Δ_{auf} angenommen.

Abb. 1.4. zeigt die Zusammensetzung der verschiedenen Komponenten der Geschwindigkeiten in einem Vektordiagramm. In den folgenden Gleichungen wird für die Richtung nach unten ein positives Vorzeichen verwendet. Es ergibt sich für eine abwärts schwimmende Zelle:

Gleichung 1.4: $V_{ab} = P + S - \Delta_{ab}$

Die korrespondierende Gleichung für eine aufwärts schwimmende Zelle lautet:

Gleichung 1.5: $-V_{auf} = -P + S - \Delta_{auf}$

Bei bekanntem P können die richtungsbezogenen Gravikinesen für Δ_{auf} und Δ_{ab} berechnet werden. In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, die Vortriebsgeschwindigkeit für vier Ciliatenspezies neu bzw. nochmals zu bestimmen.

Wenn die Vortriebsgeschwindigkeit P unbekannt ist, kann nur eine generalisierte (mittlere) Gravikinese (Δ) bestimmt werden. Diese berechnet sich aus dem arithmetischen Mittel von Δ_{auf} und Δ_{ab} und ist somit nur eine Näherung.

Gleichung 1.6: $\Delta = \frac{\Delta_{ab} + \Delta_{auf}}{2}$

Aus den Gleichungen 1.4. und 1.5. ergibt sich:

Gleichung 1.7: $\Delta = \frac{V_{ab} - V_{auf}}{2} - V_{Sed}$

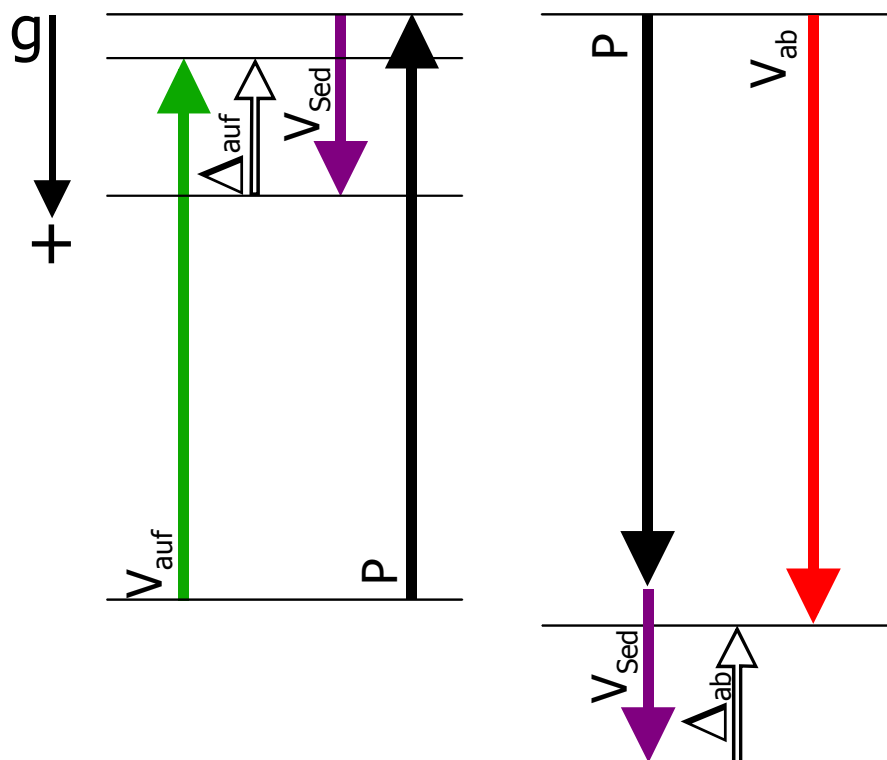


Abb. 1.4: Zusammensetzung der Geschwindigkeitskomponenten für abwärts (links) und aufwärts (rechts) schwimmende Zellen. P (Propulsion) entspricht der Vortriebsgeschwindigkeit einer Zelle ohne den Einfluss der Gravitation, (V_{Sed}) Sedimentationsgeschwindigkeit, (V_{ab}) Abwärtsschwimmgeschwindigkeit, (V_{auf}) Aufwärtsschwimmgeschwindigkeit, (Δ_{auf} ; Δ_{ab}) richtungsbezogene Gravikinesen.

Ein negatives Vorzeichen der Gravikinese impliziert, dass die Zelle in der Lage ist, einen Teil ihrer Sedimentationsgeschwindigkeit zu kompensieren: sie erhöht aktiv ihre Schwimmggeschwindigkeit, wenn sie nach oben schwimmt, und verringert ihre Schwimmggeschwindigkeit, wenn sie nach unten schwimmt. Eine positive Gravikinese würde dagegen die Wirkung der Sedimentation vergrößern.

Es konnte bei verschiedenen Ciliatenspezies eine Gravikinese nachgewiesen werden. Dazu gehören *Paramecium caudatum* (Machemer et al., 1991), *Paramecium aurelia* (Hemmersbach-Krause und Häder, 1990), *Loxodes striatus* (Bräucker et al., 1991), *Stylonychia mytilus* (Krause, 2003), *Bursaria truncatella* (Krause, 1999), *Tetrahymena pyriformis* (Kowalewski et al., 1998) und *Ophryoglena flava* (Bechert, 2004).

1.4.4. Intrazellulärer Schweresensor

Bei *Loxodes striatus* wird der Müller'sche Körper für die Schwerkraftwahrnehmung verantwortlich gemacht (Fenchel und Finlay, 1986). Bei dem Müller'schen Körper handelt es sich um einen in einer Vakuole befindlichen Bariumsulfatkristall. In diesen Kristall inseriert ein spezialisiertes Cilium. Die schwerkraftabhängige Zugkraft des Kristalls an diesem Cilium führt nach Meinung der Autoren zu einer Auslenkung des Ciliums, wodurch mechanosensitive Ionenkanäle aktiviert werden, welche das Membranpotential der Zelle ändern. Neugebauer und Machemer (Neugebauer und Machemer, 1997) vermuten, dass alleine die mechanische Last auf das Cilium ausreichend ist, um eine Gravireaktion der Zelle auszulösen.

Durch Läsionsexperimente (Zerstörung des Kristalls durch Laser) konnte gezeigt werden, dass der Müller Körper an der Graviperzeption der Zellen beteiligt ist (Hemmersbach et al., 1998).

Neugebauer et al. (Neugebauer et al., 1998) zeigten, dass *Loxodes striatus* in einem isodichten Medium eine reduzierte, aber nicht aufgehobene Gravikinese zeigt. Die verbleibende Gravikinese kann nur durch einen interzellulären Gravisensor erklärt werden. Die Autoren gehen darum von zwei gravisensiblen Strukturen bei dieser Spezies aus, einem zentralen (Müller'schen Körper) und einem peripheren Gravirezeptor in der somatischen Zellmembran. Der Müller'sche Körper wäre dann eine sekundäre Bildung, welche der Zelle ermöglicht, auch auf einem Substrat gleitend den Gravitationsvektor wahrzunehmen (Neugebauer et al., 1998).

1.5. Verhalten von Ciliaten bei variablen Beschleunigungen

Zur Charakterisierung des gravitaktischen Verhaltens und damit auch der Gravirezeptorstrukturen wurden in der Vergangenheit Experimente unter- und oberhalb der natürlichen Schwerkraft durchgeführt. Ergebnisse dieser und anderer Studien werden im Rahmen der Diskussion vergleichend aufgegriffen.

- Parabelflüge: Krause et al., 2006
- Fallturm bzw. Fallschachtexperimente: Machemer et al., 1992, 1993a; Bräucker et al., 1998; Machemer-Röhnisch et al., 1998
- Höhenraketen: Hemmersbach-Krause et al., 1993a; Hemmersbach-Krause et al., 1994
- Space-Shuttle Mission: Hemmersbach et al., 1996a, b
- Zentrifugenexperimente: Bräucker et al., 1994c; Hemmersbach-Krause et al., 1992

1.6. Photoperzeption bei Ciliaten

Lichtinduzierte Verhaltensantworten freischwimmender Ciliaten können makroskopisch betrachtet zu zwei Reaktionen führen. Entweder die Zellen zeigen eine Photoakkumulation (sammeln im hellen Bereich) oder ein Photodispersal (verlassen des hellen Bereichs). Beide Reaktionen können durch verschiedene Mechanismen hervorgerufen werden. (Siehe hierzu auch Diehn et al., 1977):

- **Photokinese:** Lichtexponierte Zellen zeigen eine Änderung der Schwimmgeschwindigkeit. Nach Fraenkel und Gunn (1940) ist eine Schwimmgeschwindigkeitsänderung allein von der Reizstärke und nicht von der Reizrichtung abhängig. Lichtinduzierte Schwimmgeschwindigkeitsänderungen werden auch als Photoorthokinesen bezeichnet.
- **Photophobische Reaktion:** Diese Reaktion lässt sich an Helligkeitsgrenzen beobachten. Man unterscheidet einerseits eine „step-down-photophobic response“, welche sich in einem reversal (Rück- Vorbewegung gefolgt von einer Reorientierung) der Zelle an einer hell-dunkel Grenze zeigt. So steigt die Wahrscheinlichkeit, dass die Zelle im hellen Bereich bleibt. Eine „step-up-photophobic response“ andererseits bewirkt, dass die Zellen überwiegend im dunklen Bereich verbleiben. Da aus einer Erhöhung der reversal-Rate eine Verringerung der Netto-Schwimmgeschwindigkeit resultiert, werden photophobische Reaktionen auch als Photoklinokinesen bezeichnet.

- **Phototaxis:** Eine Bewegung des Organismus in Bezug auf die Lichtrichtung. Phototaxis wird in der Literatur oft mit Photoorientierung gleichgesetzt.

Grundlage einer lichtinduzierten Verhaltensantwort stellt die Rezeption des Lichtreizes dar. Hierfür wurden bei verschiedenen Ciliaten unterschiedliche Strukturen identifiziert. Im folgenden Abschnitt werden einige Beispiele aufgeführt.

Bei den von Iwatsuki und Naitoh (1982 a, b) durchgeführten Experimenten mit den farblosen Paramecien Arten (*Paramecium aurelia*, *Paramecium caudatum* und *Paramecium multimicronucleatum*) zeigten diese Zellen ein Photodispersal. Sie hielten sich zum überwiegenden Teil in der dunklen Region der Versuchskammer auf.

Für *Didinium nasutum* ist nichts über Photosensitivitäten bekannt.

Stentor coeruleus ist eine der ersten Ciliatenarten, die auf Lichtperzeption untersucht wurden (Mast, 1906). Das negative phototaktische Verhalten der Zelle wird mit dem anterior in Vesikeln lokalisierten Pigment Stentorin in Verbindung gebracht (Song und Walker, 1981; Tao et al., 1994).

Nassula citrea sowie *Blepharisma japonicum* zeigen beide eine negative Phototaxis. Bei *Nassula citrea* wurden gelbe, Stigma formende Vesikel mit der Photorezeption in Verbindung gebracht (Kuhlmann und Hemmersbach-Krause, 1993a). Scevoli et al. (1987) zeigten durch Analyse des Aktionsspektrums der Verhaltensantworten von *Blepharisma japonicum* eine Beteiligung des Pigments Blepharismine an der Photorezeption.

Bei dem, eine positive Phototaxis zeigenden, Ciliat *Fabrea salina* wird ein farbloses Pigment als Photorezeptor diskutiert (Colombetti et al., 1992). Colombetti beschreibt die Phototaxis von *Fabrea salina* mit einem „biased random walk model“. Die ansonsten zufällig schwankenden Bewegungsparameter wie Schwimmgeschwindigkeit und Reversalrate werden durch die Richtung des einfallenden Lichtes in dem Maße beeinflusst, dass eine gerichtete Bewegung der Population entsteht.

Paramecium bursaria kann symbiotische Zoochlorellen enthalten, welche wahrscheinlich über photosynthetische Prozesse den Ciliaten mit Nährstoffen versorgen. Zoochlorellen enthaltende *Paramecium bursaria* zeigen eine „Step-down photophobic response“, wogegen Zoochlorellen freie Zellen eine „step-up-photophobic response“ zeigen (Iwatsuki und Naitoh, 1988).

Beim stigmatragenden Ciliat *Chlamydomonas mnenosyne*, ändert sich die Photoorientierung abhängig vom Ernährungszustand: gut ernährte Zellen zeigen negative Photoori-

entierung, während hungernde Zellen sich zur Lichtquelle hin orientieren (Kuhlmann und Hemmersbach-Krause, 1993b).

Auch bei anderen Arten sind die Lichtreaktionen vom Entwicklungs- oder Ernährungszustand abhängig. *Porpostoma notatum* durchläuft wie *Ophryoglena flava* während seiner asexuellen Reproduktion mehrere aufeinander folgende Entwicklungsstadien. Der Theront, der vagile, Futter suchende Schwärmer, zeigt eine positive Phototaxis. Nach der Nahrungsaufnahme entwickelt sich der Theront zum Protomonten, welcher eine eindeutig negative Phototaxis zeigt (Kuhlmann, 1993). Beide Stadien besitzen ein aus vielen hundert Kristallplättchen aufgebautes, nierenförmiges „Lieberkühn’sches Organell“ (Abb. 1.5.), welches mit der Photorezeption in Verbindung gebracht wird (Kuhlmann, 1997).

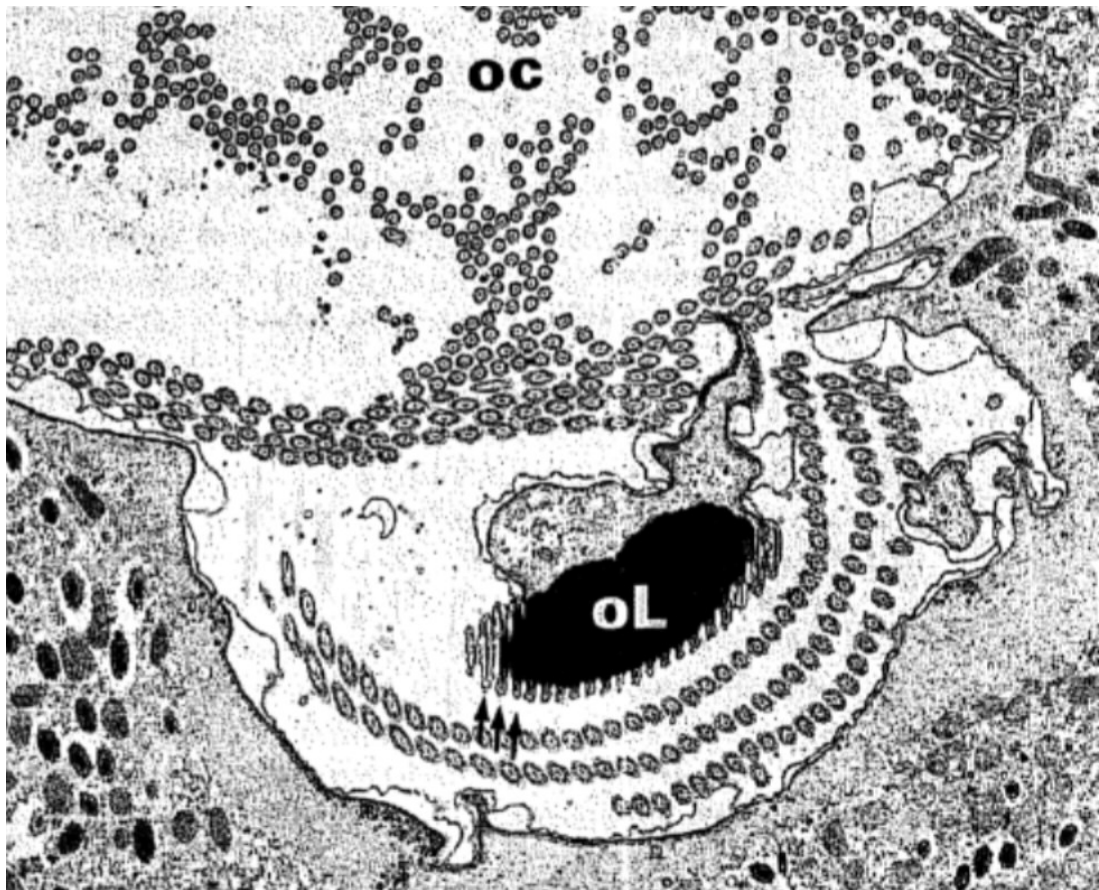


Abb. 1.5: Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme des Lieberkühn'schen Organells bei *Ophryoglena catenula*. oL: Lieberkühn'sches Organell, OC: Oralhöhle, Pfeile: Membranaufwölbungen. (Nach Kuhlmann, 1998a). Das Lieberkühn'sche Organell weist eine typische Länge von 6 bis 9 μm und eine Breite von 2,5 bis 3,5 μm auf.

Lynn (Lynn et al., 1991) vermutet als Funktion aber auch die Lokalisation und Aufnahme von Nahrung (tierisches Gewebe). Das Lieberkühn'sche Organell liegt in der oralen Höhle und weist mit seiner konkaven Seite in Richtung des anterioren Zellpols. Dabei

zeigt es eine Neigung von 25°-50° in Bezug auf die Zelllängsachse (Kuhlmann, 1997). Das Organell besteht aus stark lichtbrechendem Material und weist bei *Ophryoglena catenula* eine Größe von etwa 7 µm x 3 µm x 1 µm auf (Kuhlmann, 1993). Bei gut ernährten Zellen ist das Lieberkühn'sche Organell schlecht zu identifizieren, da viele lichtabsorbierende Nahrungsvakuolen gebildet werden.

Die Reiztransduktionskette der Lichtwahrnehmung ist noch weitgehend unbekannt, wurde jedoch bei *Blepharisma japonicum* und *Stentor coeruleus* untersucht. Bei beiden Arten wird eine Verhaltensänderung durch eine Änderung des Membranpotentials ausgelöst, wenn die Zellen einem Lichtreiz ausgesetzt werden (Fabczak et al., 1993a, b, c; Wood, 1976). Das lichtinduzierte Aktionspotential, mit der daraus resultierenden Änderung des Cilienschlages, tritt aber erst mit einiger Verzögerung auf (Wood, 1982; Fabczak, 2000). Nach Ansicht der Autoren legt dies eine intrazelluläre Signalprozessierung nahe. Die zeitliche Abfolge von Signaltransduktionssystemen einiger metazoischer Rezeptoren erscheint analog zur Lichtperzeption von *Blepharisma* und *Stentor* (Millecchia and Mauro, 1969; Firestein, 1992), denn bei beiden Systemen scheinen biochemische Umbauprozesse im Zuge der Reizwahrnehmung abzulaufen (Song, 1997).

Bei *Stentor coeruleus* wird cGMP als second messenger diskutiert (Fabczak et al., 1993c, d; Walerczyk et al., 2000). Bei *Blepharisma japonicum* hingegen gibt es Hinweise, dass cGMP und/oder InsP₃ (Inositol1,4,5-Triphosphat) als second messenger in Frage kommen können (Fabczak et al., 1998, 1999; Matsuoka et al., 2000).

Sobierajska et al. (2006) zeigten schon bei nahe verwandten Ciliatenspezies (*Blepharisma japonicum* und *Stentor coeruleus*) deutliche Unterschiede bei der Verarbeitung des Lichtreizes.

1.7. Ziele der Arbeit

Die vorliegende Arbeit soll dazu beitragen, das Verständnis von Reizwahrnehmung und -verarbeitung auf zellulärer Ebene zu vergrößern. Am Beispiel der Umweltreize Licht und Schwerkraft sollen Reaktionsschwellen bestimmt werden. Ferner soll versucht werden, Reiz-Reaktionsbeziehungen zu analysieren. Der Vergleich zwischen vier Spezies wird auf weitere bekannte Arten ausgedehnt.

2. Material und Methoden

2.1. Ciliatenspezies

Im folgenden Abschnitt werden die verschiedenen Ciliatenspezies charakterisiert, mit denen in der vorliegenden Dissertation gearbeitet wurde.

2.1.1. *Ophryoglena flava*

Das sarcophage, holotriche Ciliat *Ophryoglena flava* (Ehrenberg, 1831) (Abb. 2.1.) gehört taxonomisch in die Gruppe der Hymenostomata, welche dem artenreichsten und am weitesten verbreiteten Taxon der Ciliaten, den Oligohymenophorea, zugeordnet wird. Die Zellen wurden mir freundlicherweise von Herrn Prof. Colombetti, Instituto Biofisico Pisa zur Verfügung gestellt. Die *Ophryoglena* Arten finden sich in allen Saprobitätsstufen (Foissner et al., 1994), sie werden aber nie zahlreich. Einige *Ophryoglena* Arten (*O. collini*, *O. ovariovora*) leben parasitisch in der Hämolymphe einiger Insektenarten wie in der Eintagsfliege *Baetis sp.* und in *Caenis luctuosa* (Gaino und Reborá, 2000).

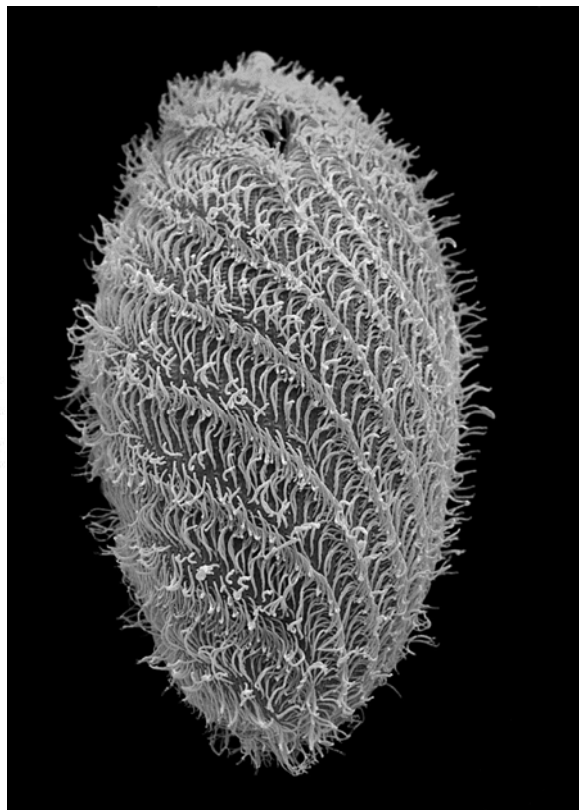
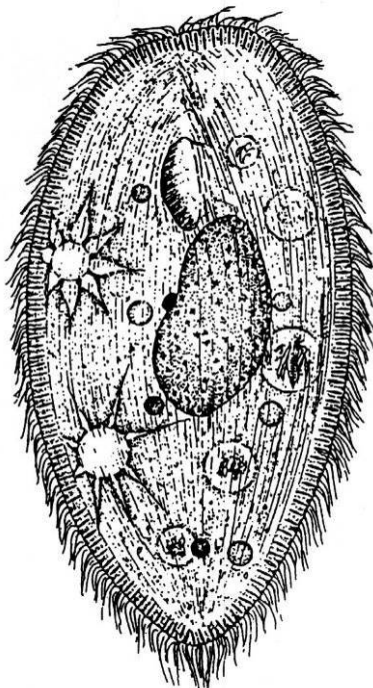


Abb. 2.1: *Ophryoglena flava* Theront (nach Foissner et al., 1994). Die rasterelektronenmikroskopische Aufnahme (REM) (rechts) wurde mir freundlicherweise von Herrn Prof. Foissner persönlich zur Verfügung gestellt und zeigt *Ophryoglena spec.* Der Theront weist eine durchschnittliche Größe von 280 μm x 100 μm auf.

Als auffälliges Merkmal gilt die 6-lappige Mundbucht, in der das Lieberkühn'sche Organell („Uhrglaskörper“) lokalisiert ist. Dieses Organell wird, wie in 1.6. beschrieben, mit der Photoperzeption in Verbindung gebracht (Kuhlmann, 1993). Eine intensive Dunkelfärbung der Zelle durch zahlreiche kontraktile Nahrungsvakuolen ist während des Trophonten- und Tomontenstadiums (s. u.) obligat.

Die Reproduktion der Ophryoglenen unterliegt einem komplizierten Entwicklungszyklus (Abb. 2.2.), der durch das Auftreten polymorpher Stadien gekennzeichnet ist (Savoie, 1961).

Die vagile Verbreitungsform von *Ophryoglena flava* wird als Theront bezeichnet (Abb. 2.1.). Sie hat eine Größe von durchschnittlich 280 µm x 100 µm, ist tropfenförmig und nach hinten zugespitzt. Der Theront stellt das voll ausdifferenzierte Stadium innerhalb des Zyklus dar (Beran, 1983) und verfügt über eine ausgeprägte Chemotaxis und Phototaxis (Kuhlmann, 1993; Cadetti et al., 2000). Nach Lokalisation der Nahrung nimmt er diese als Trophont auf und kann dabei auf das bis zu dreifache seiner ursprünglichen Größe anwachsen. Nach der Nahrungsaufnahme, welche 2 bis 4 Stunden dauert, rundet er sich zum torpedoförmigen Protomonten mit einer Größe von 410 µm x 200 µm ab. Die Zellen enzystieren sich nach einer kurzen Schwimmpphase unter Ausbildung von Tomonten. Der Tomont teilt sich und bildet bis zu 8, meist aber nur 2 eng beieinander liegende Tomiten. Die Tomiten entwickeln sich wieder zum Therontenstadium. Die Gesamtdauer eines Zyklus beträgt etwa 3 bis 5 Tage.

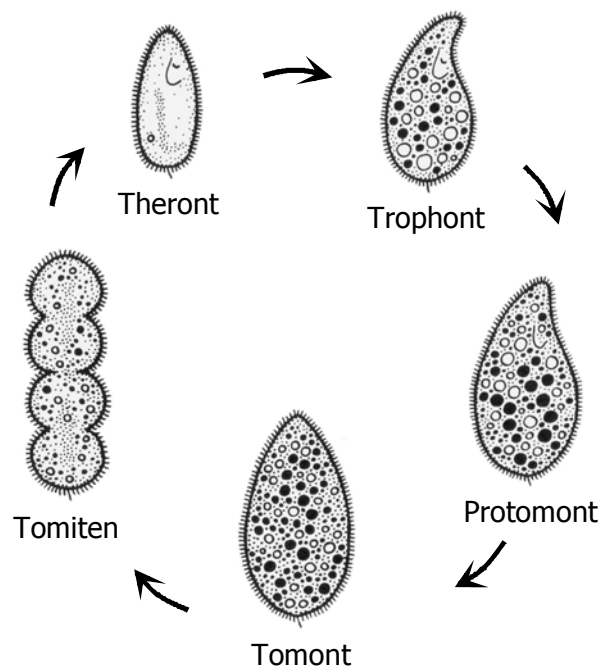


Abb. 2.2: Lebenszyklus von *Ophryoglena flava*, nach Kuhlmann, 1993.

Die Zellen wurden in großen Plastik-Petrischalen (\varnothing 92 mm, Höhe 21 mm) gehalten. Als Kulturlösung wurde käufliches Mineralwasser (Volvic®) verwendet.

Die Zellen wurden zweimal in der Woche gefüttert und etwa alle 14 Tage umgesetzt. Als Nahrung für die Ophryoglenen dienten tiefgefrorene, rote Larven verschiedener Zuckmückenarten (*Chironomidae*); Aquariumsbedarf.

Die Kultur wurde in einer Klimakammer bei 19°C und einem Licht-Dunkelrhythmus von 14 h zu 10 h gehalten. Die Lichtintensität betrug ca. 5 lx.

2.1.2. *Didinium nasutum*

Das kosmopolitische Süßwasserciliat *Didinium nasutum* (Müller, 1773; Stein, 1859) weist eine durchschnittliche Größe von 140 μ m x 90 μ m auf und gehört in die Familie der Gymnostomatida. Die Zellen wurden über die Carolina Biological Supply Company in Burlington USA bezogen. Der orale Pol liegt direkt am Vorderende der Zelle (Proboscis). In diesem Mundkegel befinden sich 2 Typen von stäbchenförmigen Extrusomen, die etwa 7 μ m langen Pexicysten und die etwa 24 μ m lange Toxicysten. Neben dem in der Zellmitte gelegenen hufeisenförmigen Macronucleus gibt es mehrere Micronuclei. Die Cilien sind in zwei, die Zelle umspannende Wimpernkränze organisiert, einer am oralen Pol und ein zweiter im hinteren Zelldrittel (Foissner et al., 1995).

Didinium nasutum gilt als ausgesprochener Nahrungsspezialist. Die Zelle ernährt sich (fast) ausschließlich von *Paramecium caudatum* (Abb. 2.3). Bei einem Kontakt mit der Beute dienen die Pexicysten zum Festhalten der Paramecien. Die Toxicysten entladen sich in die Beute und töten diese nach kurzer Zeit. *Didinium nasutum* kann als Prototyp eines Schlingers gelten, denn die Beute ist deutlich größer als der Räuber (Salt, 1974; Hara R. und Asai H., 1980). Aufgrund der extremen Nahrungsspezifität nimmt man Chemosensoren im Oralbereich an.

Didinium nasutum ist kosmopolitisch ganzjährig verbreitet, aber meist spärlich im Benthos und Pelagial von stehenden und fließenden Gewässern (Foissner et al., 1995). *Paramecium caudatum* muss als Nahrungsquelle vorhanden sein (Bick 1972a, b). *Didinium* ist in der Lage, Ruhezysten zu bilden (Beers 1937).

Die Kultur wurde in einer Klimakammer bei 19°C und einem Licht-Dunkelrhythmus von 14 h zu 10 h gezüchtet. Die Lichtintensität betrug ca. 5 lx.

Die Zellen wurden in 300 ml-Glasgefäßen in 1:1:1 Lösung (Tab. 2.1.) gehalten und durchschnittlich alle 48 Stunden mit *Paramecium caudatum* (in einem Zellverhältnis von 1:1) gefüttert. Die Paramecien wurden vorher in Pringsheim-Lösung (Tab. 2.2.)

gewaschen um eine bakterielle Kontamination zu vermeiden. Alle Experimente wurden mit leicht hungernden Zellen durchgeführt. Bei *Didinium nasutum* handelt es sich im Vergleich zu *Ophryoglena flava* um ein in der Literatur ausführlich beschriebenes Ciliat. Die Zelle ist elektrophysiologisch gut untersucht (Pape und Machemer, 1982, 1986).

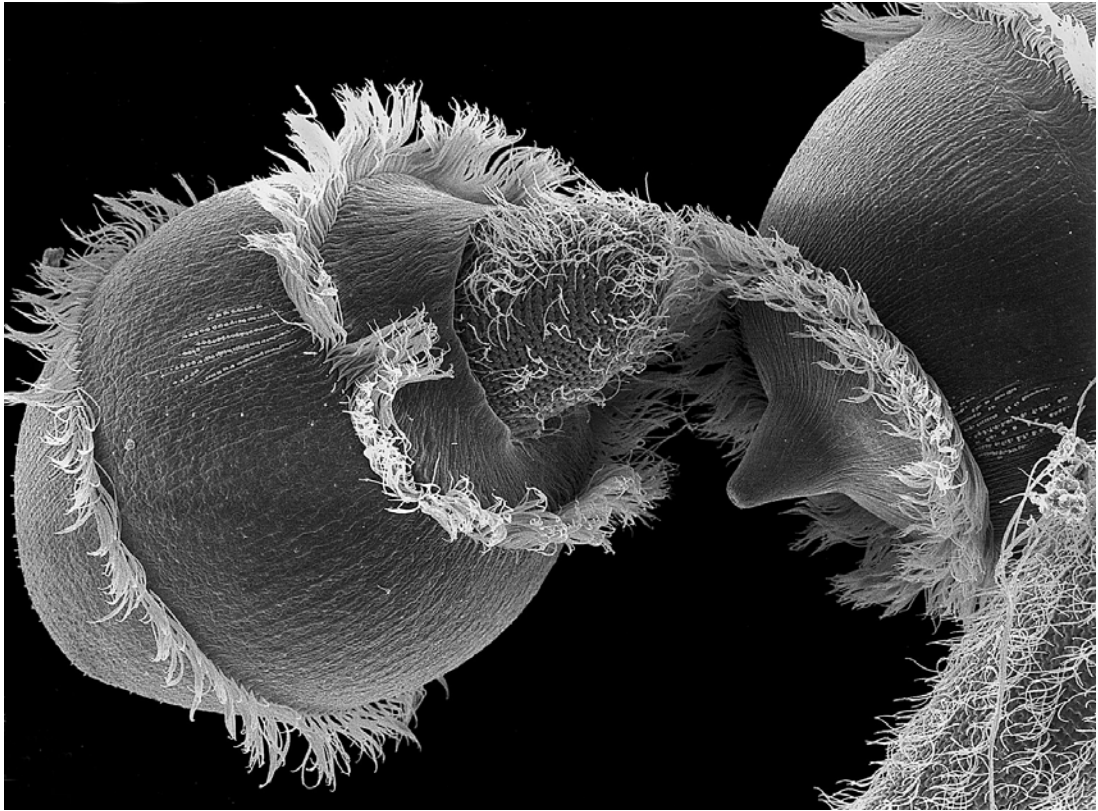


Abb. 2.3: *Didinium nasutum* (links) verschlingt *Paramaecium caudatum*. Rechtes *Didinium* mit Proboscis. Das REM Bild habe ich von Herrn Prof. Foissner erhalten. Didinien weisen eine durchschnittliche Größe von 140 µm x 90 µm auf.

Tab. 2.1: 1:1:1 Lösung, pH-Wert: 7,0

Substanz	Endkonzentration [mM]
KCl	1,0
MgSO ₄	0,1
CaCl ₂	1,0
MOPS (Puffer)	1,0

Tab. 2.2.: Zusammensetzung von Pringsheim-Lösung, pH-Wert: 7,2

Substanz	Endkonzentration [mM]
MgSO ₄	0,08
Na ₂ HPO ₄	0,42
NaH ₂ PO ₄	0,39
Ca(NO ₃) ₂	0,85
KCl	0,35

2.1.3. *Paramecium caudatum*

Die zu den Hymenostomata gehörende Zelle (Ehrenberg, 1833) weist eine mittlere Größe von 230 µm x 68 µm auf, wobei der anteriore Zellpol schmal und der posteriore Zellpol konisch verbreitert ist (Abb. 2.4.). Die Kultur wurde mir vom Lehrstuhl für Zellphysiologie der Ruhr Universität Bochum zur Verfügung gestellt. Dem ellipsoiden Macronucleus in der Zellmitte liegt direkt der einzige Micronucleus an. Zwei kontraktile Vakuolen befinden sich jeweils im vorderen und dem hinteren Zelldrittel. Die Ciliatur besteht aus 80 bis 120 longitudinalen Wimpernreihen, die anterior ventral überwiegend aus paarigen, dorsal und posterior ventral aus einzelnen Cilien bestehen. Am posterioren Zellpol befinden sich deutlich verlängerte und fast starre Cilien (Caudalcilien). Der Oralapparat befindet sich etwas unterhalb der Zellmitte in der Medianen (Foissner et al., 1994).

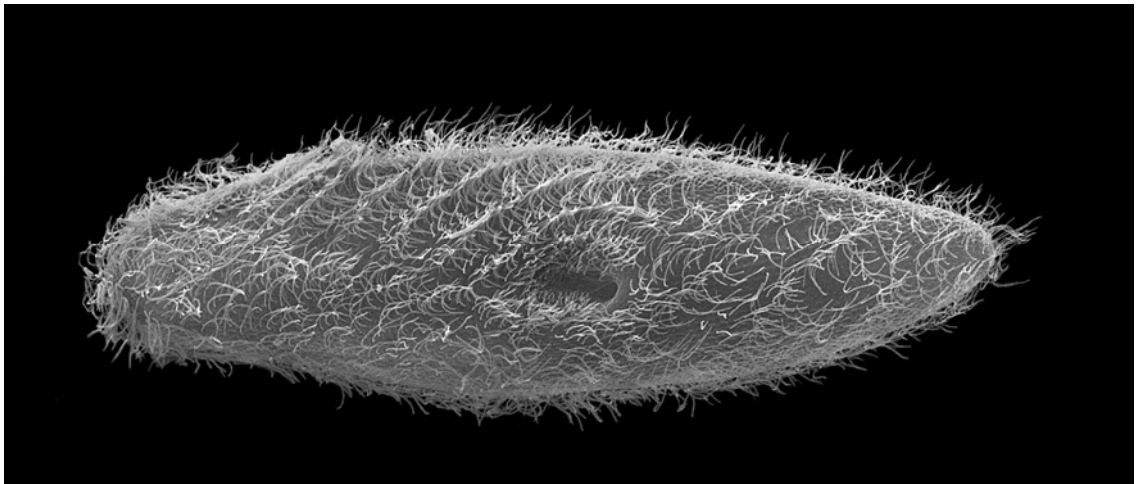


Abb. 2.4: *Paramecium caudatum*. Von Herrn Prof Foissner stammt die REM Aufnahme. Größe der Zellen etwa 230 µm x 68 µm.

Paramecium caudatum ist eine bacteriophage, kosmopolitische Art. Sie kommt ganzjährig mit hohen Individuenzahlen in perennen, stehenden und fließenden Gewässern mit einem hohen Gehalt an leicht abbaubaren organischen Substanzen vor. *Paramecium caudatum* bildet keine Cysten (Foissner et al., 1994).

Die Kultur wurde in einer Klimakammer bei 19°C und einem Licht-Dunkelrhythmus von 14 h zu 10 h gezüchtet. Die Lichtintensität betrug ca. 5 lx.

Als Kulturmedium diente ein Strohaufguss aus autoklaviertem und mit *Enterobacter aerogenes* inokuliertem Aqua bidest. (500 ml Glasflasche, 400 ml Flüssigkeit; 15 g Stroh). Die Zellen wurden etwa alle 14 Tage in neue Kulturgefäße umgesetzt.

Gearbeitet wurde mit Kulturen, die sich in der stationären Wachstumsphase befanden.

2.1.4. *Paramecium aurelia*

Bei *Paramecium aurelia* (Müller, 1773) handelt es sich um einen Schwesterartenkomplex (*P. primaurelia*, *P. biaurelia*, *P. tetraurelia*, *P. sexaurelia*, u. a. insgesamt 14 Typen). Ihre Unterscheidung ist nur durch die mating type reaction und dem Isoenzymmuster möglich (Sonneborn, 1975). Corliss und Daggett (1983) schlagen daher vor, den Begriff *Paramecium aurelia*-Komplex zu verwenden. In der vorliegenden Arbeit werde ich die Bezeichnung *Paramecium aurelia* verwenden (Abb. 2.5.). Die Kultur wurde von der Culture Collection of Algae and Protozoa, Ambleside, UK, bezogen.

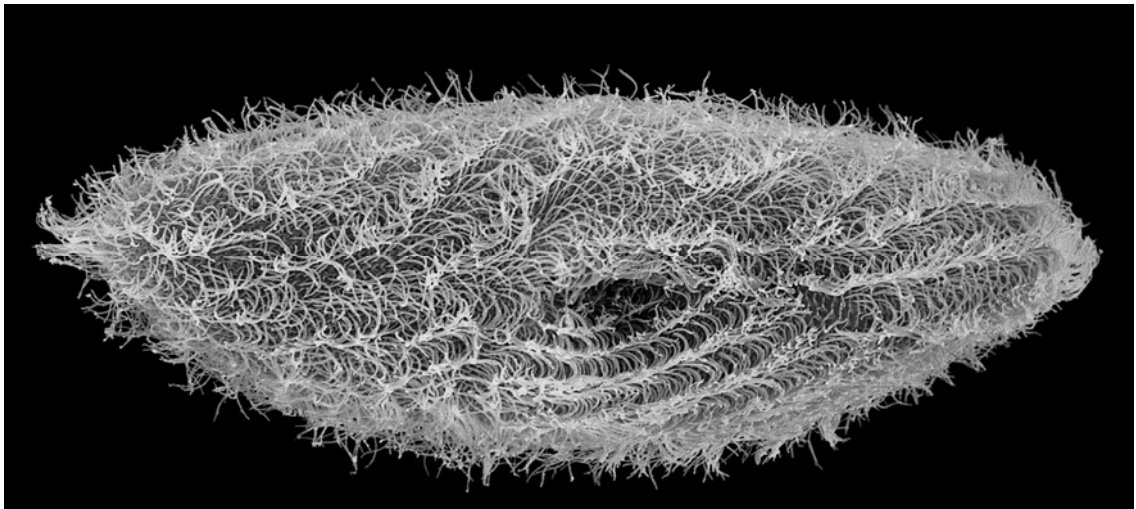


Abb. 2.5: *Paramecium aurelia*. Die rasterelektronenmikroskopische Aufnahme wurde mir freundlicherweise von Herrn Prof. Foissner überlassen. Die Zellen weisen eine mittlere Größe von 150 µm x 45 µm auf.

Die mittlere Größe der Zelle liegt bei 150 µm x 45 µm. Im Vergleich zu *Paramecium caudatum* ist die Zelle etwas gedrungener und posterior weniger zugespitzt. Neben dem in der Zellmitte lokalisierten ellipsoiden Macronucleus liegen 2 sehr kleine Micro-nuclei. Wie bei *Paramecium caudatum* liegen zwei kontraktile Vakuolen jeweils im anterioren und posterioren Zelldrittel. Die Bewimperung ist prinzipiell wie bei *Paramecium caudatum* angeordnet. *Paramecium aurelia* weist jedoch nur 90 bis 100 longitudinale Wimpernreihen auf. Der Oralapparat befindet sich ebenfalls etwas unterhalb der Zellmitte in der Medianen (Foissner et al., 1994).

Paramecium aurelia ist ein kosmopolitisch ganzjährig verbreitetes Ciliat. Es lebt überwiegend im Detritus, manchmal auch im Pelagial perenner, stehender Gewässern. In Fließgewässern zeigt sich eine geringere Abundanz im Vergleich zu *Paramecium caudatum*. Auch die Zellen des *Paramecium aurelia*-Komplexes bilden keine Cysten (Foissner et al., 1994).

Die Kultur wurde in konstanter Dunkelheit in einer Klimakammer bei etwa 19°C in 5 l-Plastikgefäßen in einem Strohaufguss (s. o.) gehalten. Die Kultur wurde etwa alle 30 Tage umgesetzt.

Paramecium caudatum und der *Paramecium aurelia*-Komplex gehören zu den am besten untersuchten Ciliaten.

2.2. Versuchsaufbau

2.2.1. Apparatur für Langzeit-Experimente und Photoreaktionen

Für alle Experimente wurde für alle Spezies der prinzipiell gleiche Kammertyp verwendet. Die Kammer besteht aus einer quadratischen Grundplatte aus Acrylglas (Abb. 2.6.).

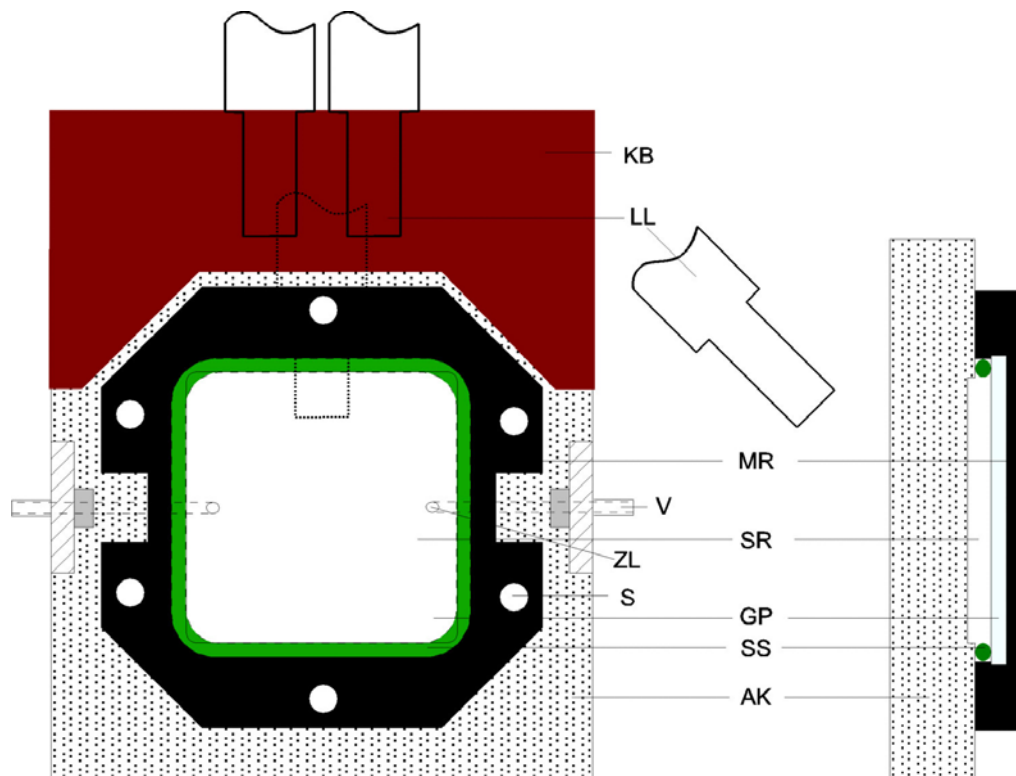


Abb. 2.6: Versuchskammer für die Experimente zur Lichtperzeption und für die Langzeit-Experimente. Aufsicht und Schnittzeichnung MR: Metallrahmen, S: Schraube, V: Ventil, AK: Acrylglaskörper, SS: Silikonschlauch, ZL: Zulauf, GP: Glasplatte, SR: Schwimmraum, KB: Kunststoffblock, LL: Lichtleiter.

Mittels eines Aluminiumrahmens werden eine Glasplatte und ein abdichtender ringförmiger Silikonschlauch auf der Grundplatte montiert. Da Silikon permeabel für Gase ist, kann von einer gleichmäßigen Sauerstoffkonzentration in der Versuchskammer ausgegangen werden. Die Zellen können durch zwei auf gegenüberliegenden Seiten befindli-

che, mit Ventilen verschließbare Zulaufkanäle in die Kammer überführt werden. Der leicht vertiefte Schwimmraum fasst ein Flüssigkeitsvolumen von etwa 7 ml.

Für die Verhaltensanalysen mit wechselnden Lichtbedingungen wurde die Kammer mit Hilfe von insgesamt 3 Glasfaserlichtleitern beleuchtet. Zwei wurden an einer Seite angebracht, um einen unidirektionalen Lichtgradienten zu gewährleisten. Um auch bei geringen Lichtintensitäten einen ausreichend guten Kontrast zu schaffen, wurde ein dritter Lichtleiter in einer – ebenfalls unidirektionalen - Dunkelfeldanordnung hinzugefügt. So konnte eine Digitalisierung der Zellen bei relativ geringen Lichtintensitäten gewährleistet werden. Abbildung 2.7. zeigt den Lichtgradienten innerhalb der Kammer (Beleuchtung 560 nm, Lichtintensität 3,5 mW/mm²). Die beiden inneren Quadrate repräsentieren den Bereich, in dem das Verhalten der Zellen aufgezeichnet wurde.

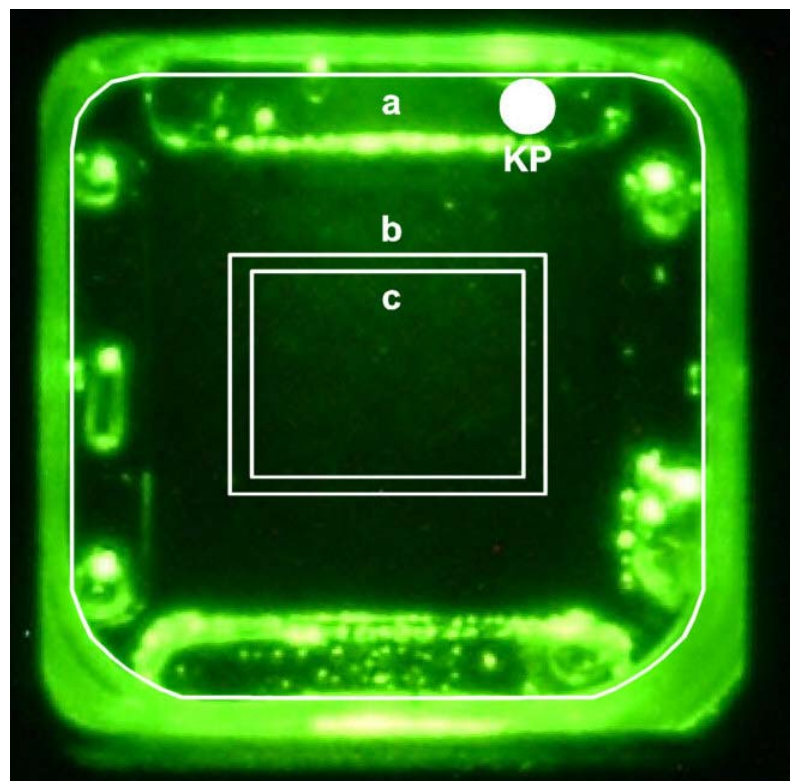


Abb. 2.7: Lichtgradient innerhalb der Versuchskammer (560 nm, 3,5 mW/mm²). a: Schwimmraum, b: Aufnahmebereich für *Ophryoglena flava*, c: Aufnahmebereich für *Didinium nasutum* und die Paramecien-Arten, KP: Stelle der Intensitätskalibrierung.

Die Zellen wurden mit Hilfe eines CCD-Camcorders (Nikon, VN-3200) mit Makrolinse (Hama M49 +10/50 mm) in einer waagrecht ausgerichteten Kammer gefilmt. Die exakt waagerechte Ausrichtung der Kammer wurde zu Beginn jedes Versuchs mittels einer runden Libelle überprüft. Mit Hilfe eines Präzisions-Linieninterferenzfilters (Schott, Spezialanfertigung) können aus dem Emissionsspektrum einer Halogenlampe Wellenlängenbereiche mit einer Bandbreite von ± 10 nm ausgefiltert werden. Drei Infrarotfilter

schützen das Linieninterferenzfilter vor zu großer Erwärmung. Da aufgrund des (nicht linearen) Emissionsspektrums der Halogenlampe die Lichtintensität einerseits von der Wellenlänge als auch von der angelegten Betriebsspannung abhängt, wurde die Lichtintensität der Apparatur mit Hilfe eines Thermoelementes (Laser components, Größen-zell) vermessen (Punkt der Messung: siehe KP in Abb. 2.7.). Aufgrund der so entstandenen Nomogramme wurde im Experiment die Betriebsspannung der Halogenlampe einreguliert.

Für die Ausleuchtung der Versuchskammer wurden in dieser Arbeit drei Lichtleiter eingesetzt, so dass in der Mitte des Schwimmraumes ein homogener Lichtgradient entstand.

Die Apparatur wurde automatisch durch ein Computerprogramm (Bräucker, Apparatur Eigenbau) gesteuert (Positionieren des Linieninterferenzfilters sowie das Anlegen der entsprechenden Lampenspannung im vorgegebenen zeitlichen Intervall). In den Abbildungen 2.8. und 2.9. wird der Versuchsaufbau dargestellt.

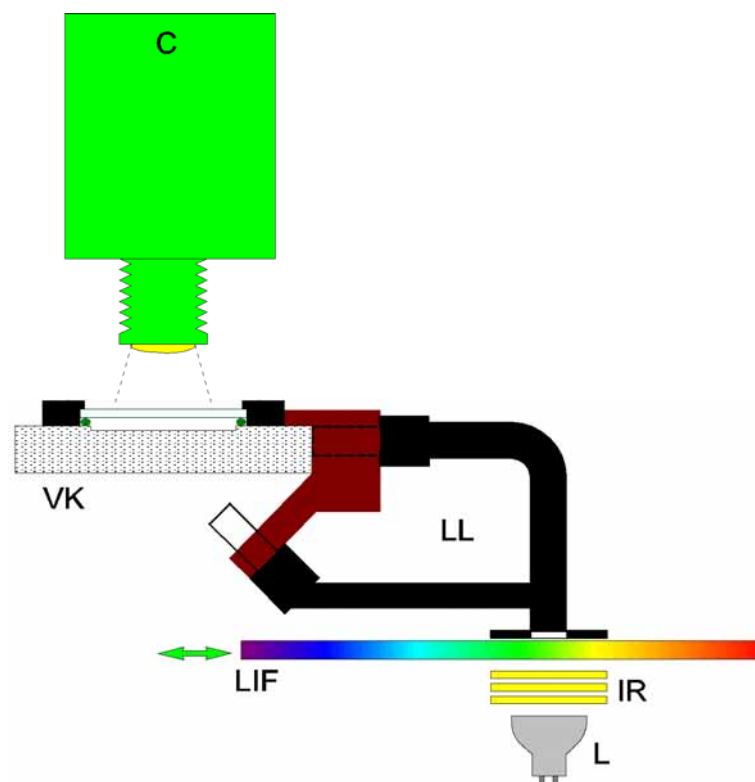


Abb. 2.8: Schemazeichnung der Apparatur zur Lichtapplikation. VK: Versuchskammer; LL: Lichtleiter; IR: Infrarotfilter; L: Lampe; LIF: Linieninterferenzfilter, C: Camcorder

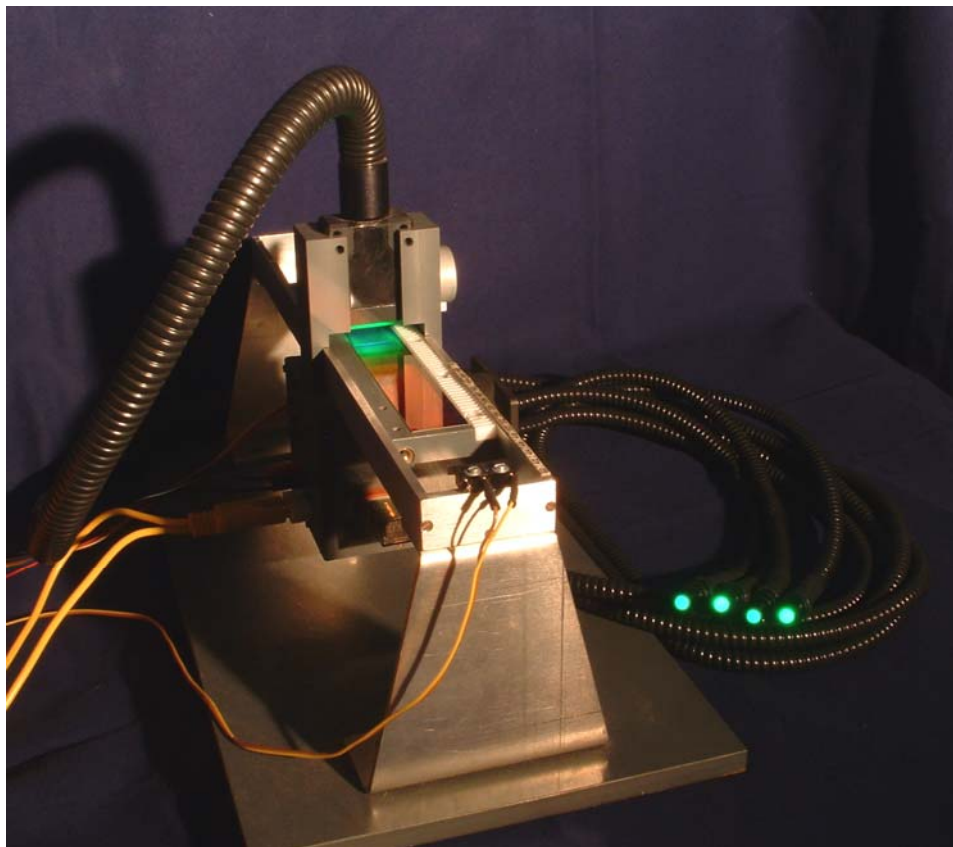
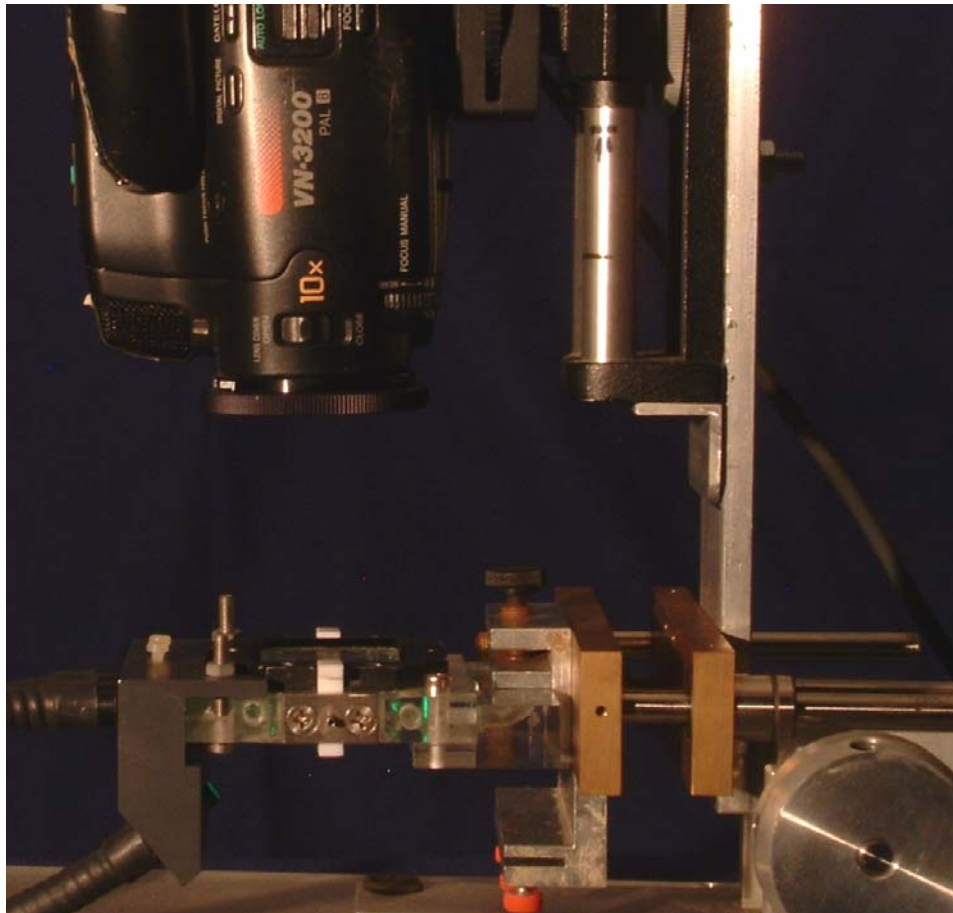


Abb. 2.9: Photo der Apparatur zur Lichtapplikation (oben) sowie des Linieninterferenzfilters mit angeschlossenen Lichtleitern (unten).

2.2.3. Parabelflugapparatur

Die Versuchskammern, die bei den Parabelflugexperimenten genutzt wurden, sind in Abbildung 2.10. gezeigt. Der Schwimmraum fasst ein Flüssigkeitsvolumen von etwa 5 ml. Die Kammer wurde durch einen Ring aus 48 LEDs (565 nm) in Dunkelfeldanordnung beleuchtet. Eine zusätzliche LED in der Mitte des Sichtfeldes diente zur Übermittlung eines Triggersignals, das eine Zuordnung von Schwimmspurabschnitt und Beschleunigungswerten sicherstellte.

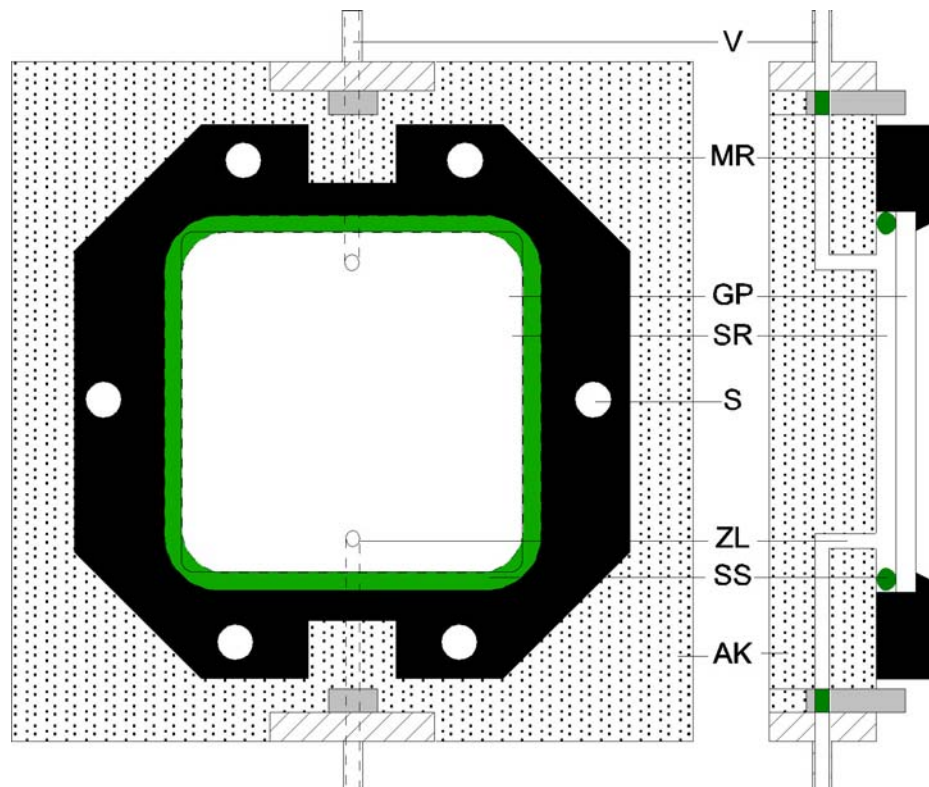


Abb. 2.10: Versuchskammer für die Experimente bei variablen Beschleunigungen. Aufsicht und Schnittzeichnung MR: Metallrahmen, S: Schraube, V: Ventil, AK: Acrylglaskörper, SS: Silikon-schlauch, ZL: Zulauf, GP: Glasplatte, SR: Schwimmraum

Für die Verhaltensanalysen unter variablen Schwerkraftbedingungen wurde eine Apparatur verwendet (Abb. 2.11.), welche bereits in der 6. Parabelflugkampagne des DLR 2003 eingesetzt wurde (Krause et al., 2006). Die beiden in das Rack integrierten MIKROBA-Module (Bräucker, 1994 a, b) wurden auch schon bei Experimentkampagnen im Fallturm in Bremen und bei Ballon-Experimenten (MIKROBA VI) in China verwendet. In jedem MIKROBA-Modul befanden sich 6 CCD-Camcorder (Nikon, VN 3200) welche mit Makrolinsen (Hama M49 +10/50 mm) ausgestattet sind. Vor jedem Camcorder war eine Versuchskammer montiert. Diese befanden sich in waagerechter Ausrichtung und wurden vor Beginn der ersten Parabel mittels eines Motors innerhalb einer Minute in die senkrechte Position gedreht.



Abb. 2.11: Parabelflugapparatur integriert in das Parabelflugzeug A300 0 g. TZ: Temperatur- und Zeitanzeige, C: Camcorder, SE: Steuerungseinheiten, MM: MIKROBA-Module, N: Netzteile

Der gesamte untere Teil des Racks wurde während der Aufnahmen seitlich und hinten durch schwarzen Stoff abgedunkelt. Ein weiterer Camcorder zeichnete die Experimentzeit, Temperaturdaten und Beschleunigungswerte (gemessen unmittelbar an der Apparatur) auf. Weitere, zeitlich hochaufgelöste Beschleunigungsdaten wurden vom Betreiber des Parabelflugzeuges (Novespace) zur Verfügung gestellt.

2.2.4. Apparatur zur Ausrichtungsbestimmung sedimentierender Zellen

Die Sedimentationsversuche wurden in einer abgeschnittenen Pasteur-Pipette mit einem Durchmesser von 6 mm durchgeführt. Die Pipette wurde mit Hilfe einer Dunkel-feldbeleuchtung aus 48 ringförmig angeordneten Leuchtdioden (565 nm) beleuchtet. Gefilmt wurde ebenfalls mit einem CCD-Camcorder (Nikon, VN-3200), welcher mit einem speziell angefertigten System aus zwei Vergrößerungslinsen ausgestattet war (Abb. 2.12.). So konnte ein Bildausschnitt von etwa 3 mm x 3 mm erreicht werden.



Abb. 2.12: Foto der Apparatur zur Aufnahme sedimentierender Zellen. Camcorder mit Makrolinsen ausgerichtet auf die Pasteurpipette welche durch einen Leuchtdiodenring in Dunkelfeldanordnung beleuchtet wird.

2.3. Versuchsdurchführung

2.3.1. Konzentrieren der Zellen

Die Ophryoglenen wurden durch exzentrische horizontale Schwingbewegungen in der Mitte der Petrischale konzentriert und mit einer Spritze aufgesaugt. Die Zellsuspension wurde dann langsam in die Versuchskammer überführt. Aus den Paramecien und Didinien Kulturen wurden mit Hilfe einer Pipette etwa 20 ml Kulturlösung in eine 100 ml Messflasche überführt und dieser dann mit Pringsheim-Lösung (siehe Tab. 2.2.) aufgefüllt. Durch ihr negativ gravitaktisches Verhalten sammelten sich die Zellen im oberen Bereich der Wassersäule, wo sie mit einer Spritze abgenommen werden konnten.

2.3.2. Langzeit-Experimente zum Verhalten der Zellen in den Versuchskammern

Alle von mir untersuchten Spezies wurden auf Verhaltensänderungen bei längerer Verweildauer in den Versuchskammern hin untersucht. Ziel dieser Experimentserien war es, ein optimales Zeitfenster für die folgenden verhaltensphysiologischen Experimentserien zu finden. Innerhalb dieses Zeitfensters sollten die Zellen nicht inaktivieren und die Schwimmgeschwindigkeit sollte nahezu konstant bleiben. Alle Experimente fanden in einer Klimakammer bei 20°C statt.

Beide Paramecien Arten wurden für 8 Stunden, *Didinium nasutum* für 4 Stunden in der waagrecht montierten Versuchskammer gehalten. Hell- und Dunkelphasen alternierten alle 3 Minuten. Es wurde Licht der Wellenlänge 560 nm mit einer Intensität von $2,6 \text{ mW/mm}^2$ in die Versuchskammer eingestrahlt.

Mit *Ophryoglena flava* wurde diese Experimentserie nicht durchgeführt, da die entsprechenden Verhaltensanalysen bereits aus meiner Diplomarbeit vorlagen. Nach einer 20 minütigen Equilibrierungszeit konnte das Verhalten von *Ophryoglena flava* etwa 90 Minuten lang beobachtet werden.

2.3.3. Experimente mit wechselnden Lichtreizen

Ziel der Experimente war es, das Verhalten sowohl auf verschiedene Farben des Lichtes als auch auf verschiedene Lichtintensitäten hin zu untersuchen. Bei der Definition der möglichen Kombinationen ergaben sich Unterschiede für die einzelnen Spezies. Nur mit *Ophryoglena flava* konnten das Verhalten bei den beiden Wellenlängen 440 nm und 660 nm untersucht werden. Bei den anderen Spezies war es trotz maximaler Lampenspannung (12 V) nicht möglich, ausreichenden Kontrast zu erreichen, so dass die Zellen von dem Spurverfolgungsprogramm (vgl. 2.4.) noch erkannt werden konnten.

Ähnliches gilt für die minimale Lichtintensität, die bei den einzelnen Wellenlängen und Spezies verwendet werden konnte. So war es bei *Ophryoglena flava* und bei *Didinium nasutum* möglich, die minimale Lichtintensität bis auf $0,2 \text{ mW/mm}^2$ zu reduzieren. Bei den Paramecien Arten war es bei dieser geringen Helligkeit nicht möglich, ausreichenden Kontrast für die weitere Auswertung zu erhalten. Hierin begründet sich die unterschiedliche Anzahl an analysierten Wellenlänge-Lichtintensitätskombinationen für die verschiedenen Spezies. Eine Aufstellung findet sich in Tabelle 2.3.

Tabelle 2.3. gibt die Dauer der Equilibrierungszeit, die Experimentierzeit sowie die Anzahl der Belichtungszyklen an, in denen aufgrund der in 3.2. beschriebenen Vorexperimente jeweils gearbeitet werden konnte.

Während der Equilibrierungszeit befanden sich die Zellen bei Dunkelheit in der waagrecht montierten Versuchskammer. Anschließend wurde während jeweils 3 Minuten dauernder Belichtungsintervalle das Verhalten der Zellen aufgezeichnet. Nach jeder Lichtphase folgte eine 3 Minuten andauernde Dunkelphase, während der sich die Zellen wieder zufällig in der Kammer verteilen konnten. Ferner können während dieser Zeit etwa auftretende Photoreaktionen der Zellen wieder abklingen, das Membranruhepotential kann sich wieder einstellen.

Tab. 2.3: Equilibrierungs- und Experimentierzeiten sowie die Anzahl der Hell- Dunkelzyklen und der untersuchten Wellenlängen- Lichtintensitätskombinationen der einzelnen Spezies.

Art	Equilibrierungszeit [min]	Experimentierzeit [min]	Belichtungszyklen	Anzahl der Kombinationen
<i>Ophryoglena flava</i>	20	90	15	69
<i>Paramecium aurelia</i>	240	180	30	46
<i>Paramecium caudatum</i>	100	240	40	46
<i>Didinium nasutum</i>	40	120	20	64

Die Kombinationen aus Wellenlänge und Lichtintensität wurde während der Experimentierzeiten in pseudorandomisierter Reihenfolge angeordnet.

2.3.4. Experimente bei variablen Beschleunigungen

Durch die Teilnahme an den DLR Parabelflügen 2004 und 2007 war es mir möglich, die vier Ciliatenspezies bei variablen Beschleunigungen zu untersuchen. Abbildung 2.13. zeigt das typische Flugprofil eines Parabelmanövers.

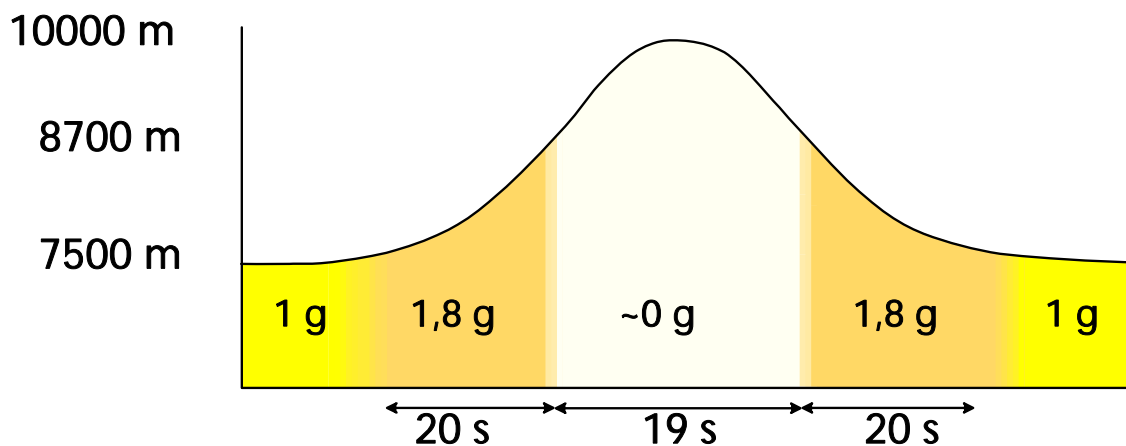


Abb. 2.13: Flugprofil eines Parabelmanövers. Aufgetragen ist die Flughöhe gegen den zeitlichen Verlauf. Während des Parabelmanövers wechseln Beschleunigungen zwischen 1 g, 1,8 g und Gewichtlosigkeit (μg). Die unterschiedlichen Beschleunigungen sind durch Farbverläufe angedeutet.

Mit beginnendem Steigflug erhöht sich die resultierende Beschleunigung bis auf etwa 1,8 g. Am Wendepunkt des aufsteigenden Astes des Parabelmanövers wird der Schub soweit reduziert, dass gerade noch die Luftreibung überwunden wird. Ab diesem Zeitpunkt befindet sich alles im Parabelflugzeug im freien Fall – im Zustand der Gewichtlosigkeit (μg). Am Wendepunkt des absteigenden Astes der Flugbahn wird das Flugzeug durch eine Schuberhöhung wieder abgefangen. So kommt es hier zu einem

Beschleunigungsübergang von μg nach hyper-g bis wieder zu 1 g. Die Phase der Gewichtlosigkeit dauert im Mittel 19 s.

Dieser stufenlose Übergang von μg nach hyper-g bietet die technische Möglichkeit, die Schwelle der Graviperzeption zu bestimmen. Wie viel Kraft muss das Cytoplasma auf die somatische Zellmembran ausüben, damit mechanosensitive (gravisensitive) Ionenkanäle aktiviert werden?

Aus den während der Flüge durch die Firma NOVESPACE aufgezeichneten Beschleunigungswerten wurden mittlere Beschleunigungsprofile für die Parabeln der jeweiligen Kampagne berechnet (Abb. 2.14.). Der Verlauf der Beschleunigungen während der Flugmanöver ist nicht bei allen Parabeln identisch. Es gibt zeitliche Variationen der einzelnen Beschleunigungsphasen. Mit Hilfe einer im Sichtfeld integrierten LED konnten die einzelnen Flugmanöver zeitlich synchronisiert werden. Die Zeitachsen der einzelnen Flugmanöver wurden so verschoben, dass das Ende der μg -Phasen auf den Zeitpunkt 0 fällt. In den folgenden Grafiken zeigt die Farbe des Hintergrundes die zum jeweiligen Zeitpunkt wirksame Beschleunigung an (dunkel: 1,8 g; weiß: μg).

Der zeitliche Ablauf der Flugtage lässt sich nicht bis ins Detail planen. Daher war es nicht möglich, die optimalen Zeitfenster für die jeweilige Spezies exakt einzuhalten. Ebenso variierte die Temperatur im Airbus zwischen 20,5°C und 23°C. Die Zellen wurden etwa 2 Stunden vor Flugbeginn, d. h. ca. 2,5 Stunden vor der ersten Parabel, in die Versuchskammern gefüllt. Die eigentlichen Parabelserien (6 x 5 Parabeln pro Flugtag) dauerten etwa 2 Stunden.

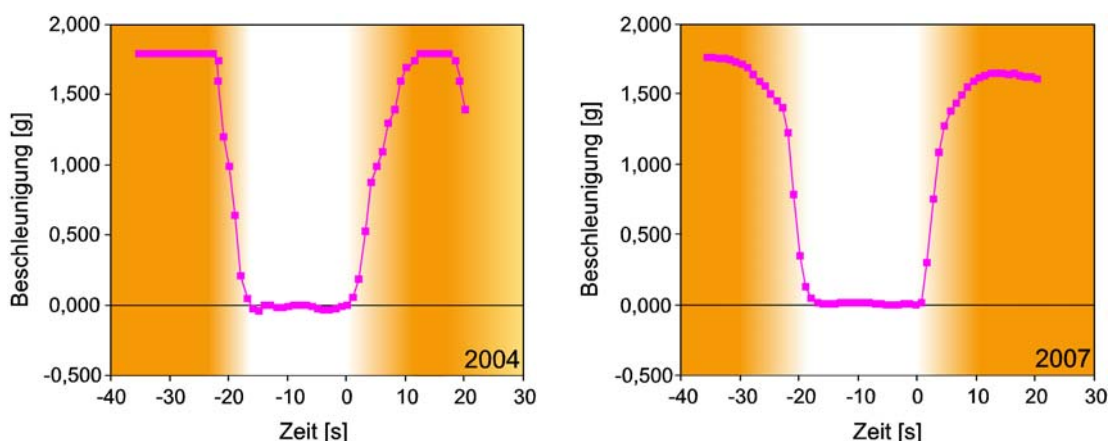


Abb. 2.14: Mittlere Beschleunigungsprofile aller Parabeln während der DLR Parabelflugkampagnen 2004 und 2007. Die Farbe des Hintergrundes zeigt die zum jeweiligen Zeitpunkt wirksame Beschleunigung an.

Mit den Richtungsbezeichnungen in den Schwerelosigkeitsphasen (μg) entsteht ein semantisches Problem. Da in Schwerelosigkeit „oben“, „unten“ und „horizontal“ nicht definiert sind, verwende ich in dieser Arbeit oben*, unten* bzw. horizontal* als Bezug zur Richtung der vor oder nach μg wirkenden Beschleunigungen.

2.3.5. Sedimentationsexperimente zur Bestimmung der Zell- ausrichtung bei *Ophryoglena flava*

Es wurden pro Experiment etwa 10 Ophryoglenen im Theronten – Stadium aus der Kulturschale in ein Blockschälchen überführt und mit NiCl_2 versetzt (Endkonzentration 1,8 mM Ni^{2+}). Nach ca. 3 Minuten waren die Zellen immobilisiert. Dieselbe Ni^{2+} -Konzentration wurde bei der Bestimmung der Sedimentationsgeschwindigkeit von *Ophryoglena flava* in den Experimenten zu meiner Diplomarbeit genutzt. Die Zell- NiCl_2 Suspension wurde mit einer abgeschmolzenen Pasteurpipette aufgesaugt. Beiden Öffnungen wurden mit Bienenwachs versiegelt. Die Pasteurpipette wurde senkrecht vor dem Camcorder platziert und die sedimentierenden Zellen bei starker Vergrößerung gefilmt. Dabei wurde auf den unteren Teil der Pipette fokussiert, um ein etwaiges Drehen der Zellen aufgrund eines Bojenefektes abzuwarten. Aus dem Filmmaterial wurden anschließend mittels spezieller Software (MedeaLab, siehe 2.4.1.) einzelne Bilder aufgenommen. Mit weiteren Analyseprogrammen konnte dann die Ausrichtung einzelner Zellen während der Sedimentation bestimmt werden. Da es sich bei *Ophryoglena flava* um ein tropfenförmiges Ciliat handelt, kann der orale vom aboralen Pol deutlich unterschieden werden. Das Programm ermittelt die Längsachse der Zelle als die größte Strecke zwischen zwei Umrisspunkten. Die rechtwinklig zur Längsachse gesuchte maximale Querachse schneidet die Längsachse im geometrischen Schwerpunkt der Zelle, der bei *Ophryoglena flava* eindeutig näher am oralen Pol liegt. So konnte die Ausrichtung der Zelle bestimmt werden.

2.4. Auswertung der Videoaufzeichnungen schwimmender Zellen

Die mit den Camcordern aufgezeichneten Daten wurden computerunterstützt ausgewertet und statistisch bearbeitet. Die hierfür verwendeten Programme wurden größtenteils von Herrn Dr. Bräucker programmiert und mir freundlicherweise zur Verfügung gestellt (s. auch Bräucker et al., 1992).

2.4.1. Digitalisieren der Videoaufzeichnung

Mittels eines kommerziellen Programms MedeaLab (Medea AV GmbH) wurden die aufgezeichneten Videobilder mit Hilfe einer speziellen Videokarte (Matrox Meteor II)

digitalisiert. Nach Hintergrundabgleich und Objekterkennung (aufgrund von Größe und Form) wurden durch das Rechnerprogramm zeitabhängige x-y Koordinaten einzelner Zellen bestimmt und abgespeichert. Die zeitliche Auflösung lag bei 0,08 s und die räumliche Auflösung im Mittel bei 30 μm pro Pixel. Die Koordinaten wurden zu Schwimmspuren einzelner Zellen zusammengesetzt.

Da bei den Versuchen zur Lichtperzeption mit einer computergesteuerten Apparatur gearbeitet wurde, konnte die Digitalisierung ebenfalls computergesteuert ablaufen. Das hierfür nötige Steuerfile enthielt Angaben über die Wellenlänge-Lichtintensitätskombination sowie für den helligkeitsabhängigen Kontrastwert für das Digitalisierungsprogramm.

Die Digitalisierung der Parabelflugdaten erfolgte dagegen mit manueller Steuerung. Durch Einspielen eines Triggersignals (LED im Sichtfeld der Kammer) konnte eine zeitliche und damit beschleunigungsabhängige Synchronisation der einzelnen Parabeln gewährleistet werden.

Mittels eines auf den Monitor geklebten Photowiderstands wurde das eingespielte Triggersignal genutzt, um den Digitalisierungsvorgang zu starten. So können die einzelnen Schwimmspurabschnitte exakt einer Beschleunigung zugeordnet werden.

Aufgrund der Bauform der verwendeten Camcorder sind leichte Variationen des Vergrößerungsfaktors möglich. Daher wurde zu Beginn eines jeden Experimentes ein in eine Versuchskammer geklebttes Millimeterpapier gefilmt. So konnte die Größe eines Pixels in μm zur Berechnung der Schwimmggeschwindigkeiten bestimmt werden.

2.4.2. Bestimmung der Schwimmspurparameter

Die von MedeaLab generierten digitalen Schwimmspuren wurden anschließend mit dem Programm fow-ana weiter analysiert und ggf. korrigiert. Mit Hilfe des jeweiligen Kalibrierungsfaktors wurde die mittlere Geschwindigkeit einer jeden Spur berechnet. Zusätzlich wird die mittlere Richtung der Schwimmspur in Winkelgrad bestimmt.

Es muss sichergestellt sein, dass eine digitale Schwimmspur einer individuellen Zelle zugeordnet werden kann. Das Programm untersucht daher die gespeicherten Spuren auf Winkeländerungen zwischen den Teilspurabschnitten und auf Schwimmgeschwindigkeitsvarianzen. Wenn diese Werte vorher festgelegte, spezies-spezifische Grenzwerte überschreiten, wird die Schwimmspur an dieser Stelle abgeschnitten. Der Rest der Spur kann ggf. einer anderen Zelle zugeordnet werden. In Abbildung 2.15. werden Beispiele typischer Schwimmspuren gezeigt, die exakt einer Zelle zugeordnet werden können.

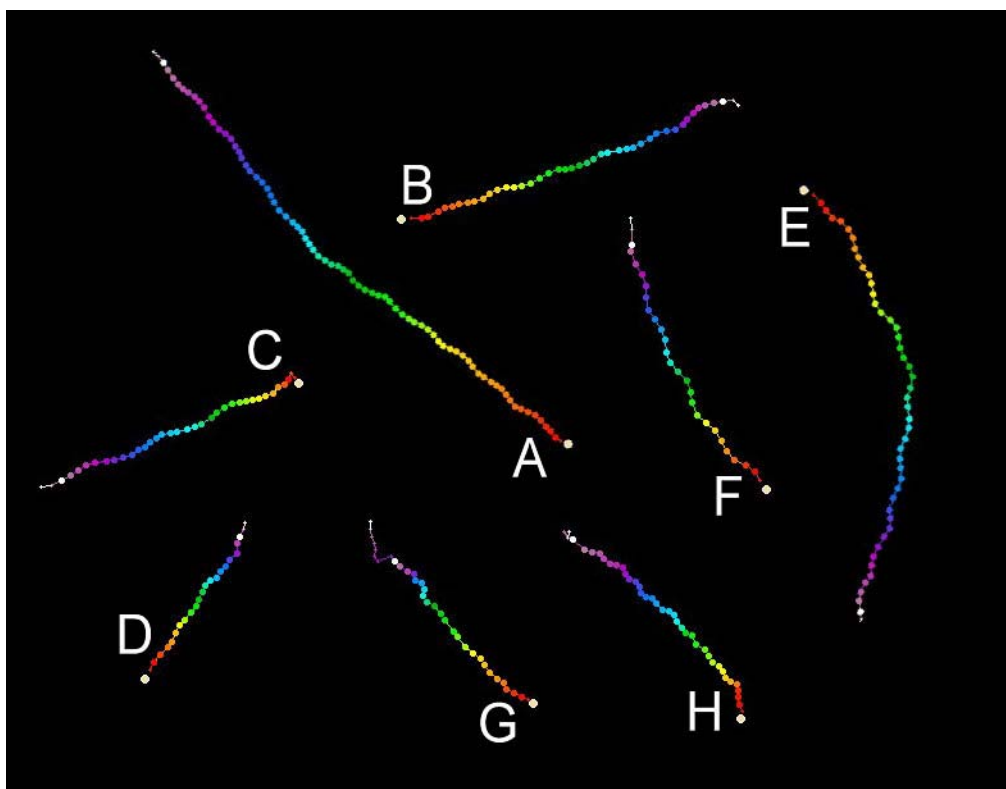


Abb. 2.15: Schwimmspuren einzelner Zellen der verschiedenen Spezies. *Paramecium caudatum*: A) 9270 μm , B) 5576 μm ; *Paramecium aurelia*: C) 4359 μm , D) 2713 μm ; *Didinium nasutum*: E) 7517 μm , F) 4685 μm ; *Ophryoglena flava*: G) 5501 μm , H) 7203 μm

2.5. Statistik

2.5.1. Zusammenfassen der Daten

Die Daten, welche unter denselben Versuchsparametern bestimmt wurden, wurden jeweils in einem Datensatz vereinigt. Bei den Versuchen zur Photoperzeption bedeutet dies, dass jeweils alle Wellenlänge-Lichtintensitätskombinationen zusammengefasst wurden. Bei der späteren Analyse wurde dann nur noch wellenlängenabhängig vereinigt.

Die bei den Parabelflügen gewonnenen Schwimmspuren wurden, nachdem sie mit Hilfe des Programms „fow-ana“ (Bräucker) analysiert wurden, in 1,5 Sekunden dauernde Teilstücke geschnitten. So lassen sich die Schwimmgeschwindigkeiten und Orientierungen direkt einer Beschleunigung zuordnen. Alle Teilspuren einer Spezies wurden beschleunigungsabhängig zusammengefasst.

Die Berechnung von Medianen und Streuungsmaßen aus zusammengefassten Daten ist nur zulässig, wenn die Daten einer gemeinsamen, homogenen Grundgesamtheit entstammen. Dies wurde anhand von Klassenhäufigkeitshistogrammen der Schwimmgeschwindigkeiten beurteilt.

Zur Analyse des reizrichtungsbezogenen Verhaltens wurden die Daten in Winkelklassen unterteilt. Aufgrund der Datenlage werden in der vorliegenden Arbeit Klassenbreiten von 90° gewählt. Wie in der Literatur üblich, wurde für die schwerkraftbezogenen Experimente die Richtung zum Erdmittelpunkt mit 180° definiert. Bei den Experimenten mit Lichtgradienten wurde die Lichtrichtung mit 0° festgelegt.

2.5.3. Statistische Tests

Da nicht von einer Normalverteilung der Geschwindigkeitsdaten ausgegangen werden kann, wurden Methoden der nichtparametrischen Statistik angewandt (Sachs, 1984). Es wurden Mediane mit ihren 95%-Konfidenzbereichen berechnet. Die so erhaltenen medianen richtungsabhängigen Schwimmgeschwindigkeiten gingen in die Berechnung der kinetischen Komponente der Taxien ein. Als statistisches Testverfahren wurde der U-Test nach Mann-Whitney eingesetzt (Sachs, 1984). Die Signifikanzschwelle wurde bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit (die Wahrscheinlichkeit der ungerechtfertigten Ablehnung der Nullhypothese) von $p \leq 0,05$ festgelegt.

Die Schwimmgeschwindigkeiten der nach oben/unten (oben*/unten*) schwimmenden Zellen während der Parabelmanöver wurde mittels des U-Tests auf Unterschiede geprüft. Dazu wurde die beschleunigungsabhängige Sedimentationsgeschwindigkeit zu

den individuellen Schwimgeschwindigkeiten der nach oben schwimmenden Zellen addiert und von den Geschwindigkeiten nach unten schwimmender Zellen subtrahiert.

Orientierungen wurden mit Hilfe des Rayleigh-Tests (Batschelet, 1981) auf Signifikanz geprüft.

Zur Analyse der Korrelationen von Messgrößen, wurden mit Hilfe des t-Tests nach Student die Abweichung des Regressionskoeffizienten von 0 geprüft (Sachs, 1984). So wurde zum Beispiel die Abhängigkeit der richtungsbezogenen Schwimgeschwindigkeiten von der applizierten Lichtintensität getestet (3.4.).

2.5.5. Berechnung von Orientierungskoeffizienten

Der Richtungskoeffizient r (Batschelet, 1981) und der mittlere Orientierungswinkel Φ definieren den resultierenden, mittleren Richtungsvektor einer Zellpopulation. Damit ist r ein Maß für die Gerichtetheit einer Population und kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen. Die mittleren Koordinaten \bar{x} und \bar{y} werden über den Bezug der individuellen Schwimrichtungen zum Ursprung des Koordinatensystems bestimmt:

Gleichung 2.1. und 2.2:
$$\bar{x} = \frac{\sum (\cos \beta_i)}{n} \qquad \bar{y} = \frac{\sum (\sin \beta_i)}{n}$$

n = Anzahl der Spuren

β_i = individuelle Schwimrichtung einer Zelle

Nach Pythagoras folgt

Gleichung 2.3:
$$r = \sqrt{\bar{x}^2 + \bar{y}^2}$$

Im Gegensatz zum Richtungskoeffizienten r berücksichtigt der Orientierungskoeffizient r_o die Orientierung einer Population in Bezug auf die Richtung eines Reizes (Machemer et al., 1991). Berechnet wird er durch die Multiplikation von r mit dem Cosinus des mittleren Orientierungswinkels Φ . (Dabei wird vorausgesetzt, dass dem Reiz die Richtung 0° zugeordnet ist.)

Für die Berechnung des mittleren Winkels Φ aus \bar{x} und \bar{y} sind die folgenden Fälle zu unterscheiden:

Gleichung 2.4:

$$\text{wenn } \bar{x} > 0: \Phi = \arctan(\bar{y}/\bar{x})$$

$$\text{wenn } \bar{x} < 0: \Phi = 180^\circ + \arctan(\bar{y}/\bar{x})$$

$$\text{wenn } \bar{x} = 0:$$

$$\text{wenn } \bar{y} > 0: \Phi \equiv 90^\circ$$

$$\text{wenn } \bar{y} = 0: \Phi \equiv \text{nicht definiert}$$

$$\text{wenn } \bar{y} < 0: \Phi \equiv 270^\circ$$

Gleichung 2.5:
$$r_o = r \cdot \cos \Phi$$

Der Orientierungskoeffizient kann Werte zwischen 1 und -1 annehmen. $r_o = 0$ impliziert eine gleichmäßige Orientierung der Individuen in alle Raumrichtungen, oder alle Zellen orientieren sich rechtwinklig zu der Reizquelle. Bei den Versuchen zur Lichtperzeption zeigt ein r_o von 1, dass sich alle Zellen auf die Lichtquelle zu bewegen; -1 impliziert, dass alle Zellen antiparallel orientiert sind. Da konventionsgemäß die Richtung des Schwerkraftvektors mit der 0° - 180° Achse korreliert ist ($0^\circ = \text{oben}$), impliziert dagegen bei den Experimenten mit variabler Beschleunigung $r_o = 1$, dass alle Zellen entgegen der Schwerkraft nach oben schwimmen.

2.5.6. Bestimmung der Ausrichtung der Zelle aus den Schwimmspurdaten

Durch die Wirkung der Sedimentation stimmt die Ausrichtung der Zelllängsachse („cell orientation“) nicht zwangsläufig mit dem Richtungswinkel der individuellen Schwimmspur β_i („track orientation“) überein (Machemer et al., 1997). Da die Sedimentationsgeschwindigkeit mit der Beschleunigung wächst, muss dieser Unterschied vor allem bei erhöhten Beschleunigungen beachtet werden.

Der individuelle Orientierungswinkel β_i der Schwimmspur wird um den Betrag σ korrigiert. Der Korrekturfaktor σ wird bei aufwärts schwimmenden Zellen von β_i subtrahiert und bei abwärts schwimmenden Zellen addiert. Der daraus resultierende Winkel α beschreibt die Orientierung der Zelllängsachse. Der Zusammenhang ist in Abbildung 2.16. dargestellt.

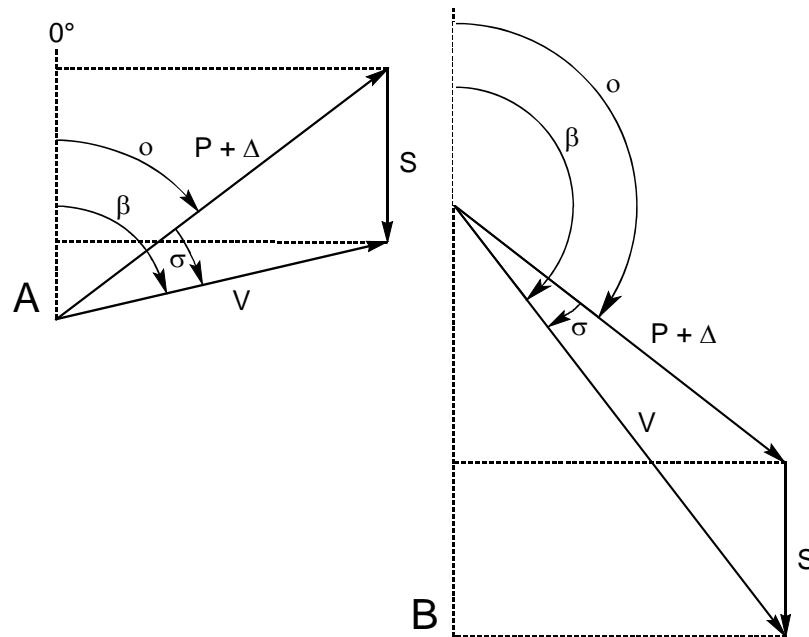


Abb. 2.16: Zusammenhang zwischen track-orientation und cell-orientation (nach Machemer et al., 1997, verändert). β : individueller Orientierungswinkel, σ : Winkeldifferenz zwischen cell- und track-orientation, α : Orientierung der Zelllängsachse, S: Sedimentationsgeschwindigkeit, P: Vortriebsgeschwindigkeit, V: gemessene Geschwindigkeit, Δ : Gravikinese.

Gleichung 2.6:

$$\sigma = \arctan \frac{V_{\text{Sed}} \sin \beta_i}{V_{\text{Sed}} \cos \beta_i + V_i}$$

- V_{Sed} = Sedimentationsgeschwindigkeit
- β_i = individueller Richtungswinkel einer Zelle
- V_i = individuelle Schwimmgeschwindigkeit einer Zelle
- σ = Korrekturwert

Die Winkeldifferenz σ ist umso größer, je größer die Sedimentationsgeschwindigkeit ist (Machemer et al., 1997). Mit den entsprechend korrigierten individuellen Winkeldaten wird, wie oben beschrieben, der „cell orientation coefficient“ (r_{OC}) berechnet. Alle Orientierungskoeffizienten, die in der Arbeit verwendet werden, beziehen sich auf die Zelllängsachsen. In den Graphen der Zellorientierungen ist der r_{OC} dargestellt.

2.5.7. Berechnung der Kinesen

Die Berechnung der Gravikinese ist im Einleitungsteil unter 1.4.3. ausführlich beschrieben. Da die Sedimentationsgeschwindigkeit im linearen Zusammenhang mit der Beschleunigung steht (Nagel et al., 1997), kann sie durch Interpolation aus der Geradengleichung ermittelt werden; entsprechend wurde für die Berechnung von Gravikinesen bei den Experimenten mit variablen Beschleunigungen verfahren.

Die Berechnung einer lichtrichtungsabhängigen Photokinese wird hier analog zur Gravikinese durchgeführt. V_L^+ steht dabei für die Geschwindigkeiten von zum Licht hin

schwimmender und V_L^- für die vom Licht weg schwimmender Zellen. Hierbei bleibt die Sedimentationsgeschwindigkeit wegen der waagerechten Kammerposition unberücksichtigt (Bechert, 2004).

Gleichung 2.7:
$$\Delta_L = \frac{V_{L^+} - V_{L^-}}{2}$$

Zur Bestimmung der winkelsektorenabhängigen Photokinesen werden die Schwimmgeschwindigkeiten der Zellen in 15°-Sektoren sortiert und jeweils die Schwimmgeschwindigkeiten der gegenüberliegenden Sektoren miteinander verrechnet.

3. Ergebnisse

3.1. Datenzahlen

Verhaltensphysiologische Experimente benötigen zur statistischen Absicherung hohe Datenzahlen. Für die vorliegende Arbeit wurden insgesamt etwa 2.170.000 Schwimmspurdaten in die Auswertung einbezogen. Die Anteile der Daten für die einzelnen Versuchsreihen wird in Abbildung 3.1. gezeigt.

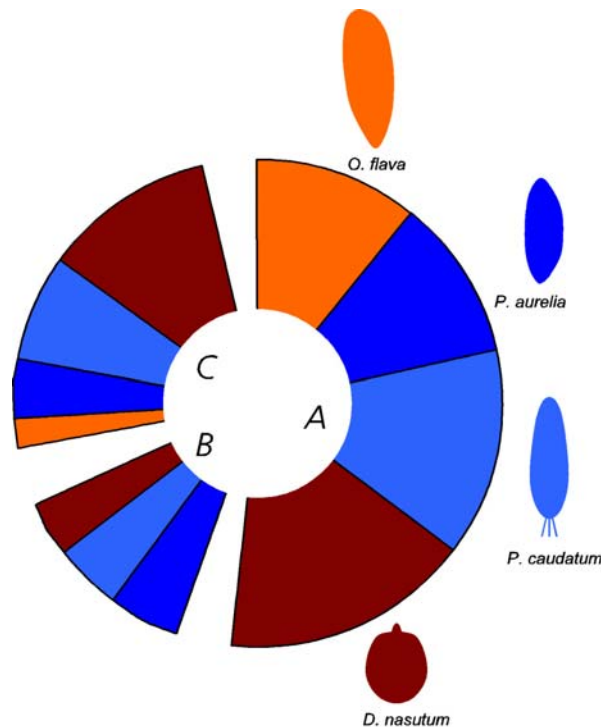


Abb. 3.1: Datenzahlen der einzelnen Versuchsreihen. Die Gesamtdatenzahl beträgt $n=2.171.394$ vermessene Schwimmspuren. Die Farbcodes und „Icons“ der einzelnen Spezies werden durchgängig in dieser Arbeit verwendet. A: Datenzahlen der Photoperzeptionsexperimente; B: Datenzahlen der Langzeitversuche; C: Datenzahlen der Parabelflugexperimente. Nicht gezeigt sind $n=133$ Daten bei den Experimenten zur Zellausrichtung im Schwerfeld bei *Ophryoglena flava*.

3.2. Langzeitexperimente

Mit allen von mir untersuchten Spezies wurden Langzeitexperimente durchgeführt. Ziel dieser Experimentserien war es, das optimale Zeitfenster für die nachfolgenden Versuchsserien zu bestimmen. Alle Experimente wurden in einer horizontal orientierten Versuchskammer durchgeführt. In jeweils dreiminütigen Intervallen wurde die Versuchskammer mit unidirektionaler Beleuchtung (560 nm ; $2,9\text{ mW/mm}^2$) beleuchtet, worauf dann eine Dunkelphase folgte. Bei *Didinium nasutum* betrug die Aufzeichnungszeit 4 Stunden, bei *Paramecium aurelia* und *Paramecium caudatum* 8 Stunden.

Abbildung 3.2. zeigt die richtungsunabhängigen medianen Schwimmgeschwindigkeiten als Funktion der Aufenthaltsdauer in der Versuchskammer.

Bei *Ophryoglena flava* wurde das von mir in der Diplomarbeit ermittelte Zeitfenster genutzt. Hierbei waren die Verhaltensaufzeichnungen bei alternierend waagerechter und senkrechter Kammerstellung vorgenommen worden. In Abbildung 3.2. wurden jedoch nur die bei waagerechter Versuchsanordnung gemessenen Datenpunkte übernommen. Nach etwa 20 Minuten schwammen die Zellen mit einer konstanten Schwimmgeschwindigkeit, was auf ein konstantes Membranpotential hinweist. Nach etwa 120 Minuten Verweildauer in der Versuchskammer begannen einige Zellen bereits zu inaktivieren. Sie kugelten sich ab, ließen sich zu Boden sinken und zeigten keine Fortbewegung mehr. Daher wurde die Gesamtdauer der Experimente auf 110 Minuten festgelegt. So konnten pro Versuch 15 Belichtungsphasen (Beleuchtung mit Licht einer definierten Wellenlänge-Lichtintensitätskombination) abwechselnd mit einer Dunkelphase aufgezeichnet werden.

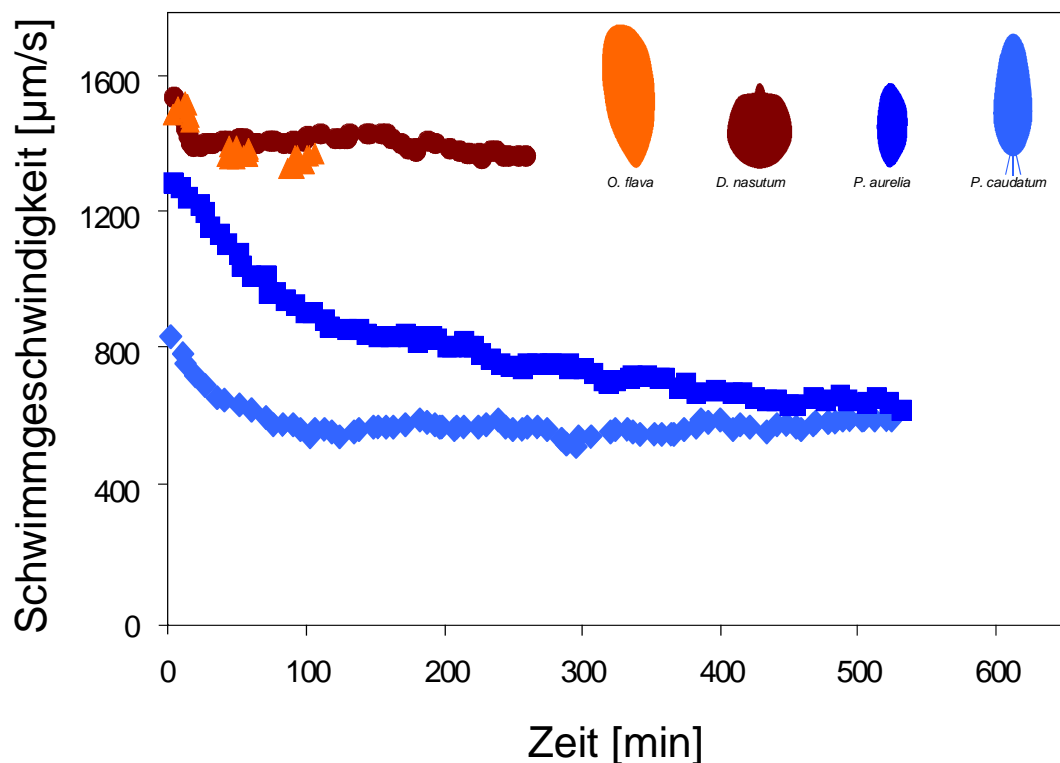


Abb. 3.2: Mediane Schwimmgeschwindigkeiten verschiedener Ciliatenpopulationen in Abhängigkeit von der Aufenthaltsdauer in der Versuchskammer. Mittlere Datenzahlen für jeden Datenpunkt: *Ophryoglena flava*: 2.824 *Paramecium aurelia*: 1.406; *Didinium nasutum*: 1.594; *Paramecium caudatum*: 1.385.

Paramecium aurelia brauchte am längsten, um eine konstante mediane Schwimmgeschwindigkeit zu erreichen; die Equilibrierungszeit betrug hier 4 Stunden. Anschließend

konnte für 3 Stunden (30 Belichtungsphasen) das Verhalten der Zellen analysiert werden.

Die längste Experimentierzeit war mit *Paramecium caudatum* möglich. Diese Zellen schwammen nach etwa 100 Minuten mit einer konstanten Schwimgeschwindigkeit. Nach dieser Equilibrierungszeit konnte für 4 Stunden (40 Belichtungsphasen) mit den Zellen gearbeitet werden.

Didinium nasutum konnte, ähnlich wie *Ophryoglena flava*, nicht so lange in der Versuchskammer gehalten werden. Bei dieser Art stellt sich nach 40 Minuten eine konstante Schwimgeschwindigkeit ein, aber schon nach etwa 200 Minuten begannen die ersten Zellen zu inaktivieren. Um soweit wie möglich unbeeinflusste Ergebnisse zu erhalten, wurde die Experimentierzeit gekürzt. So konnten 20 Belichtungsphasen (insgesamt 120 Minuten) aufgezeichnet werden.

Die beschriebenen Zeiten sind in Tabelle 2.3. zusammengestellt.

Bei den Parabelflugexperimenten konnten diese Zeiten dagegen nicht genau eingehalten werden. Einerseits waren der Start der Maschine und das Erreichen des Fluggebietes, in dem die Parabeln geflogen wurden, nicht genau vorherzusagen. Andererseits war die Dauer der Pausen zwischen den einzelnen Parabeln nicht konstant. So waren die Zellen zum Teil lange in der Versuchskammer, was gerade für *Ophryoglena flava* ein Problem darstellte; näheres bei der Analyse der Daten und Datenzahlen 4.3.1.

3.3. Verhalten der Zellen bei verschiedenen Lichtbedingungen

Das Verhalten der 4 Ciliatenspezies (Änderungen der reizrichtungsabhängigen Schwimgeschwindigkeiten und Orientierungen) auf verschiedene Lichtreize wurde untersucht. Dazu wurde Licht verschiedener Wellenlängen und Lichtintensitäten in pseudorandomisierter Reihenfolge unidirektional in die Versuchskammer eingestrahlt.

Eine Anzahl der insgesamt benutzten verschiedenen Wellenlänge-Intensitäts-Kombinationen findet sich in Tabelle 2.3. Da Ophryoglenen lichtdichter als Paramecien und Didinien sind und daher einen besseren Kontrast bei der Digitalisierung ergeben, konnte hier mit Licht in zwei zusätzlichen Wellenlängenbereichen (440 nm, 640 nm) gearbeitet werden. Außerdem konnte die minimale Lichtintensität verringert werden.

Zur Auswertung wurden für die einzelnen Spezies die bei gleicher Wellenlänge und Lichtintensität erhobenen Daten zusammengefasst. Da die vereinigten Daten über einen längeren Zeitraum (jeweils etwa 3 Monate) bei unterschiedlichen Individuen

erhoben worden sind, wurde die Homogenität der so entstandenen Datensätze anhand von Klassenhäufigkeitsverteilungen der Schwimmgeschwindigkeiten überprüft.

Aus den zusammengefassten Daten wurden die Aktionsspektren der Zellorientierung, die richtungsabhängigen Schwimmgeschwindigkeiten sowie der Photokinese berechnet.

Für die folgenden Abbildungen wurden aus den insgesamt untersuchten Kombinationen von Reizparametern (s. Tabelle 2.3.) die in Tabelle 3.1. aufgeführten exemplarisch ausgesucht.

Tab. 3.1: Übersicht über die für die folgenden Abbildungen ausgewählten Kombinationen von Reizparametern

<i>Ophryoglena flava</i>		<i>Didinium nasutum</i>	
Wellenlänge [nm]	Lichtintensität [mW/mm ²]	Wellenlänge [nm]	Lichtintensität [mW/mm ²]
480	1,7	480	1,23
520	0,7	500	0,85
560	0,72	540	1,3
600	1,72	600	0,75
<i>Paramecium aurelia</i>		<i>Paramecium caudatum</i>	
Wellenlänge [nm]	Lichtintensität [mW/mm ²]	Wellenlänge [nm]	Lichtintensität [mW/mm ²]
500	1,2	500	0,21
520	1,7	540	1,3
540	3,75	560	2,9
600	1,3	600	2,6

3.3.1. Klassenhäufigkeitsverteilungen der Schwimmgeschwindigkeiten

Jeder Datensatz, der im Verlaufe der Auswertung analysiert wird, besteht aus zusammengefassten Einzeldaten. Um die Homogenität dieser Datensätze zu überprüfen, wurden Klassenhäufigkeitsdiagramme der Schwimmgeschwindigkeiten erstellt. Abbildung 3.3. zeigt exemplarisch ein Klassenhäufigkeitsdiagramm für jede Spezies. Der zugrunde liegende Datensatz gibt die reizrichtungsunabhängigen medianen Schwimmgeschwindigkeiten an, die bei 560 nm (unabhängig von der Lichtintensität) gemessen wurden. Die Klassenbreite beträgt 0,05 µm/s. Zu beachten ist, dass die Ordinateneinteilung variiert.

Bei *Ophryoglena flava* zeigen sich typisch „linksschiefe“ Verteilungen der gemessenen Schwimmgeschwindigkeiten: Es gibt mehr langsamer schwimmende Zellen, als Zellen, die eine höhere Schwimmgeschwindigkeit aufweisen. Dies zeigt sich ebenfalls, wenn auch nicht so ausgeprägt, bei den beiden Paramecien Arten. Bei *Didinium nasutum*

sind dagegen die Verteilungsfunktionen mehr „rechtsschief“. Bei allen Spezies kann aufgrund der Klassenhäufigkeitsdiagramme eine Homogenität der vereinigten Daten angenommen werden. Die beschriebene Zusammenfassung der Messdaten erscheint daher zulässig.

Aus den Häufigkeitsverteilungen wird weiterhin deutlich, dass die gemessenen Schwimgeschwindigkeiten nicht normalverteilt sind und daher Methoden der nichtparametrischen Statistik (Mediane und Konfidenzbereiche) zur weiteren Analyse angewendet werden müssen.

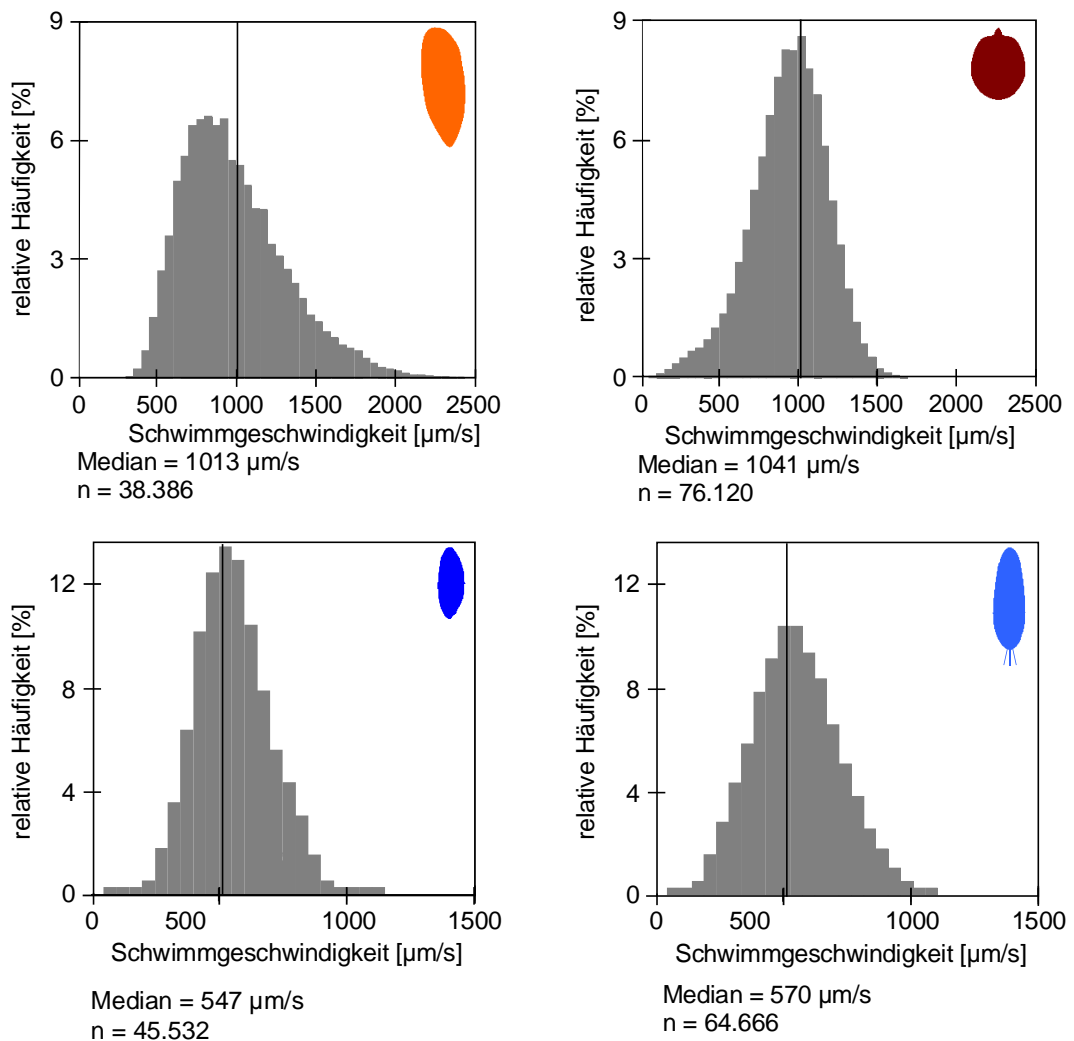


Abb. 3.3: Klassenhäufigkeitsdiagramme der reizrichtungsunabhängigen medianen Schwimgeschwindigkeiten. Die Klassenbreite beträgt 0,05 μm/s. Das Zellen gibt die Spezies an.

3.3.2. Photoorientierung

In Abbildung 3.4. wird die Photoorientierung der Zellen für jede Art exemplarisch bei vier Reizparameterkombinationen gezeigt. Die gezeigten Kombinationen sind in den Abbildungen der folgenden Abschnitte beibehalten worden. Polarhistogramme zeigen die relativen Anteile einer Zellpopulation, die sich in entsprechende Richtungen orientieren. Dabei liegt die Reizrichtung hier bei 0°. Bei den Polarhistogrammen zur Schwerkraftwahrnehmung liegt die Richtung des Gravitationsvektors bei 180°. Der innere Kreis dient der Kalibrierung und gibt den relativen Anteil der Population an, die in die Richtung des entsprechenden Winkelsektors schwammen.

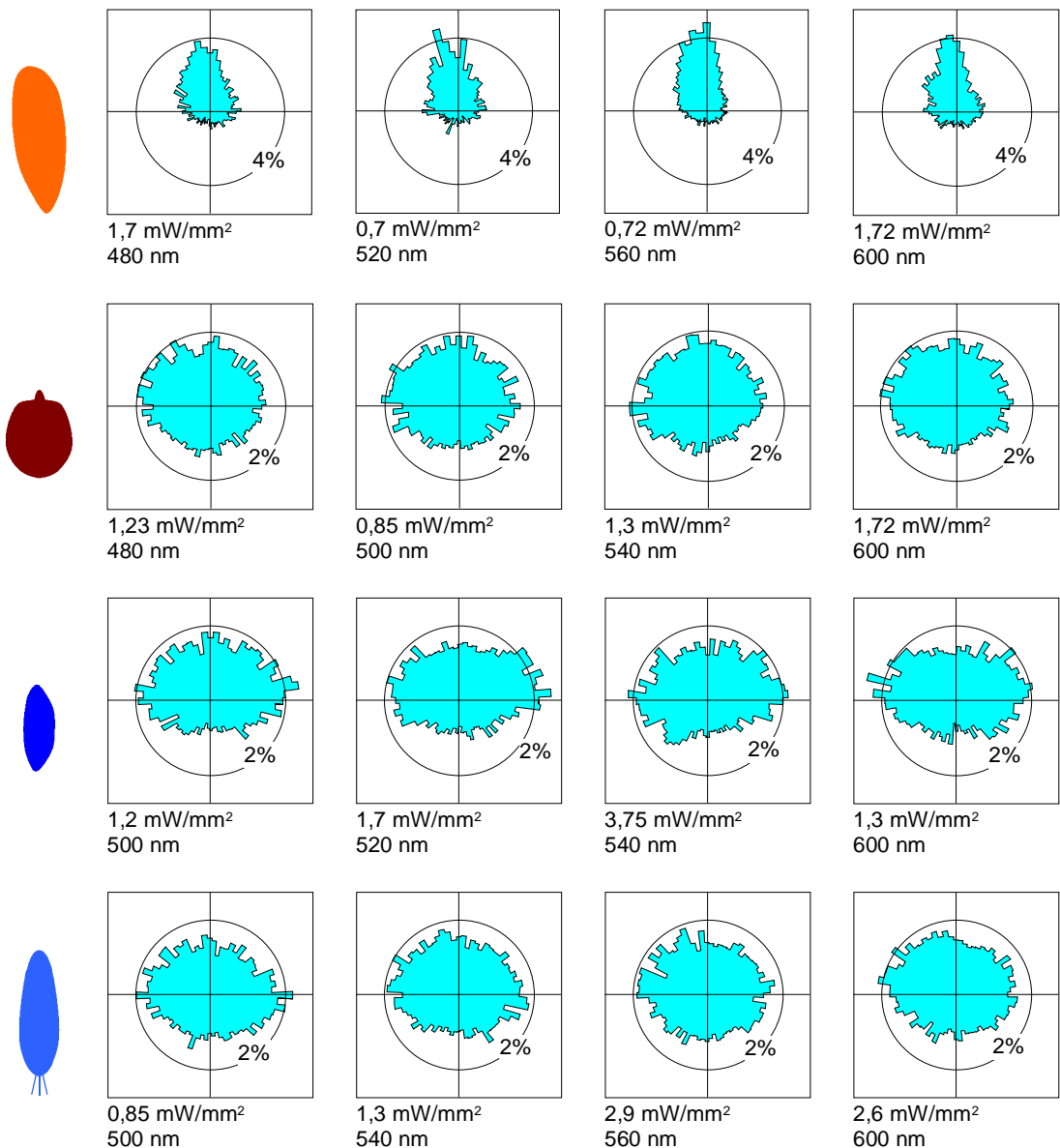


Abb. 3.4: Polarhistogramme der Photoorientierung bei ausgesuchten Kombinationen von Reizparametern.

Bei *Ophryoglena flava* zeigt sich eine sehr ausgeprägte positive Photoorientierung. Auffällig dabei ist, dass die Winkelklasse mit der größten Häufigkeit nicht wie erwartet bei 0° , sondern bei etwa 350° liegt. Dies gilt ebenfalls für *Didinium nasutum*, wobei hier die Winkelklassen des gesamten linken oberen Quadranten die höchste Anzahl an Schwimmspuren enthalten.

Bei *Paramecium caudatum* und bei *Paramecium aurelia* zeigen die Polarhistogramme ebenfalls eine eindeutige positive Photoorientierung, auch wenn diese nicht so ausgeprägt ist wie bei *Ophryoglena flava*. Bei *Paramecium aurelia* fällt auf, dass die Polarhistogramme ein wenig „gestaucht“ sind: Es schwimmen relativ viele Zellen parallel, bzw. schräg ($\pm 45^\circ$) zur Lichtrichtung.

Um die Genauigkeit der Zellorientierung besser quantifizieren zu können, wurden gemäß Gleichung 2.5. Orientierungskoeffizienten berechnet und in den Abbildungen 3.5 und 3.6 lichtintensitätsabhängig aufgetragen.

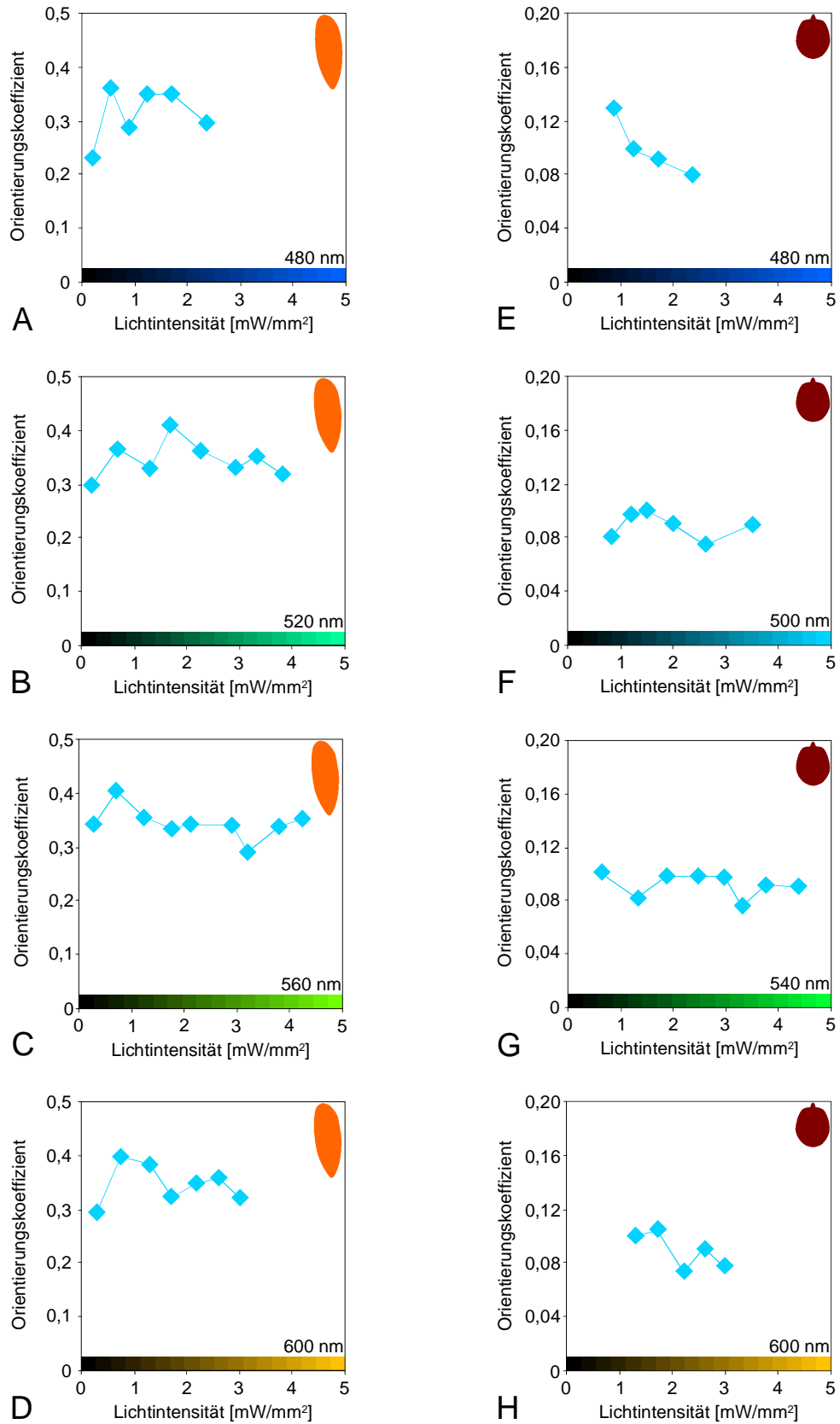


Abb. 3.5: Lichtintensitätsabhängige Orientierungskoeffizienten (r_0) von *Ophryoglena flava* und *Didinium nasutum* bei unterschiedlichen Wellenlängen. Beachte: Die Skalierung der Ordinate bei *Ophryoglena flava* ist anders gewählt als bei den anderen Spezies.

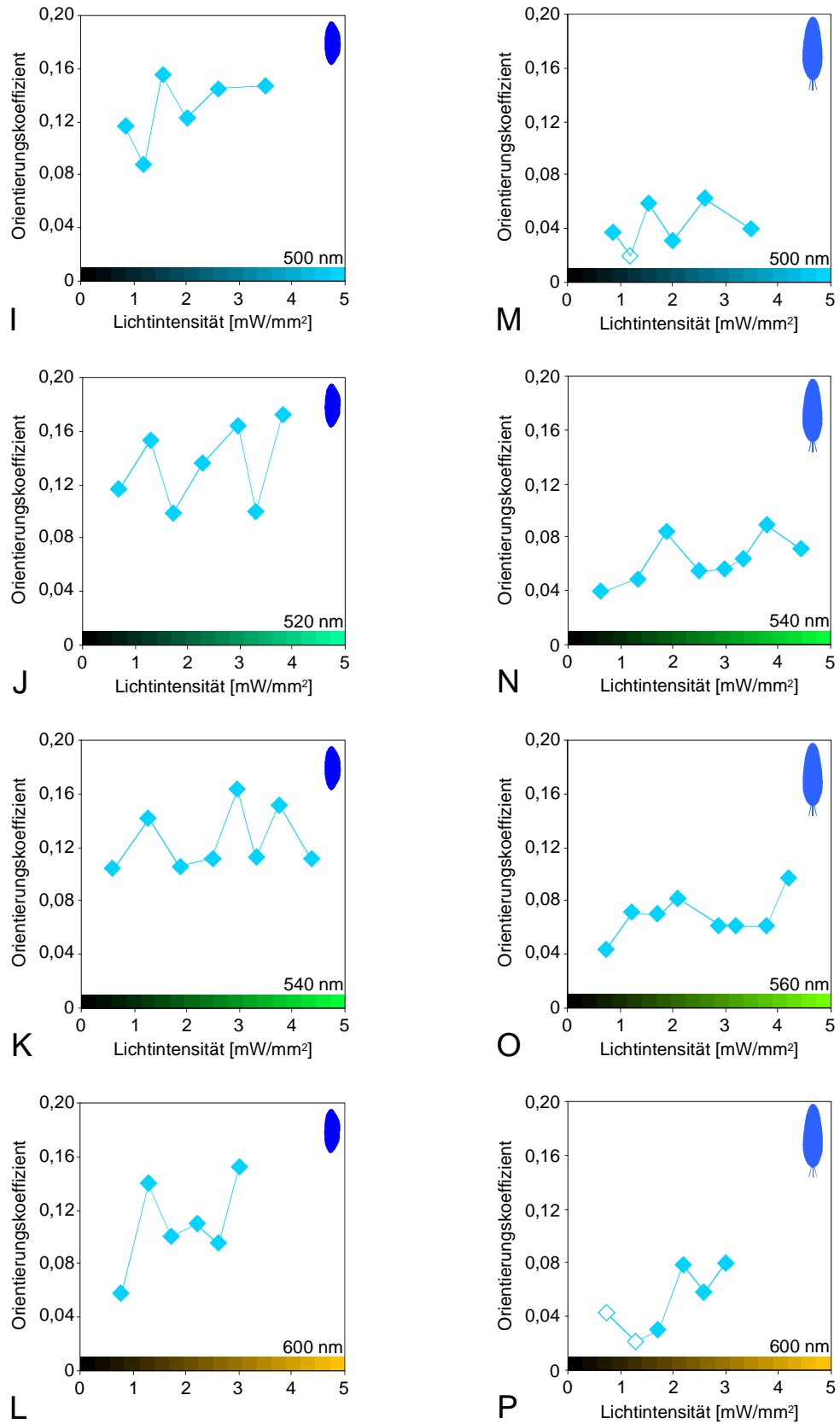


Abb. 3.6: Lichtintensitätsabhängige Orientierungskoeffizienten r_0 von *Paramecium aurelia* und *Paramecium caudatum* bei unterschiedlichen Wellenlängen. Beachte: Die Skalierung der Ordinate bei *Ophryoglena flava* ist anders gewählt als bei den anderen Spezies. Nicht ausgefüllte Datenpunkte zeigen nicht signifikante Orientierungskoeffizienten an.

Fast alle Orientierungskoeffizienten sind signifikant von 0 verschieden. Eine Ausnahme zeigte lediglich *Paramecium caudatum*: 500 nm bei 1,2 mW/mm² (nicht dargestellt). Dies bestätigt die Schlüsse aus der Beurteilung der Polarhistogramme: Alle von mir untersuchten Ciliatenarten orientieren sich vorwiegend zum Lichtreiz hin.

Die Orientierungskoeffizienten von *Ophryoglena flava* zeigen eine ausgeprägte mittlere Photoorientierung von $r_0=0,35$. *Paramecium caudatum* weist die geringste Photoorientierung auf, wogegen der Betrag des Orientierungskoeffizienten von *Didinium nasutum* genau zwischen dem der beiden Paramecien Arten liegt.

Bei *Didinium nasutum* könnte man bei 480 nm und 600 nm annehmen, dass die Präzision der Zellorientierung bezüglich der Lichtrichtung mit steigender Intensität abnimmt. Bei den anderen untersuchten Wellenlängen bleibt die Zellorientierung unbeeinflusst von der applizierten Lichtintensität.

Die bei *Paramecium aurelia* bestimmten Orientierungskoeffizienten zeigen bei unterschiedlichen Intensitäten unsystematische Schwankungen.

Die Orientierungskoeffizienten bei *Paramecium caudatum* weisen einen relativ konstanten niedrigen Betrag gegenüber den steigenden Lichtintensitäten auf.

Zusammenfassend kann man bei keiner der untersuchten Arten eine ausgeprägte Abhängigkeit des Orientierungskoeffizienten von der Lichtintensität erkennen. Daher können die bei unterschiedlichen Lichtintensitäten einer Wellenlänge aufgezeichneten Schwimmspuren unabhängig von der applizierten Lichtintensität zusammengefasst werden.

3.3.3. Schwimmgeschwindigkeiten

Die in den Abbildungen 3.7. und 3.8. gezeigten medianen lichtrichtungsabhängigen Schwimmgeschwindigkeiten sind bei konstanter Wellenlänge gegen die steigende Lichtintensität aufgetragen. Pro Spezies sind hier die Daten von jeweils 4 der untersuchten Wellenlängen gezeigt. Da die Schwimmgeschwindigkeiten der einzelnen Spezies deutlich voneinander verschieden sind, wurde die Ordinatenkalibrierung unterschiedlich gewählt.

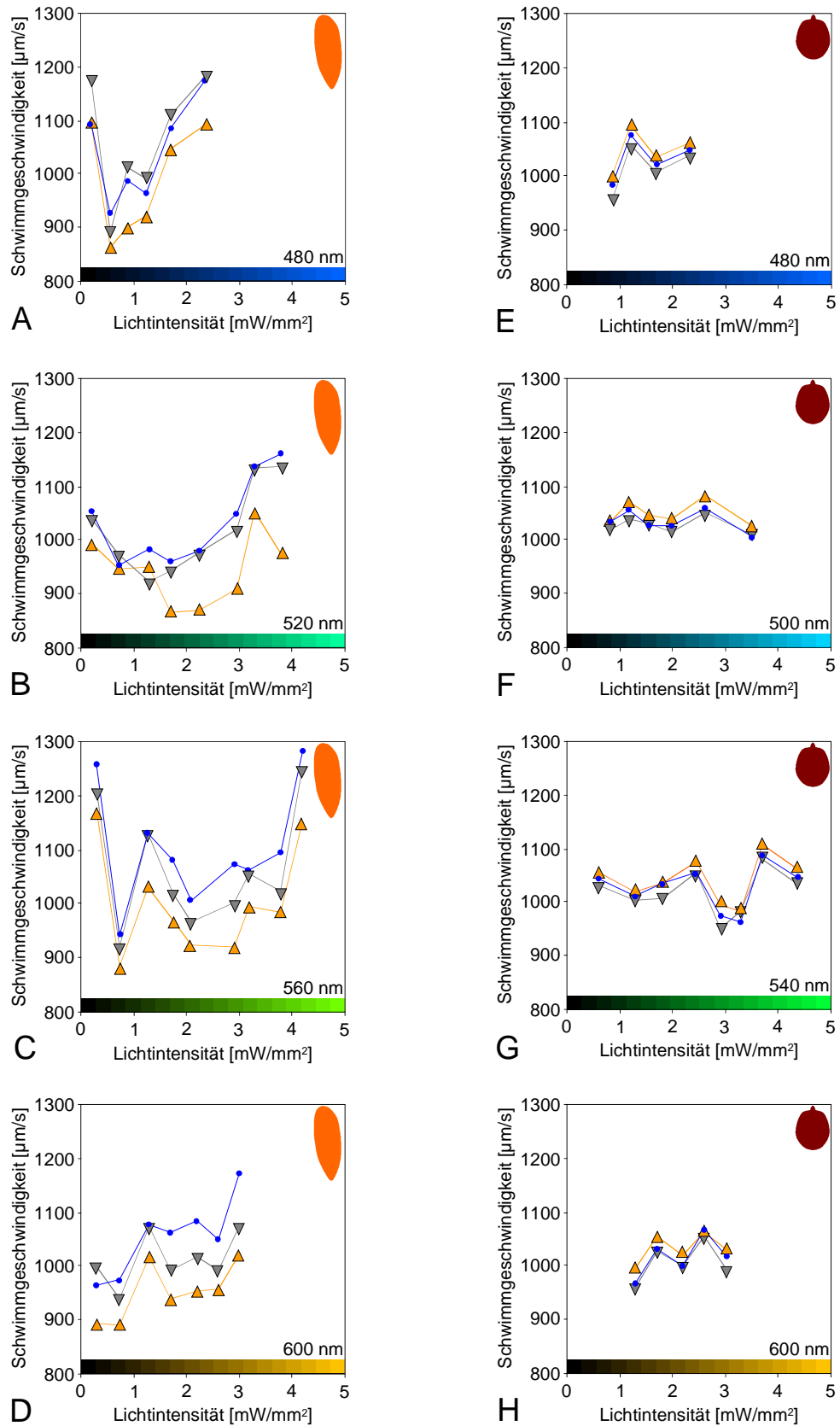


Abb. 3.7: Mediane Schwimmgeschwindigkeiten von *Ophryoglena flava* und *Didinium nasutum* in Abhängigkeit von der Lichtintensität bei ausgesuchten Wellenlängen. Beachte: Die Ordinateinteilung bei den verschiedenen Spezies ist unterschiedlich gewählt. hin zum Licht: orange; weg vom Licht: grau; horizontal zum Licht: blau. Der 95%-Konfidenzbereich liegt im Bereich der Symbolgröße. Jeder Messwert besteht im Mittel aus $n = 2.500$ Einzeldaten.

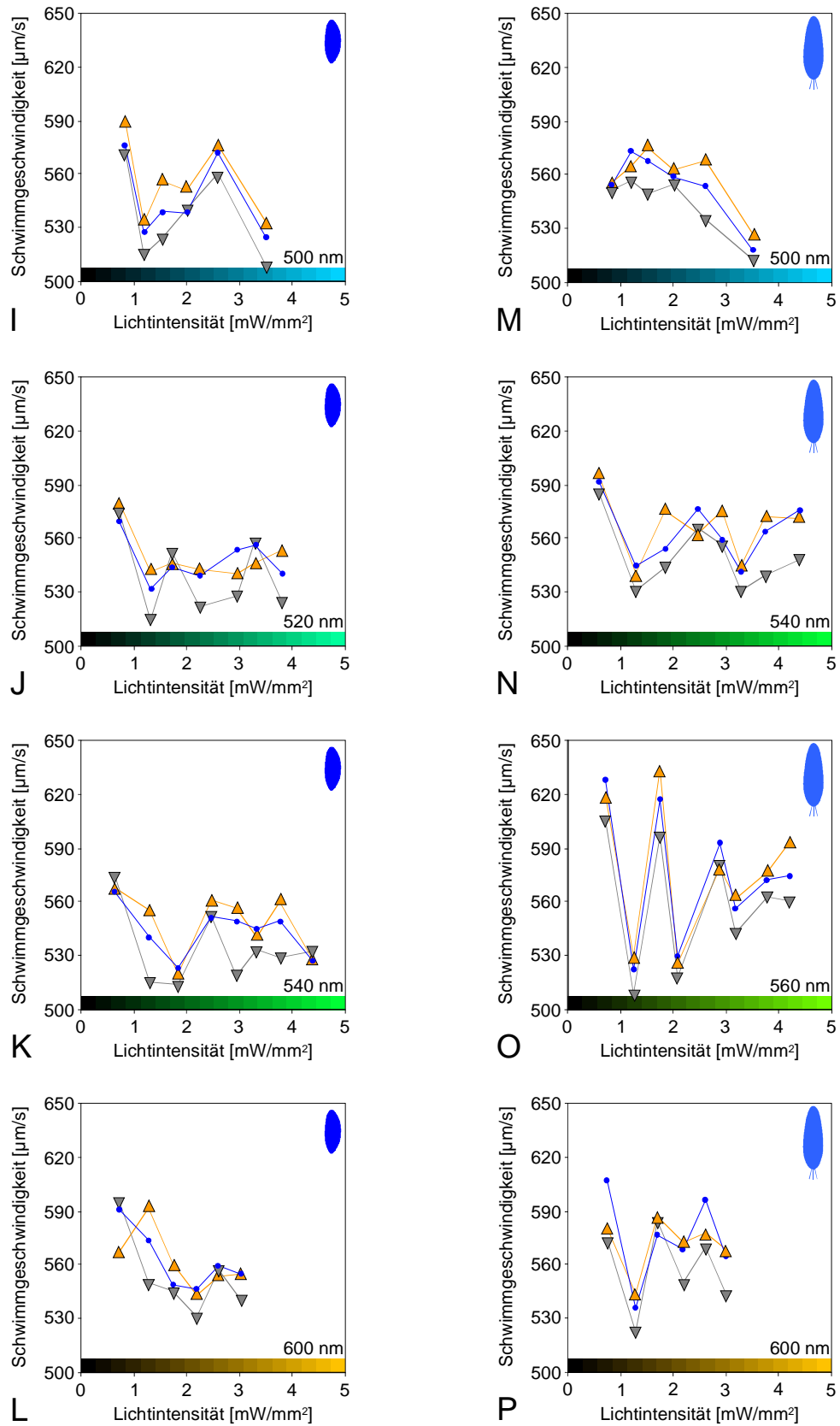


Abb. 3.8: Mediane Schwimmgeschwindigkeiten von *Paramecium aurelia* und *Paramecium caudatum* in Abhängigkeit von der Lichtintensität bei ausgesuchten Wellenlängen. Beachte: Die Ordinatoreinteilung bei den verschiedenen Spezies ist unterschiedlich gewählt. hin zum Licht: orange; weg vom Licht: grau; horizontal zum Licht: blau. Der 95%-Konfidenzbereich liegt im Bereich der Symbolgröße. Jeder Messwert besteht im Mittel aus $n = 2.500$ Einzeldaten.

Didinium nasutum und beide Paramecien-Arten schwimmen schneller auf die Lichtquelle zu als von der Lichtquelle fort. Die Schwimgeschwindigkeiten rechtwinklig zum Reiz schwimmender Zellen liegen meist zwischen derjenigen von parallel bzw. antiparallel zum Reiz ausgerichteten Zellen.

Bei den Ophryoglenen hingegen zeigt sich, dass die Zellen, welche auf die Lichtquelle zuschwimmen, ihre Schwimgeschwindigkeit reduzieren. Die Schwimgeschwindigkeit rechtwinklig zum Licht orientierten Zellen gleicht derjenigen von Zellen, die auf das Licht zuschwimmen.

Eine lichtintensitätsabhängige Veränderung der gemessenen Schwimgeschwindigkeiten lässt sich bei keiner untersuchten Wellenlänge bestimmen (vgl. 3.3.2.).

Aus den richtungsbezogenen Schwimgeschwindigkeiten wurden gemäß Gleichung 2.7. die richtungsabhängigen Photokinesen berechnet und in den Abbildungen 3.9. und 3.10. graphisch dargestellt.

Ophryoglena flava zeigt bis auf eine Ausnahme (Abb. 3.9.B) durchweg eine ausgeprägte negative Photokinese. Bei den anderen Arten wurde, bis auf zwei Ausnahmen bei *Paramecium aurelia* (Abb. 3.10. J, L), immer eine positive Photokinese berechnet.

Bei *Didinium nasutum* und besonders bei den beiden Paramecien Arten lässt sich die positive Photokinese bei mehreren Reizkombinationen statistisch nicht sichern.

Auch die Photokinesen lassen in den meisten Fällen keine Korrelation mit der Lichtintensität erkennen. Bei *Didinium nasutum* könnte man bei 480 nm ein Abfallen der Photokinese bei steigender Lichtintensität annehmen (Abb. 3.9.E). Dies gilt auch für *Ophryoglena flava* bei 520 nm (Abb. 3.9.B).

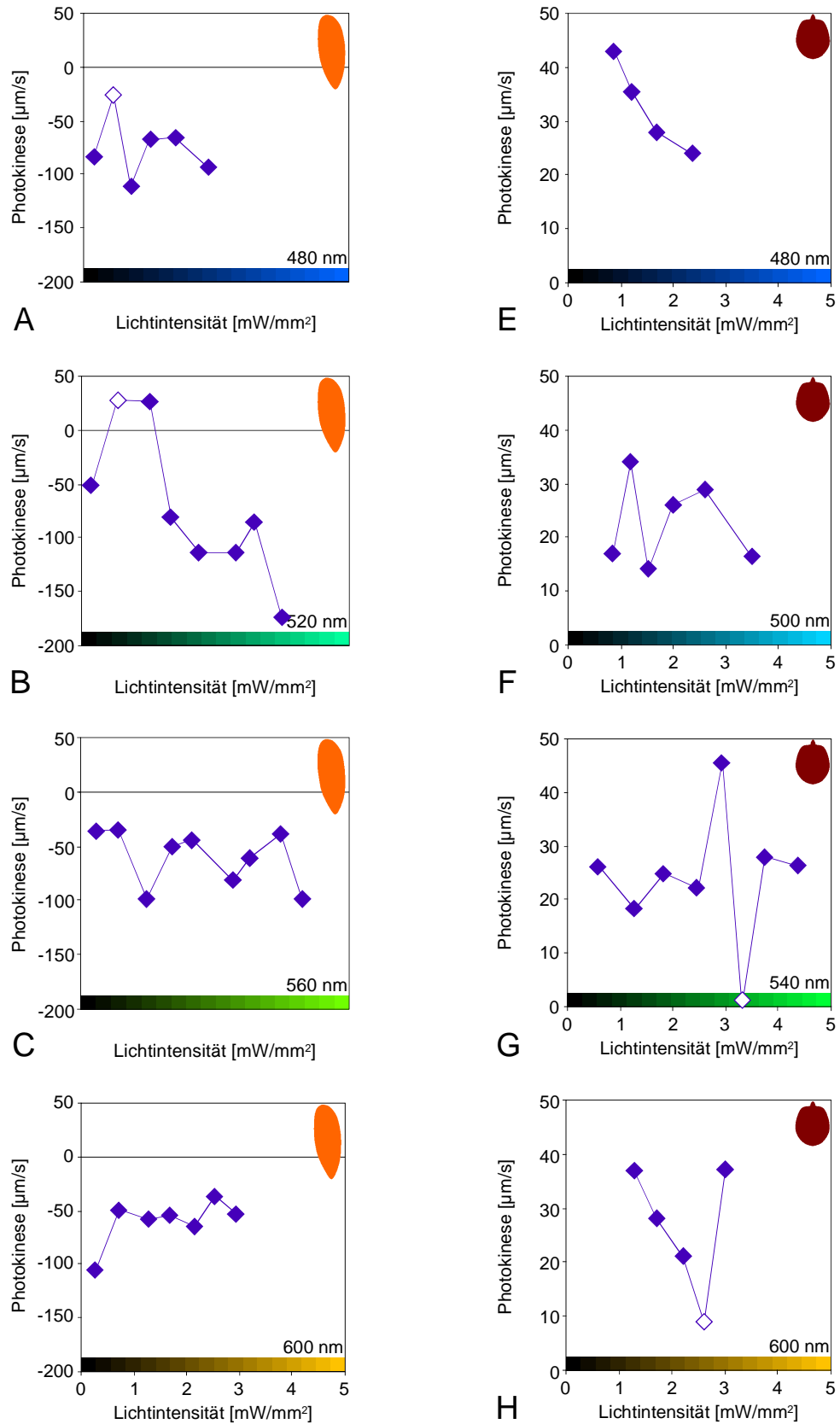


Abb. 3.9: Photokinesen von *Ophryoglena flava* und *Didinium nasutum* in Abhängigkeit von der Lichtintensität bei ausgesuchten Wellenlängen. Beachte: Die Ordinatenkalierung bei den einzelnen Spezies variiert. Nicht ausgefüllte Datenpunkte sind statistisch nicht sicherbar.

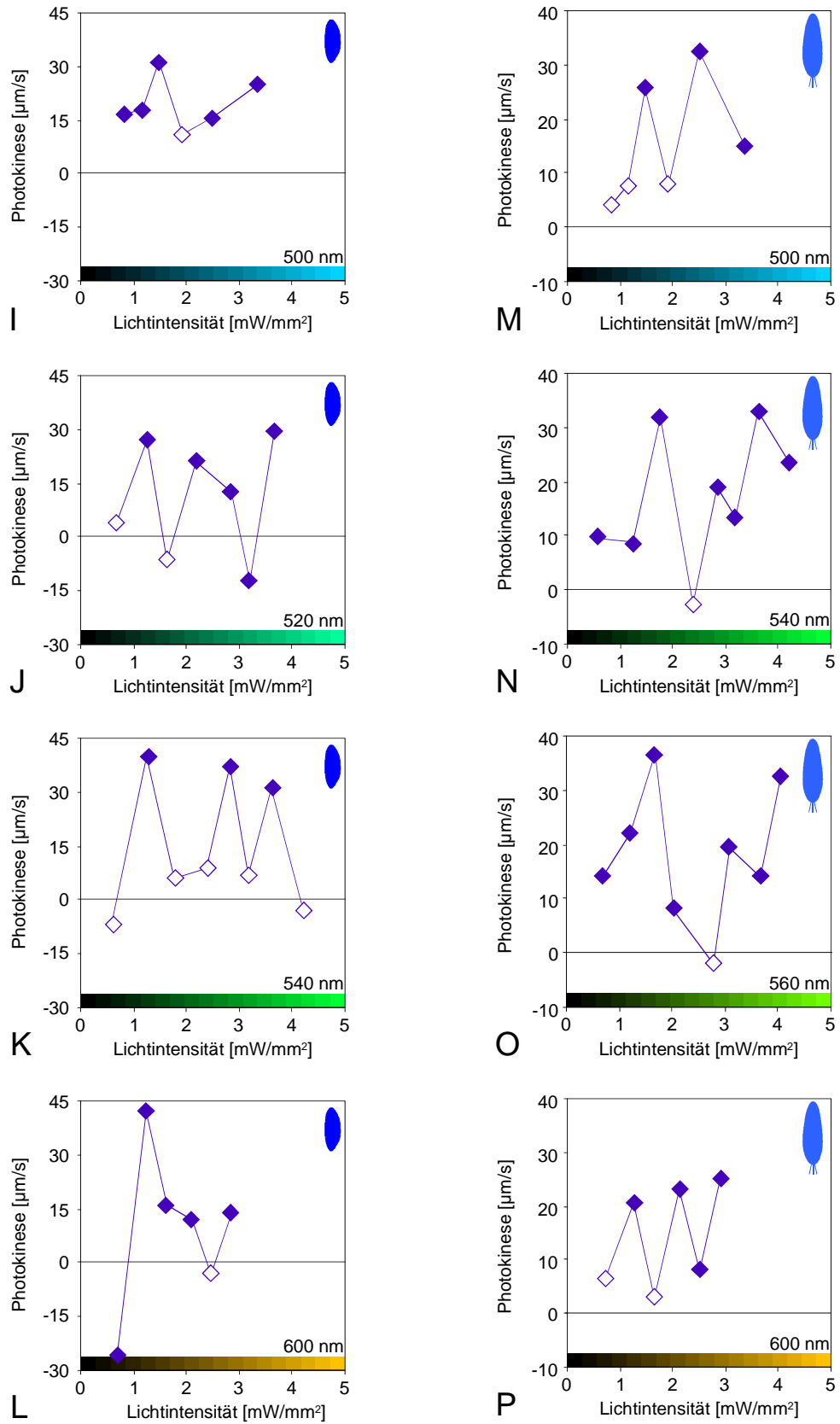


Abb. 3.10: Photokinesen von *Paramecium aurelia* und *Paramecium caudatum* in Abhängigkeit von der Lichtintensität bei ausgesuchten Wellenlängen. Beachte: Die Ordinatenkalierung bei den einzelnen Spezies variiert. Nicht ausgefüllte Datenpunkte sind statistisch nicht sicherbar.

3.4. Vereinigung der bei verschiedenen Lichtintensitäten gemessenen Schwimmggeschwindigkeiten

Zur näheren Analyse einer Korrelation zwischen der Lichtintensität und den Photoreaktionen (reizrichtungsabhängige Schwimmggeschwindigkeitsänderungen und Photoorientierungen) wurde aus den bei jeder Wellenlänge gemessenen Rohdaten eine lineare Regression berechnet (Methode der kleinsten Quadrate). Der Regressionskoeffizient (Steigung der Regressionsgerade) wurde mit dem t-Test nach Student auf eine Abweichung von 0 geprüft. Vermutlich bedingt durch die große Datenzahl ergab in einigen Fällen dieser statistische Test zwar signifikante Ergebnisse, jedoch waren die Beträge der Regressionskoeffizienten insgesamt so gering, dass im untersuchten Intensitätsbereich von keiner nennenswerten Abhängigkeit der Photoreaktionen von der Lichtintensität ausgegangen werden kann. Darum wurden die Daten zur weiteren Analyse unabhängig von der Lichtintensität wellenlängenspezifisch zusammengefasst.

3.4.1. Aktionsspektren

Die so nur noch wellenlängenspezifischen Datensätze zeigten ebenfalls homogene Verteilungen der Schwimmggeschwindigkeiten (vgl. 3.3.1.). Aus diesen Datensätzen wurden die im Folgenden dargestellten Aktionsspektren der Photoorientierung, der richtungsabhängigen Schwimmggeschwindigkeiten und der Photokinesen berechnet.

3.4.1.1. Wellenlängenabhängige Photoorientierung

In Abbildung 3.11. werden Polarhistogramme der Photoorientierungen (Daten nur nach der Wellenlänge zusammengefasst) gezeigt. Wie aufgrund der Datenlage zu erwarten war, ähneln die in Abbildung 3.11. gezeigten Polarhistogramme den Beispielen in den Abbildungen 3.4.: Eine präzise Reaktion zum Lichtreiz mit leichter Abweichung nach 350° bei *Ophryoglena flava*. Eine deutliche Bevorzugung des linken oberen Quadranten bei *Didinium nasutum* und eine weniger deutliche, jedoch noch eindeutige Photoorientierung bei den beiden *Paramecium*-Arten (mit Bevorzugung der Orientierung etwa in einem Winkel von $\pm 45^\circ$ zur Lichtrichtung).

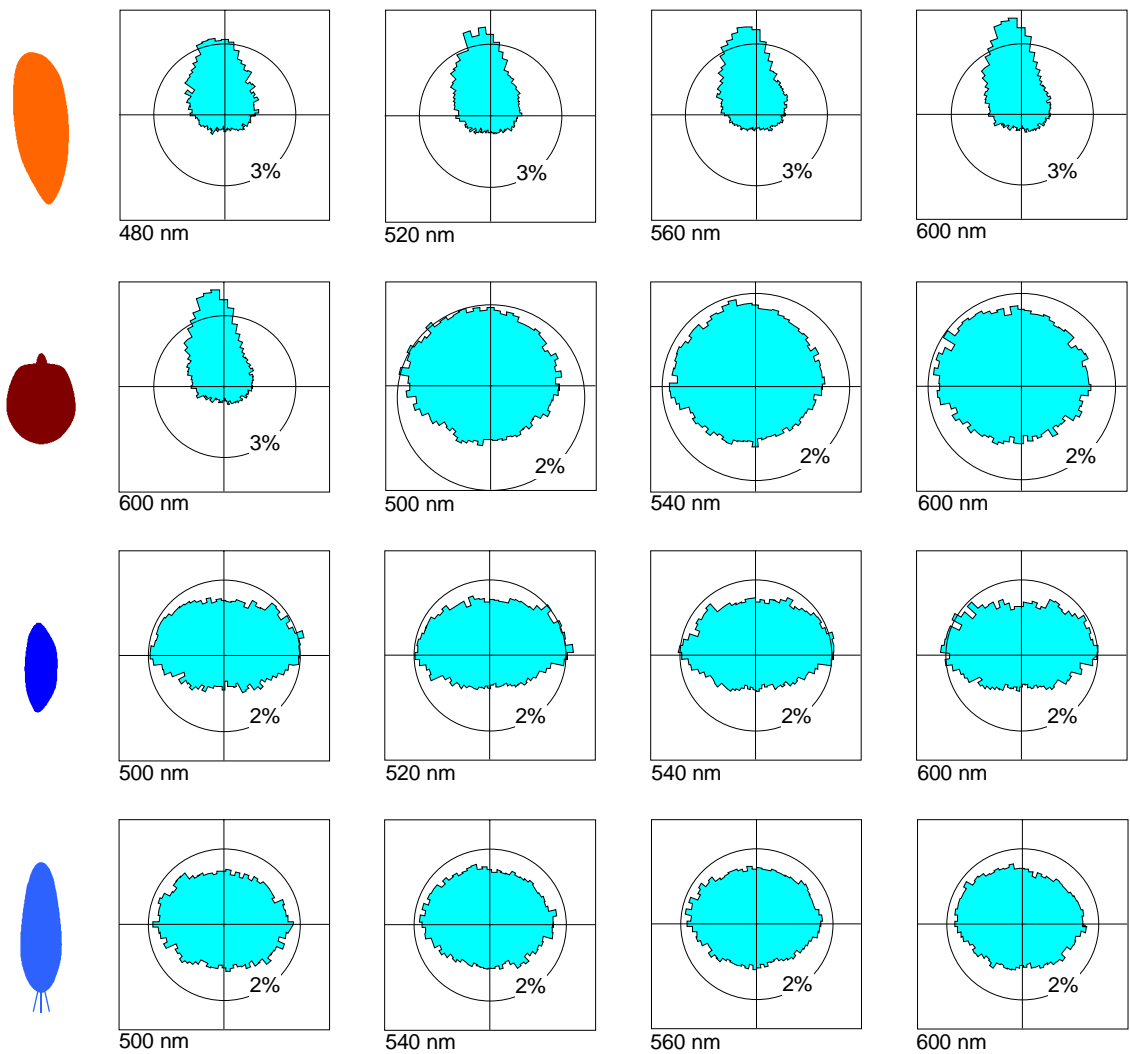


Abb. 3.11: Polarhistogramme der Photoorientierung bei jeweils 4 Wellenlängen.

Um die Photoorientierungen besser vergleichen zu können, wurde nach Gleichung 2.5. der Orientierungskoeffizient berechnet und gegen die Wellenlänge aufgetragen. Abbildung 3.12. zeigt das Aktionsspektrum der Photoorientierung der untersuchten Spezies.

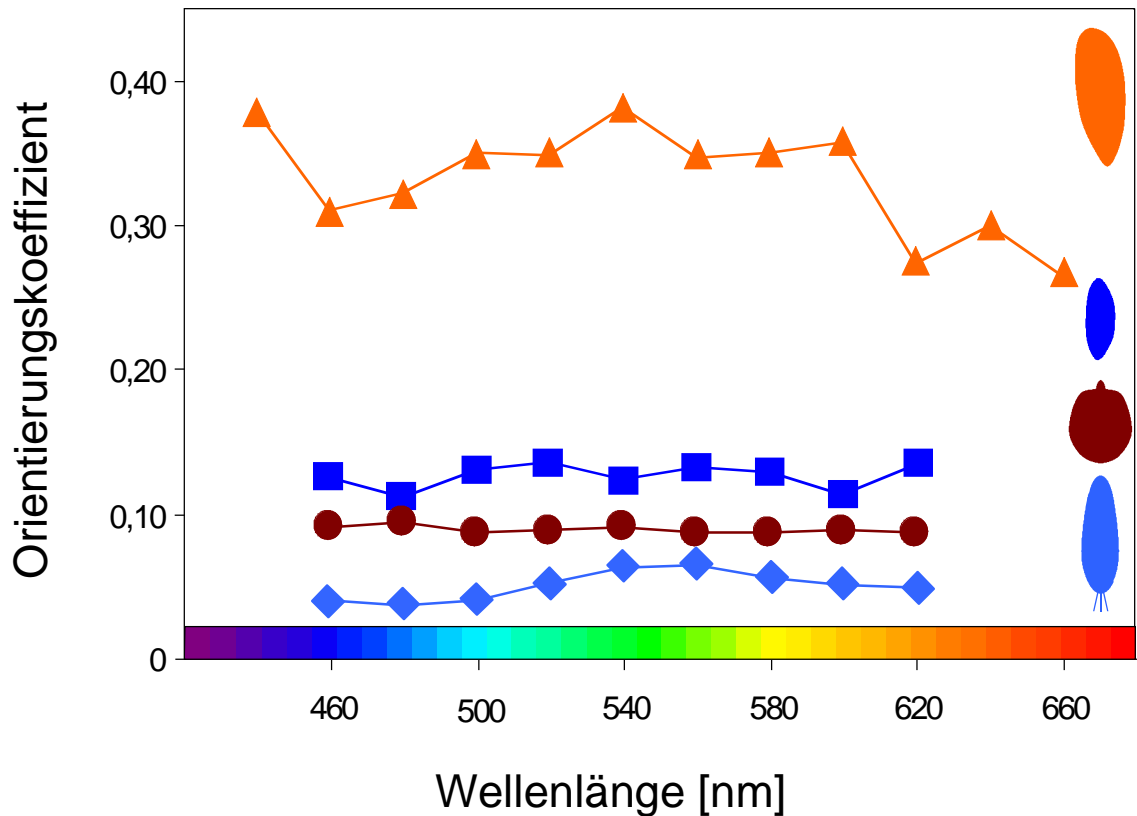


Abb. 3.12: Aufgetragen ist der Orientierungskoeffizient r_0 gegen die Wellenlänge. Orange: *Ophryoglena flava*, rot: *Didinium nasutum*, dunkelblau: *Paramecium aurelia*, hellblau: *Paramecium caudatum*. Die Datenzahl für jeden Messpunkt liegt bei etwa 32.300 individuellen Orientierungen.

Bei allen getesteten Wellenlängen zeigen alle untersuchten Spezies eine statistisch hoch signifikante, positive Photoorientierung

Wie auch schon die Polarhistogramme gezeigt haben, ist die Photoorientierung bei *Ophryoglena flava* besonders präzise: der Orientierungskoeffizient liegt im Mittel bei 0,35. Im roten Lichtbereich nimmt die Präzision jedoch leicht ab. Bei den anderen drei Arten sind die Orientierungskoeffizienten geringer und scheinen wenig von der Wellenlänge des Lichtreizes abzuhängen. Allenfalls für *Paramecium caudatum* ließe sich ein Maximum im grünen Wellenlängenbereich (560 nm) erkennen.

3.4.1.2. Aktionsspektren der Schwimmggeschwindigkeiten

In den Abbildungen 3.13. und 3.14. sind die richtungsabhängigen medianen Schwimmggeschwindigkeiten gegen die Wellenlänge aufgetragen.

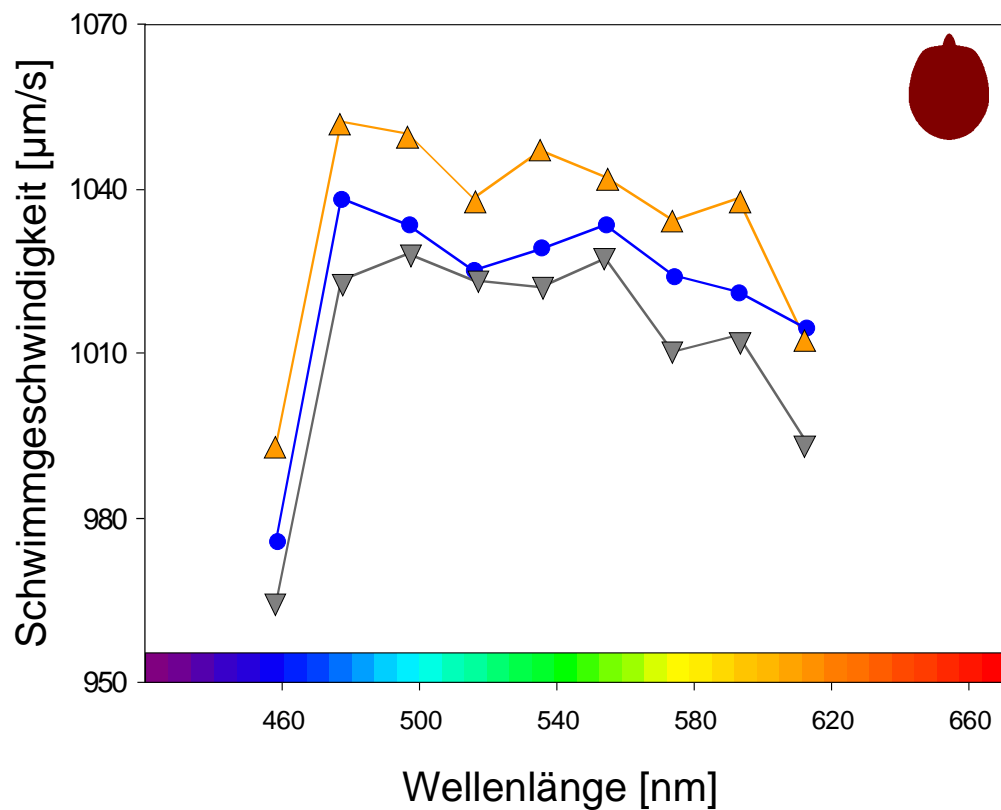
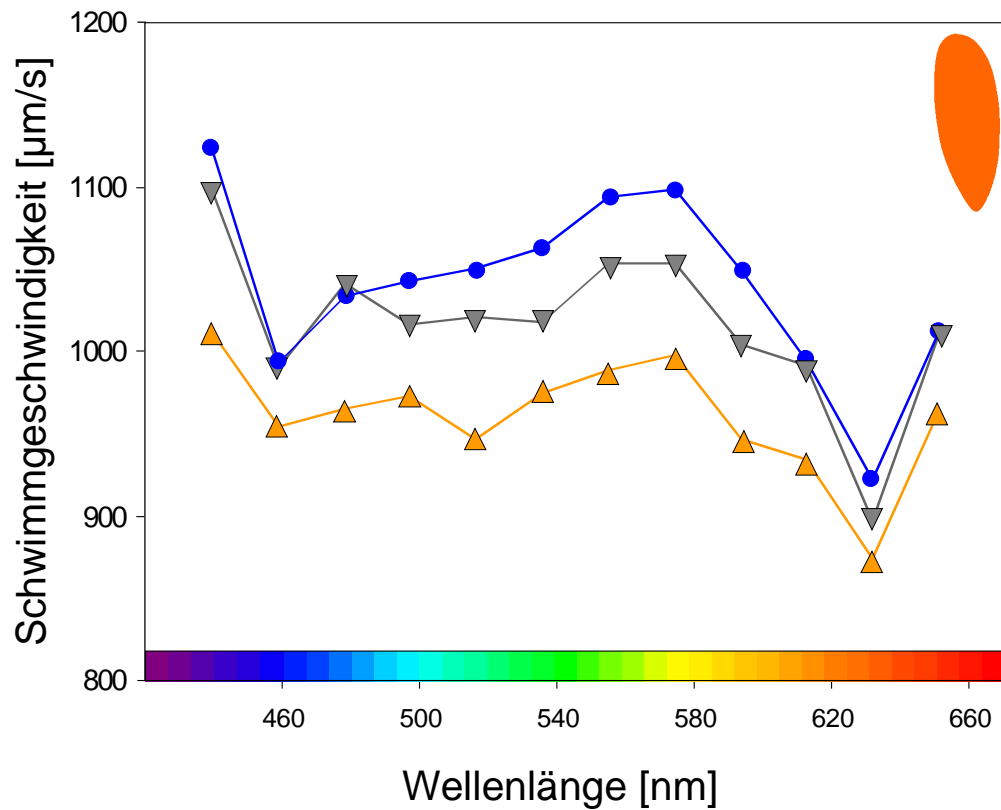


Abb. 3.13: Aktionsspektren der Schwimmgeschwindigkeiten der untersuchten Arten, jeweils unterschieden nach der Orientierung bezüglich des Lichtreizes: hin zum Licht: gelb, weg vom Licht: schwarz, rechtwinklig zur Lichtrichtung: blau. Die 95%-Konfidenzbereiche der jeweiligen Mediane liegen im Bereich der Symbolgröße und sind daher nicht dargestellt. Jeder Datenpunkt resultiert im Mittel aus 8.000 Einzelmessungen.

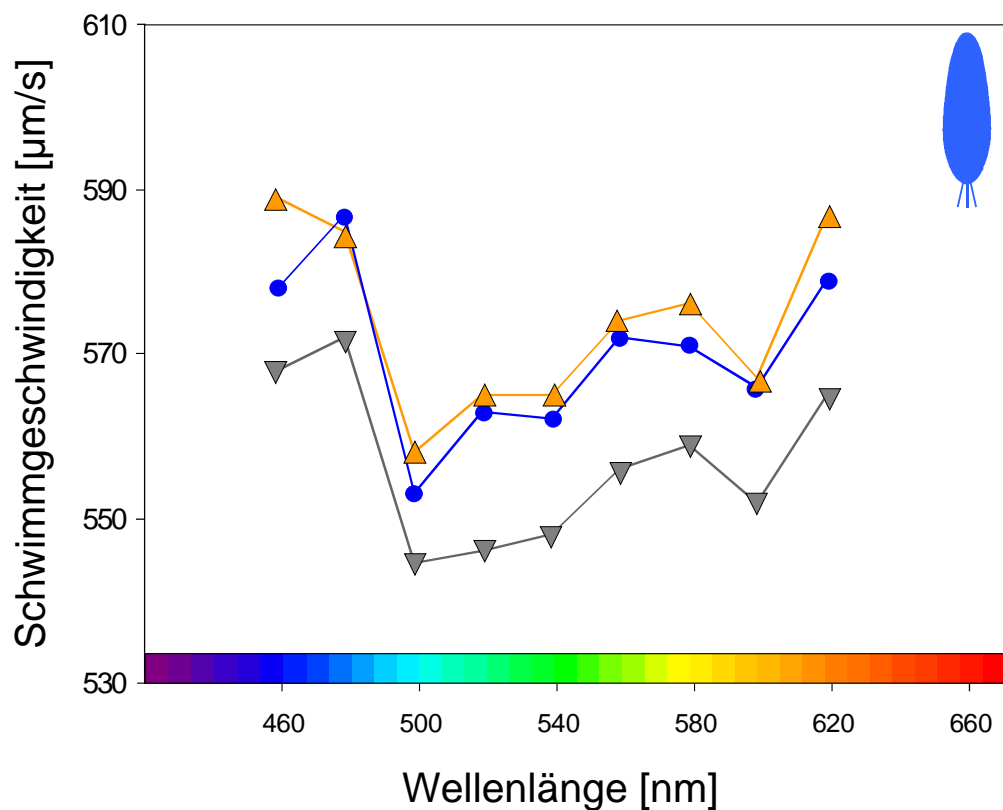
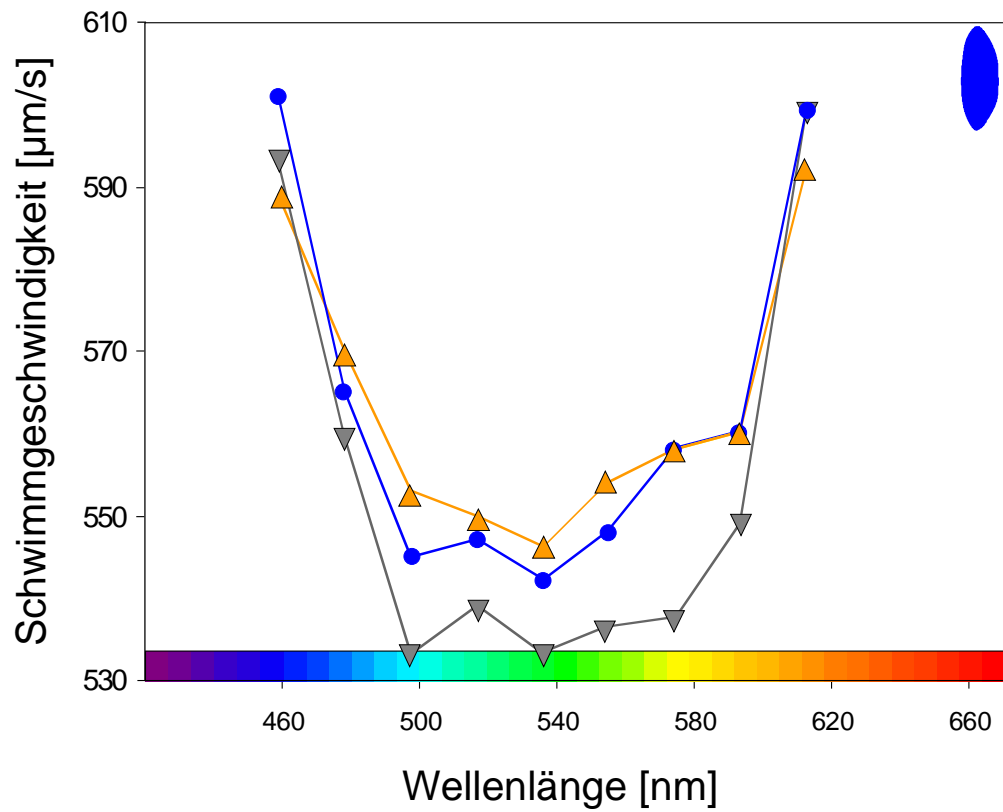


Abb. 3.14: Aktionsspektren der Schwimmgeschwindigkeiten der untersuchten Arten, jeweils unterschieden nach der Schwimmrichtung bezüglich des Lichtreizes: hin zum Licht: gelb, weg vom Licht: schwarz, rechtwinklig zur Lichtrichtung: blau. Die 95%-Konfidenzbereiche liegen im Bereich der Symbolgröße. Jeder Datenpunkt resultiert im Mittel aus 8.000 Einzelmessungen.

Ophryoglena flava weist bei blauem Licht die höchsten richtungsbezogenen Schwimmgeschwindigkeiten auf, wogegen bei 640 nm deutlich geringere Schwimmgeschwindigkeiten gemessen wurden. Der Verlauf wird durch die benachbarten Datenpunkte gestützt. *Ophryoglena flava* schwimmt immer langsamer auf das Licht zu als in die entgegengesetzte Richtung.

Auffallend ist, dass die absoluten Schwimmgeschwindigkeiten von *Didinium nasutum* bei blauer Beleuchtung im Betrag deutlich niedriger sind, als bei den anderen Wellenlängen. Ein weiterer leichter Abfall der Schwimmgeschwindigkeiten zeigt sich auch im roten Bereich bei 620 nm. Die Schwimmgeschwindigkeiten der Zellen, die auf das Licht zuschwimmen, sind bei jeder Wellenlänge größer als diejenigen der Zellen, die von der Lichtquelle fort, oder rechtwinklig zur Lichtquelle orientiert sind.

Bei *Paramecium aurelia* zeigt sich, dass die absoluten Schwimmgeschwindigkeiten in den Randwellenlängenbereichen (blaues und rotes Licht) höher sind als die Schwimmgeschwindigkeiten bei den mittleren Wellenlängen im gelb-grün-Bereich.

Bei *Paramecium caudatum* wurde, wie bei *Paramecium aurelia* und *Didinium nasutum*, bei allen Wellenlängen eine niedrigere Schwimmgeschwindigkeit gemessen, wenn die Zellen sich vom Lichtreiz entfernen, als wenn sie zum Licht hin orientiert sind. Die Aktionsspektren der richtungsbezogenen Schwimmgeschwindigkeiten beider Paramecien Arten ähneln sich sowohl in ihrem Verlauf als auch im Betrag. Beide Arten erhöhen ihre Schwimmgeschwindigkeit bei den Randwellenlängen (460 nm und 620 nm).

Es zeigt sich, dass die Schwimmgeschwindigkeiten, mit denen die Zellen rechtwinklig zur Lichtrichtung schwimmen, außer bei *Ophryoglena flava*, meist zwischen den reizrichtungsbezogenen Schwimmgeschwindigkeiten liegen. Bei *Ophryoglena flava* hingegen liegt die Schwimmgeschwindigkeit rechtwinklig zum Lichtreiz orientierter Zellen über der Schwimmgeschwindigkeit von Zellen, die entlang des Lichtgradienten schwimmen.

Für alle medianen Schwimmgeschwindigkeiten wurden, wie in 2.5.3. angegeben, 95%-Konfidenzbereiche errechnet. Auf die Darstellung der Werte wurde in den Abbildungen 3.13. und 3.14. aus Gründen der Übersichtlichkeit verzichtet (sie liegen im Bereich der Symbolgröße). Die Konfidenzbereiche der parallel zum Lichtreiz schwimmenden Zellen überlappen sich bei *Ophryoglena flava*, für *Didinium nasutum* und *Paramecium caudatum* jedoch bei keiner Wellenlänge. Bei *Paramecium aurelia* gibt es leichte Überlappungen in beiden Randbereichen des Spektrums. Hieraus lässt sich schließen, dass die Unterschiede in den medianen richtungsbezogenen Schwimmge-

schwindigkeiten bei jeder Art und den meisten untersuchten Wellenlängen nicht zufällig sein können.

3.4.1.3. Aktionsspektren der Photokinesen

Aus den Schwimgeschwindigkeitsdaten wurden gemäß Gleichung 2.7. die Photokinesen berechnet und in Abbildung 3.15. aufgetragen.

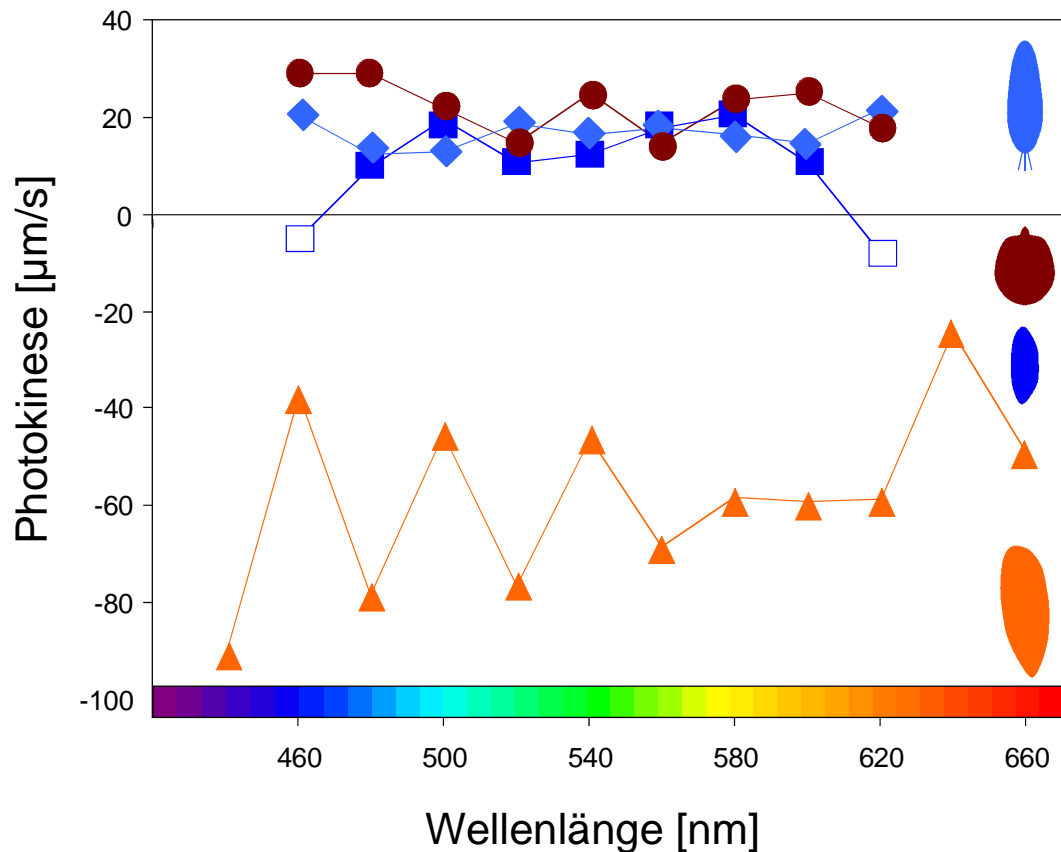


Abb. 3.15: Aktionsspektrum der Photokinese. Orange: *Ophryoglena flava*, rot: *Didinium nasutum*, dunkelblau: *Paramecium aurelia*, hellblau: *Paramecium caudatum*. Nicht ausgefüllte Datenpunkte sind statistisch nicht sicherbar.

Alle berechneten Photokinesen waren (bis auf zwei Ausnahmen *Paramecium aurelia*, 460 nm und 620 nm) hoch signifikant. Wie es schon die gezeigten Daten in Abbildung 3.15. erkennen lassen, zeigt *Ophryoglena flava* als einzige Spezies eine sehr ausgeprägte und auch deutlich von der Wellenlänge des Lichtes abhängige, negative Photokinese. Die positive photokinetische Antwort der anderen Spezies scheint dagegen weniger wellenlängenspezifisch zu sein. Bei *Paramecium aurelia* könnte man zwei Maxima bei 500 nm und 580 nm annehmen. *Didinium nasutum* zeigt im blauen, grünen und orangefarbenen Bereich der Spektralfarben eine etwas deutlichere Photokinese.

Die Winkelklassen der in Abbildung 3.16. gezeigten zirkulären Graphiken geben den zellorientierungsabhängigen Betrag der Photokinesen an. Zur Erstellung der Graphiken wurden alle gemessenen Schwimgeschwindigkeiten einer Spezies lichtintensitäts- und wellenlängenunabhängig zusammengefasst. Auffallend bei allen 4 Arten ist, dass die Richtung der maximalen photokinetischen Antwort nicht mit der Reizrichtung übereinstimmt. Die Maxima sind bei allen 4 Spezies nach links verschoben, dies zeigt sich bei *Ophryoglena flava* am deutlichsten.

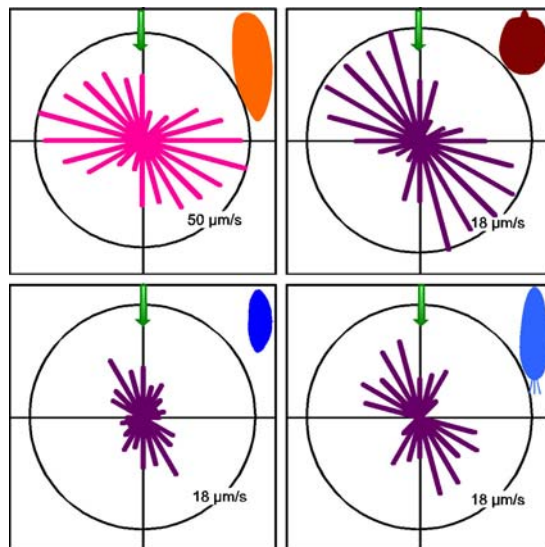


Abb. 3.16: Richtungsabhängige Photokinesen. Die Sektorbreite beträgt 15°. Die Zellicons geben die Spezies an. hell: negative Photokinese; dunkel: positive Photokinese; Pfeil: Lichtrichtung

3.5. Bestimmung der Ausrichtung des Zellkörpers immobilisierter Ophryoglenen

Abbildung 3.17. zeigt einige Beispiele sedimentierender NiCl₂ immobilisierter Ophryoglenen. Nur 15% der Zellen sedimentieren mit dem aboralen Pol voran. 55% der Zellen sedimentieren mit dem oralen Pol voran, die restlichen 35% sedimentierten waagrecht zum Schwerkraftvektor ausgerichtet. Auffallend ist, dass nur relativ wenige Zellen exakt senkrecht mit dem oralen Pol voran sedimentieren (Abb. 3.17.E). Die meisten zeigen eine Abweichung von der senkrechten Achse um im Mittel 15° (Abb. 3.17.B). Diese Experimente wurden nur mit *Ophryoglena flava* durchgeführt. Bei den Paramecien Arten ist der Bojenefekt bekannt (Abb. 4.8.) und bei dem kugelförmigen Ciliaten *Didinium nasutum* ist eine Bestimmung mit den zur Verfügung stehenden Methoden nicht möglich.

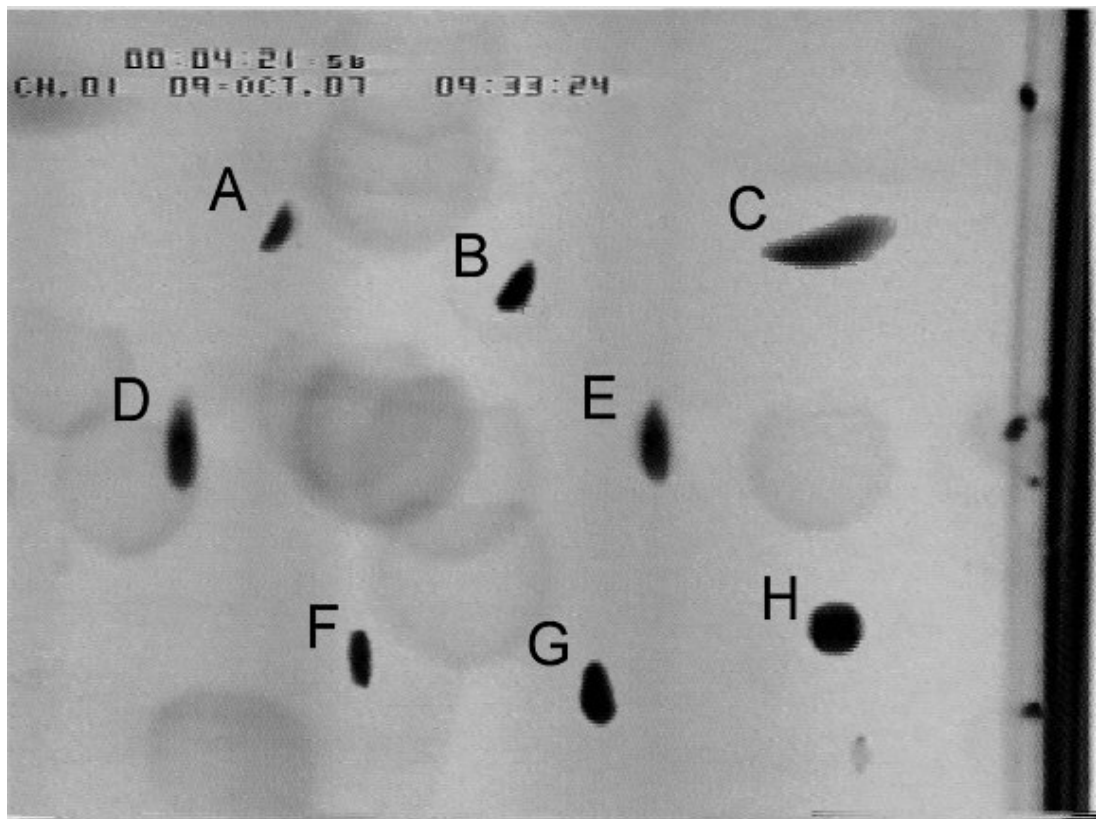


Abb. 3.17: Beispiele NiCl_2 immobilisierter sedimentierender Zellen von *Ophryoglena flava*. B, D, E, G: oraler Pol unten, A, F: oraler Pol oben, C, H: horizontal ausgerichtet

3.6. Experimente unter variablen Beschleunigungen

Durch die Teilnahme an zwei DLR Parabelflugkampagnen in den Jahren 2004 und 2007 war es mir möglich, das Verhalten der vier Ciliatenspezies unter variablen Beschleunigungen zu untersuchen. In der Parabelflugkampagne 2004 wurden Experimente mit *Ophryoglena flava* und *Paramecium aurelia*, 2007 mit *Didinium nasutum* und *Paramecium caudatum* durchgeführt. Hauptziel der Experimente war es, die Wahrnehmungsschwelle der Zellen für den Reiz der Beschleunigung zu bestimmen. Ebenfalls wurde versucht, die schwerkraftunabhängige Vortriebsgeschwindigkeit P der Zellen zu ermitteln. Außerdem dienen diese Experimentserien als Kontrollexperimente zur Klärung der Frage, ob das bei normaler Fallbeschleunigung beobachtete Verhalten der Zellen auf die Schwerkraft zurückzuführen ist.

3.6.1. Beschleunigungsabhängige Datenzahlen der Schwimmspuren

Die Abbildung 3.18. zeigt die Anzahl der bei den jeweiligen Beschleunigungen auswertbaren Schwimmspurabschnitte für nach oben/oben* und nach unten/unt* schwimmenden Zellen.

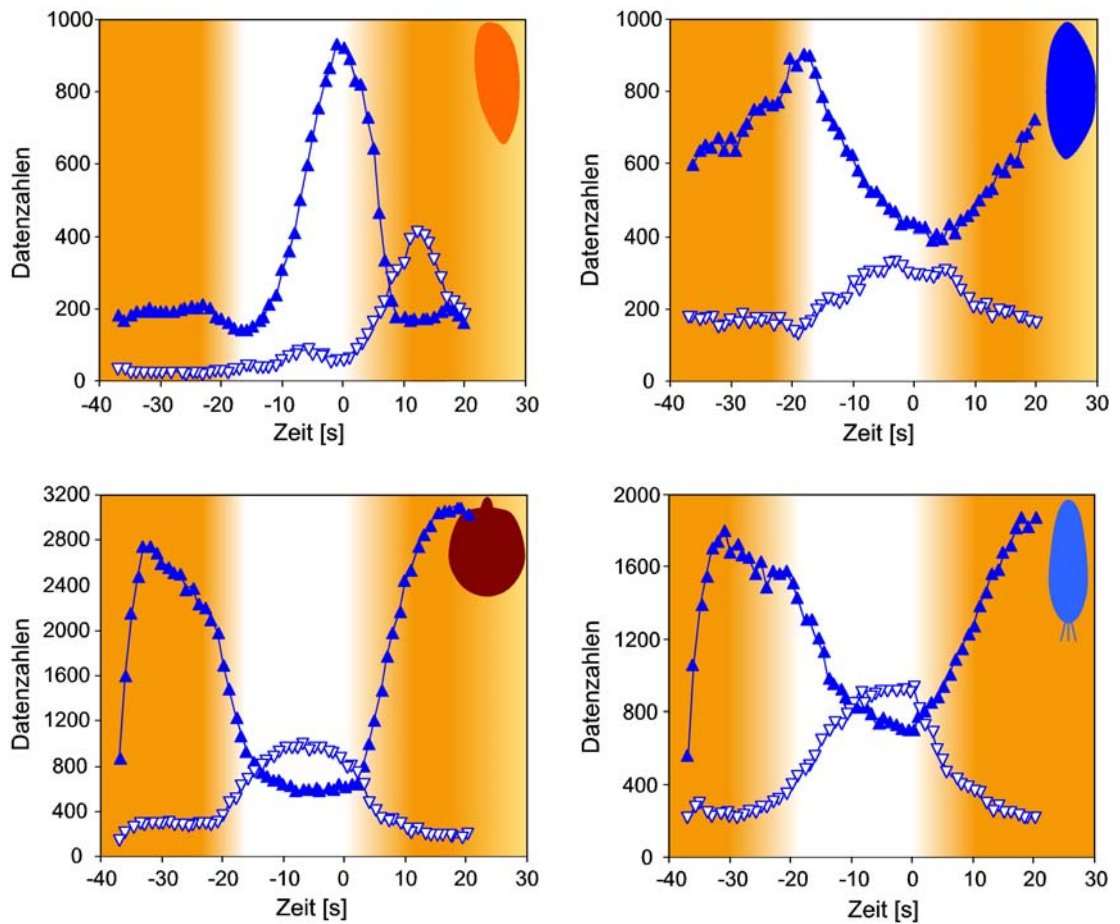


Abb. 3.18: Anzahl an ausgewerteten Daten während der Parabelmanöver. Geschlossene Dreiecke: Anzahl der Zellen, die nach oben/oben* schwammen; offene Dreiecke: Anzahl der Zellen, die sich nach unten/unt*en* bewegten. Zellenicons geben die Spezies an.

Bei *Ophryoglena flava* nimmt mit steigender Beschleunigung die Anzahl der nach oben schwimmenden Zellen leicht zu, mit Beginn von μg wird dieser Anteil noch deutlich vergrößert. Mit wieder einsetzender Beschleunigung nimmt der Anteil von nach oben schwimmenden Zellen wieder drastisch ab. Die Datenzahl der nach unten schwimmenden Zellen erreicht ihr Maximum während der zweiten hyper-g Phase. Insgesamt ist die Datenzahl der nach unten/unt*en* schwimmenden Zellen deutlich kleiner.

Bei *Paramecium aurelia* zeigt sich, dass mit steigender Beschleunigung der Anteil nach oben schwimmender Zellen deutlich zunimmt. Mit Beginn der μg Phase nimmt diese Datenzahl kontinuierlich ab, um bei wieder ansteigender Beschleunigung erneut zuzunehmen. Bei den nach unten/unt*en* schwimmenden Zellen verhält es sich umgekehrt. Hier nimmt die Datenzahl mit einsetzender Gewichtlosigkeit auf das etwa 1,5 fache zu.

Die entsprechenden Kurvenverläufe bei *Didinium nasutum* und *Paramecium caudatum* ähneln denen von *Paramecium aurelia*. Der Unterschied besteht darin, dass in der

μg -Phase mehr Zellen nach unten* als nach oben* schwimmen. Die reizrichtungsbezogenen Datenzahlen nehmen mit wieder einsetzender Beschleunigung ein einheitliches Niveau an.

3.6.2. Beschleunigungsabhängige Orientierungen

In Abbildung 3.19. sind die Orientierungskoeffizienten gegen die Zeit aufgetragen. Für ausgewählte Zeitpunkte wurden Polarhistogramme integriert.

Bei *Ophryoglena flava* nimmt der Orientierungskoeffizient mit steigender Beschleunigung bis auf $r_0=0,66$ zu. Während des Überganges von hyper-g nach μg nimmt er kurzfristig ab, um dann wieder anzusteigen. Gegen Ende der μg -Phase fällt der Orientierungskoeffizient steil ab bis zu einem Wert von $r_0=-0,26$. Während der 2. hyper-g-Phase steigt er dann wieder an.

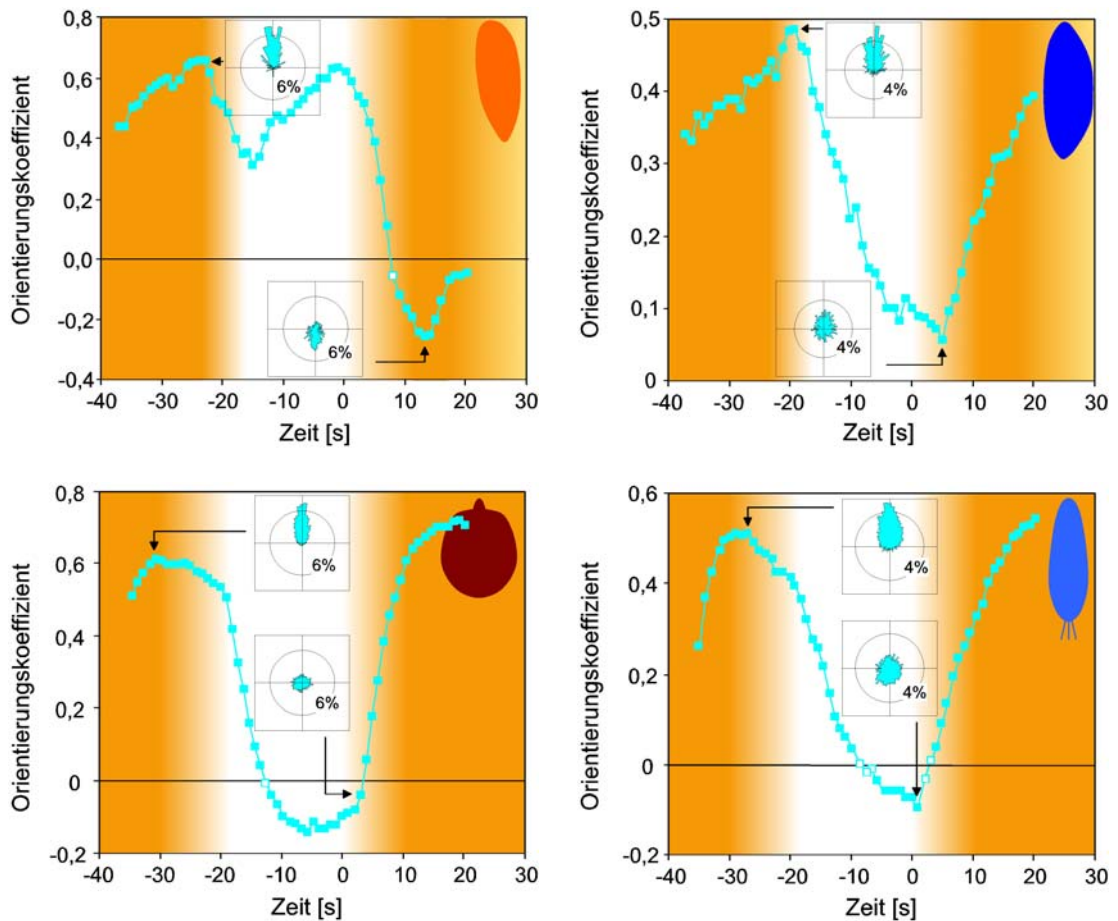


Abb. 3.19: Aufgetragen ist der Orientierungskoeffizient gegen den über alle Parabeln gemittelten Verlauf der Flugmanöver. Integriert sind exemplarische Polarhistogramme der Graviorientierung. Durch die Hintergrundfarbe wird die zum jeweiligen Zeitpunkt herrschende Beschleunigung angezeigt. Symbole nicht signifikanter Orientierungskoeffizienten sind nicht ausgefüllt. Die Zellen geben die Spezies an.

Bei *Paramecium aurelia* zeigt sich deutlich, dass die Orientierung mit steigender Beschleunigung immer präziser wird. Der maximale Orientierungskoeffizient beträgt $r_0=0,49$. Im Verlauf der μg -Phase nimmt die Präzision der Orientierung deutlich ab (bis $r_0=0,08$), um mit wieder einsetzender Beschleunigung ihren Ausgangswert zu erreichen. Die beschleunigungsabhängigen Orientierungen von *Paramecium caudatum* und *Didinium nasutum* zeigen einen fast identischen Verlauf. Bei *Didinium nasutum* liegt der maximale Betrag des Orientierungskoeffizienten bei $r_0=0,72$ und ist damit die präziseste, in dieser Arbeit gemessene Orientierung. Auffallend ist, dass bei den in der Parabelflugkampagne 2007 untersuchten Spezies (*Didinium nasutum* und *Paramecium caudatum*) die Orientierungskoeffizienten in der μg -Phase negative Werte annehmen. Dies zeigt, dass mehr Zellen nach unten* als nach oben* schwimmen.

3.6.3. Schwellenbestimmung der Graviorientierung

Abbildung 3.20. zeigt als Maß für die Präzision der Zellorientierungen die Orientierungskoeffizienten als Funktion der Beschleunigung. Die Koeffizienten der Regressionskurven sind in Tabelle 3.2. zusammengestellt. Ebenfalls ist der Korrelationskoeffizient angegeben.

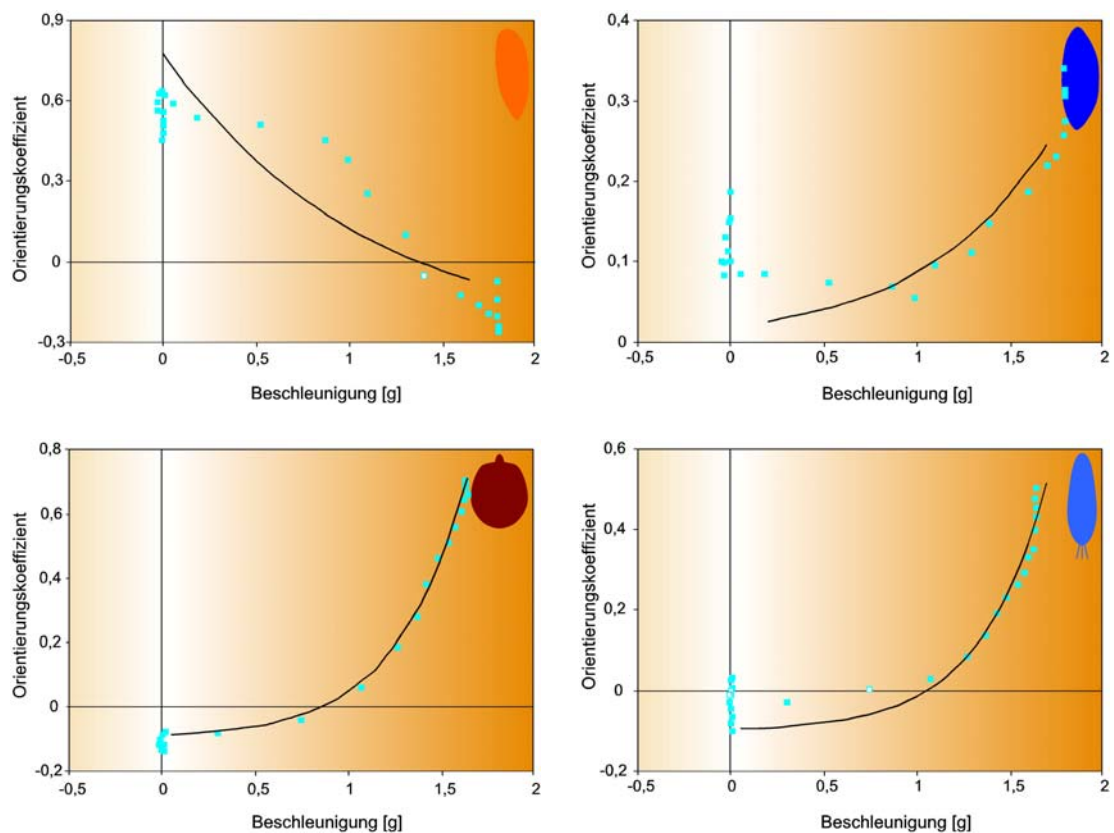


Abb. 3.20: Orientierungskoeffizienten während der Parabelmanöver. Die Zellicons geben die Spezies an. Nicht signifikante Datenpunkte sind nicht ausgefüllt. Funktion der Regressionskurve siehe Tabelle 3.2.

Für diese Auswertung wurden nur Daten ab der zeitlichen Mitte der Schwerelosigkeit bis zur maximalen Beschleunigung berücksichtigt. Auch hier zeigt sich deutlich, dass *Ophryoglena flava* eine Ausnahme bildet. Während alle anderen Spezies bei μg einen geringen (positiven oder negativen) Orientierungskoeffizienten aufweisen, ist der Wert bei *Ophryoglena flava* am größten. Mit steigender Beschleunigung nimmt die Orientierung bei *Ophryoglena flava* immer weiter ab, bis sie bei hyper-g Bedingungen negative Werte erreicht.

Die anderen Spezies zeigen dagegen bei steigender Beschleunigung einen Anstieg der negativen Graviorientierung, wobei dies bei *Paramecium caudatum* am ausgeprägtesten ist. Auffallend dabei ist, dass bei *Paramecium aurelia*, als einziger Spezies, der Orientierungskoeffizient auch bei μg Bedingungen nie unter 0 fällt.

Gleichung 3.1:
$$y = a e^{(bx)}$$

Tab. 3.2: Koeffizienten der angepassten Funktionen, r = Korrelationskoeffizient

Spezies	A	b	r
<i>Ophryoglena flava</i>	1,076	-0,921	0,888
<i>Paramecium aurelia</i>	0,019	1,497	0,941
<i>Didinium nasutum</i>	0,010	2,640	0,997
<i>Paramecium caudatum</i>	0,005	2,785	0,967

3.6.4. Beschleunigungsabhängige Schwimgeschwindigkeiten

Die richtungsabhängigen Schwimgeschwindigkeiten werden in Abhängigkeit vom zeitlichen Verlauf der Parabelmanöver in Abbildung 3.21. gezeigt. Die unterschiedlichen Ordinateneinteilungen sind zu beachten. Im Gegensatz zu den Experimenten zur Lichtperzeption sind hier die 95%-Konfidenzbereiche der Schwimgeschwindigkeiten sehr groß und unterliegen starken zeitlichen bzw. beschleunigungsabhängigen Variationen.

Auffallend ist bei *Ophryoglena flava*, dass sich die Verläufe der 95%-Konfidenzbereiche der richtungsabhängigen Schwimgeschwindigkeiten nur in den Flanken der Flugmanöver (den Übergängen von hyper-g nach μg und von μg zu hyper-g) überlappen. Die Schwimgeschwindigkeit nach oben* schwimmender Zellen nimmt in μg deutlich zu, wogegen die Schwimgeschwindigkeit nach unten* schwimmender Zellen abnimmt.

Bei *Paramecium aurelia* sind erwarteterweise die Schwimgeschwindigkeiten der aufwärts schwimmenden Zellen bei beiden hyper-g Phasen deutlich geringer als die Schwimgeschwindigkeiten der Zellen, die nach unten schwimmen. Während der Gewichtslosigkeit lassen sich erwartungsgemäß keine Unterschiede zwischen den

richtungsbezogenen Schwimmgeschwindigkeiten mehr feststellen. Daher wurden die Daten der nach oben* und unten* schwimmenden Zellen zu einem Datensatz zusammengefasst und die mediane Schwimmgeschwindigkeit berechnet. Diese entspricht der Vortriebsgeschwindigkeit P ($818 \mu\text{m/s}$; $-2/+3 \mu\text{m/s}$; $n=16.417$).

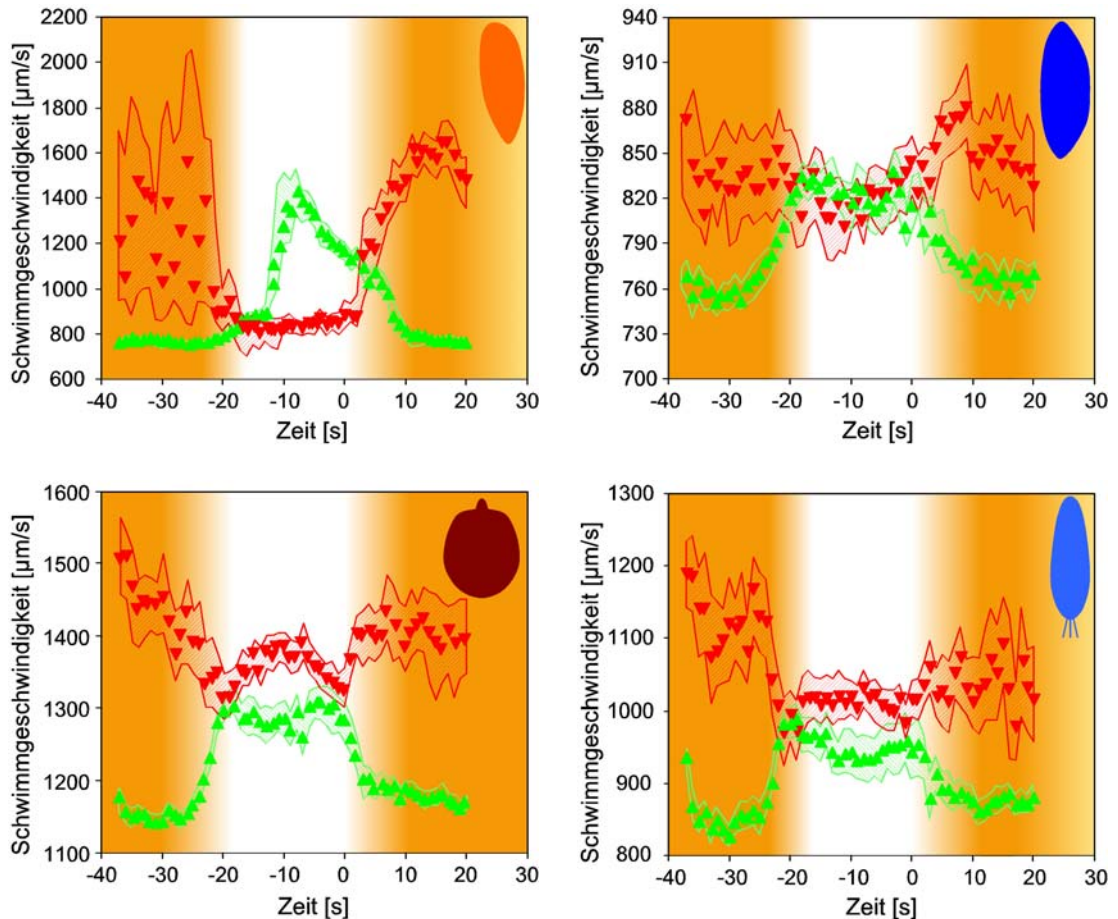


Abb. 3.21: Mediane Schwimmgeschwindigkeiten während der Parabelmanöver. Nach oben/oben*: grün, nach unten/unten*: rot. Die Icons geben die Spezies an.

Diese Berechnung konnte nur mit den Daten von *Paramecium aurelia* durchgeführt werden, da bei den anderen Spezies nicht von einer Grundgesamtheit der Schwimmgeschwindigkeiten in der μg -Phase ausgegangen werden konnte (vgl. Abbildungen 3.21., sich nicht überlappende 95%-Konfidenzbereiche).

Die Kurvenverläufe der Schwimmgeschwindigkeiten von *Didinium nasutum* und *Paramecium caudatum* gleichen während der hyper-g-Phasen denen von *Paramecium aurelia*. Jedoch sind die Schwimmgeschwindigkeiten größer; dies ist bei *Didinium nasutum* am deutlichsten ausgeprägt. Unterschiede zu *Paramecium aurelia* gibt es jedoch während der Phase der Gewichtlosigkeit:

Die 95%-Konfidenzbereiche der richtungsbezogenen Schwimmgeschwindigkeiten überlappen sich nur kurz zu Beginn sowie am Ende der μg Phasen. Im Verlauf der μg -Phase erhöhen die nach unten* schwimmende Didinien wieder ihre Schwimmgeschwindigkeit. Bei beiden Arten wurde eine leicht verringerte Schwimmgeschwindigkeit gemessen, wenn die Zellen in μg nach oben* schwimmen.

Auffallend ist, dass bei allen Spezies die 95%-Konfidenzbereiche der medianen richtungsbezogenen Schwimmgeschwindigkeiten von nach unten/unt*en* schwimmender Zellen größer sind als die der nach oben/oben* schwimmenden Zellen.

3.6.5. Beschleunigungsabhängige Gravikinesen

Abbildung 3.22. zeigt die Gravikinesen der vier untersuchten Spezies zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Flugmanöver. Für die Berechnung der Gravikinesen wurden die Werte der Sedimentationsgeschwindigkeiten entsprechend der Beschleunigung interpoliert.

Bei *Ophryoglena flava* zeigen sich während der ersten hyper-g-Phase starke Variationen im Betrag der Gravikinese. Beim Übergang zu μg nähert sich der Betrag der Gravikinese dem Wert 0, um dann in den ersten Sekunden der Gewichtlosigkeit abzufallen. Der Betrag unterliegt starken Schwankungen. In der zweiten hyper-g-Phase weist die (negative) Gravikinese einen niedrigeren und von geringeren Schwankungen geprägten Absolutbetrag auf, als im aufsteigenden Ast des Flugmanövers.

Bei *Paramecium aurelia* hingegen nimmt die Gravikinese während der Gewichtlosigkeit Werte von 0 an. Hier lassen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Geschwindigkeiten der nach oben* und nach unten* schwimmenden Zellen mehr feststellen (vgl. 3.21.). Die Angleichung der Schwimmgeschwindigkeiten beginnt schon während des Überganges von hyper-g zu μg . Der Betrag der Gravikinese ist bei *Paramecium aurelia* in beiden hyper-g Phasen fast identisch.

Bei *Didinium nasutum* liegt die Gravikinese während der hyper-g-Phase im Mittel bei $-140 \mu\text{m/s}$. In der zweiten hyper-g-Phase ist der Betrag etwas größer. Mit einsetzender Gewichtlosigkeit reduziert sich die Gravikinese zu 0. Während der μg Phase beträgt die Gravikinese aber unerwarteterweise etwa $+40 \mu\text{m/s}$, um mit ansteigender Beschleunigung wieder in etwa den Wert der ersten hyper-g Phase anzunehmen.

Die Gravikinese zeigt bei *Paramecium caudatum* einen sehr ähnlichen Kurvenverlauf wie bei *Didinium nasutum*. Der Unterschied zeigt sich im geringeren Betrag während der hyper-g-Phasen.

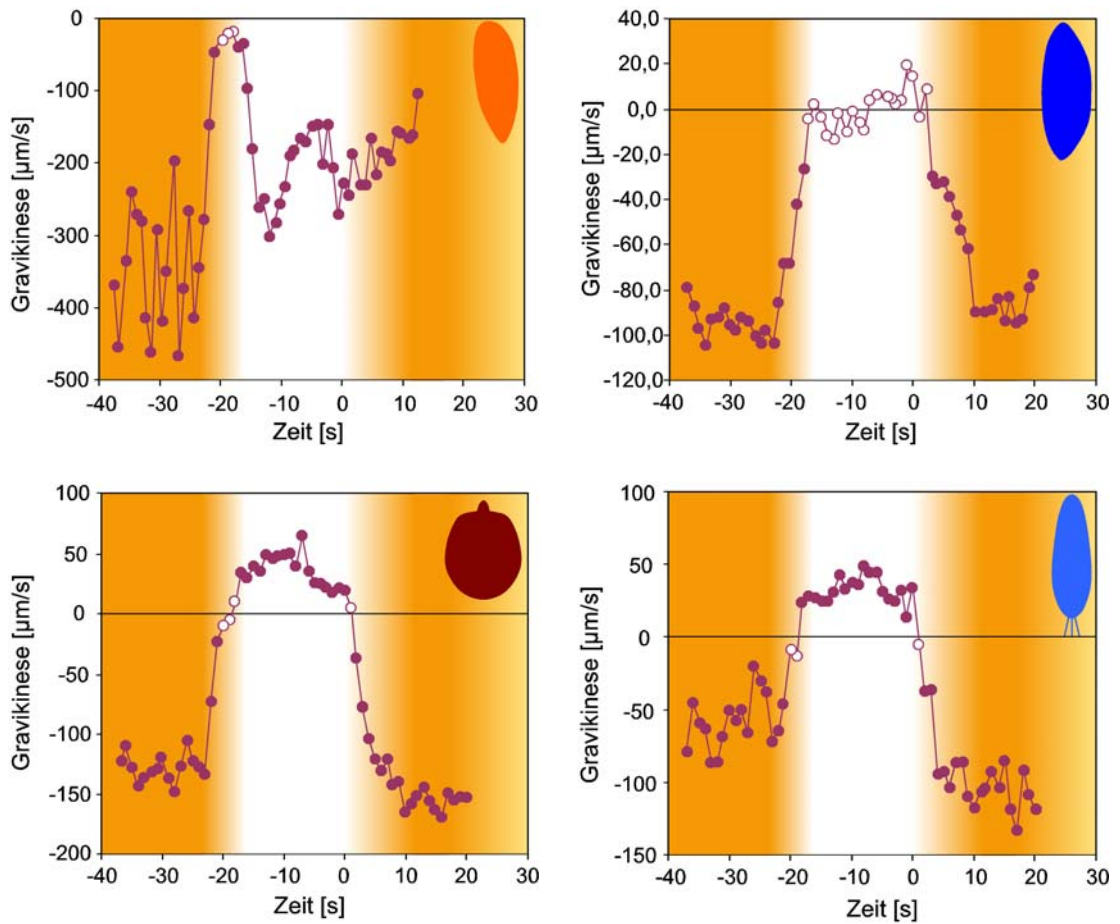


Abb. 3.22: Gravikinesen während der verschiedenen Beschleunigungen während der Flugmanöver. Die Icons geben die Spezies an.

3.6.6. Abhängigkeit der Gravikinese von der Beschleunigung

In Abbildung 3.23. sind die Gravikinesen gegen die Beschleunigung aufgetragen, wobei nur Werte ab 5 s nach Beginn der Gewichtlosigkeit bis zum Erreichen der maximalen Beschleunigung in die Berechnung integriert wurden. Zur besseren Vergleichbarkeit der Daten wurde eine Regressionsgerade an die Datenpunkte angepasst. Für die Berechnung der Regressionsgeraden wurden die Werte bei 0 g nicht berücksichtigt.

Bei *Ophryoglena flava* zeigt der sehr niedrige Korrelationskoeffizient ($r=0,08$), dass bei dieser Spezies keine Abhängigkeit der Gravikinese von der Beschleunigung bestimmt werden konnte. Bei allen anderen untersuchten Spezies liegt eine hohe Güte der Anpassung der Regressionsgeraden an die Datenpunkte vor (vgl. r in Tabelle 3.3.). Bei *Didinium nasutum* zeigt der Regressionskoeffizient (stärkstes Gefälle der Geraden), dass bei dieser Art die Reaktion auf erhöhte Beschleunigung am deutlichsten ist.

Gleichung 3.2:
$$y = a + b x$$

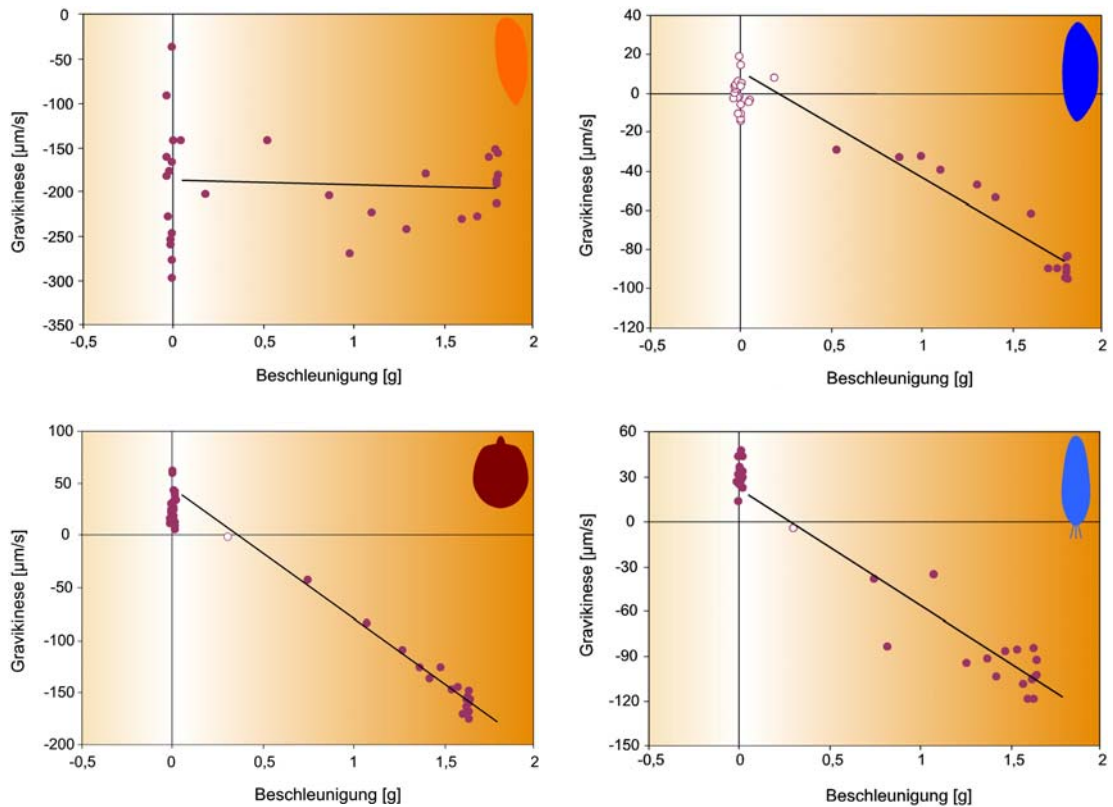


Abb. 3.23: Gravikinesen als Funktion der Beschleunigung. Das Zellicon zeigt die Spezies an. Nicht signifikante Datenpunkte sind nicht ausgefüllt.

Tab. 3.3: Koeffizienten der angepassten Funktionen, r = Korrelationskoeffizient

Spezies	a	b	r
<i>Ophryoglena flava</i>	-188,90	-4,98	0,080
<i>Paramecium aurelia</i>	11,96	-54,16	0,964
<i>Didinium nasutum</i>	49,59	-124,41	0,984
<i>Paramecium caudatum</i>	21,68	-77,34	0,913

Eine Schwelle lässt sich nicht durch eine Regressionsgrade, sondern nur durch Aufsuchen eines gerade noch signifikanten Datenpunktes ermitteln. Bei nach μg wieder ansteigender Beschleunigung konnte für *Paramecium aurelia* bei 0,53 g eine statistisch sicherbare Gravikinese bestimmt werden. Der letzte Datenpunkt, der keine signifikante Gravikinese aufweist, liegt bei 0,18 g. Daraus kann man schließen, dass die Wahrnehmungsschwelle für Beschleunigungen bei *Paramecium aurelia* zwischen 0,18 g und 0,53 g liegt (vgl. Tab. 4.1.).

Während bei *Ophryoglena flava* eine Bestimmung der Wahrnehmungsschwelle für Beschleunigung nicht möglich war, konnten für *Didinium nasutum* sowie *Paramecium caudatum* mit dieser Methode Schwellen zwischen 0,3 g und 0,75 g eingegrenzt werden.

4. Diskussion

Die folgende Diskussion ist in vier Abschnitte unterteilt. Im ersten Teil werde ich mich mit methodischen Aspekten, der Konzeption der Versuchsabläufe und den gewählten Versuchsaufbauten auseinandersetzen. Anschließend werden die Photoreaktionen der vier Spezies diskutiert. Die Daten, die während der Parabelflüge gewonnen wurden, werden danach mit bereits bekannten Ergebnissen der Gravierperzeption von Ciliaten verglichen. Abschließend werde ich mich mit der Frage nach einem allgemein gültigen Reiz-Reaktions-Prinzip bei Ciliaten beschäftigen.

4.1. Versuchsbedingungen

4.1.1. Zeitlicher Verlauf der Experimente

Vor den eigentlichen Messreihen wurde das Verhalten der Zellen in den Versuchskammern über einen längeren Zeitraum analysiert. Zwei Fragen sollten durch diese Experimentserien beantwortet werden:

- Wann zeigen die Zellen über längere Zeit konstante Schwimgeschwindigkeiten, so dass von einem weitgehend konstanten Membranpotential ausgegangen werden kann?
- Wie lange bleibt diese konstante Schwimgeschwindigkeit erhalten?

Die Spezies zeigten in den Versuchskammern ein sehr unterschiedliches, zeitabhängiges Verhalten. Dies mag mehrere Gründe haben: Eine wahrscheinliche, durch das Überführen der Zellen in die Versuchskammern hervorgerufene, Mechanostimulation muss abklingen. Dies dauert z. B. bei *Paramecium caudatum* üblicherweise 5 bis 10 Minuten (Machemer-Röhnisch und Machemer, 1989; Oka et al., 1986).

Durch den Lösungswechsel (von der Kulturlösung zur Experimentallösung) sind die Zellen einem neuen, vordefinierten Ionenmilieu ausgesetzt. Darauf reagieren die Zellen, indem sie offenbar ihre Ionenkanäle anpassen. Oka et al. (1986) zeigten, dass die Adaptation an unterschiedliche K^+ -Ionenkonzentrationen über eine Kontrolle des Leitwertes der Zellmembran geschieht und nicht über eine Änderung des Konzentrationsgradienten über die Zellmembran. Einerseits kann dies durch eine erhöhte Permeabilität einzelner Kanäle hervorgerufen werden, andererseits könnte sich die Anzahl der Ionenkanäle verändern. Die Dauer dieses Umbaus ist vermutlich artspezifisch. Für *Paramecium caudatum* werden in der Literatur vier Stunden als Adaptationszeit angegeben (Machemer, 1989; Machemer et al., 1991).

Überraschenderweise zeigte sich bei *Paramecium caudatum* bei den Vorexperimenten schon nach 100 Minuten eine konstante Schwimgeschwindigkeit. Ein Grund für die schnellere Equilibrierungszeit mag in der Kultivierung liegen. Die Arbeitsgruppe um Machemer kultivierte die Paramecien in einem Heuaufguss. Aufgrund anderer Teilungsraten der Bakterien, die als Nahrungsquelle für die Ciliaten dienen, sind die Vermehrungsraten in einem Heuaufguss größer als in einer Strohinfusion. Auch das Ionenmilieu wird unterschiedlich sein, die Kultur ist insgesamt stabiler. Daher ist es möglich, dass die Änderung der Ionenkonzentrationen in den hier beschriebenen Versuchen geringer war als bei Machemer.

Die von mir verwendeten Versuchskammern wurden selten unter Zuhilfenahme von Lösungsmitteln gereinigt. Nach einem Experiment wurde die Kammer lediglich mehrmals mit Experimentallösung gespült und gefüllt über Nacht liegen gelassen. Im Laufe der Zeit hat sich so ein die Kammeroberflächen bedeckender Mikrofilm gebildet. Dieses Milieu ähnelte vielleicht mehr der Kulturlösung, so dass die Equilibrierung der Zellen schneller abgeschlossen war. Auch ist bekannt, dass Paramecien Reaktionen mit Oberflächen eingehen können, was zu einer Inaktivierung führen kann (Kitamura, 1982; Kitamura 1986). Eine Inaktivierung wurde vielleicht durch den entstandenen Mikrofilm vermindert.

4.1.2. Versuchsbedingungen

4.1.2.1. Möglicher Einfluss mechanischer Reize

Beide Apparaturen (MIKROBA-Module und Apparatur zur Photoperzeption) sind für diese Art von Experimenten bereits erprobt und für die entsprechenden Anforderungen optimiert worden. Durch eine langsame Drehung der Kammern bei Positionswechseln (z. B. vor Beginn der Parabelmanöver) entstand wohl kaum eine Mechanostimulation, die das Zellverhalten hätte beeinflussen könnte. Da die Apparaturen häufig für verhaltensphysiologische Experimente eingesetzt worden sind, sind zudem die von mir erhobenen Daten mit älteren Ergebnissen gut vergleichbar.

4.1.2.2. Möglicher Einfluss von Licht

Um reizrichtungsbezogene Photoreaktionen der Zellen bei den Parabelflugexperimenten auszuschließen, wurden die Versuchskammern mit 48 ringförmig angeordneten Leuchtdioden beleuchtet, welche Licht der Wellenlänge 565 nm emittieren. Aufgrund dieser gleichmäßigen Beleuchtung von schräg hinten kann eine Photoorientierung ausgeschlossen werden. Selbst wenn die Zellen eine positive Phototaxis zeigen wür-

den, haben Beobachtungen in den verwendeten Versuchskammern gezeigt, dass die Zellen nicht gegen die Kammerwand schwimmen, sondern ihre Richtung ändern und sich unter diesen Bedingungen parallel zum Lichtreiz bewegen.

Eine lichtrichtungsabhängige Photokinese kann durch die gleichmäßige Beleuchtung ebenfalls ausgeschlossen werden. Daher kann das zur Dunkelfeldbeleuchtung verwendete Licht die Messergebnisse nicht beeinflusst haben, auch wenn Photoreaktionen von Ciliaten bei dieser Wellenlänge beschrieben sind (Iwatsuki und Naitoh, 1982a; Kraml und Marwan, 1983; Marangoni et al., 1994).

Ziel der Messreihen zur Photoperzeption war es, das Verhalten der Zellen bei unterschiedlichen Lichtreizen zu analysieren. Da Photorezeptoren ein definiertes Absorptionsspektrum aufweisen, wurde bei den Experimenten ein Wellenlängenbereich von 430 nm bis 670 nm lückenlos abgedeckt. Aus dem kontinuierlichen Spektrum des Linieninterferenzfilters wurden mit Hilfe der Lichtleiter Wellenlängenbereiche von je 20 nm Breite abgegriffen.

4.1.2.3. Möglicher Einfluss von Temperaturschwankungen

Während der Parabelflüge kam es zu geringen Temperaturschwankungen: Die Temperatur stieg von im Mittel 19°C beim Start auf bis zu 22°C am Ende der Parabelmanöver an. Das Membranruhepotential und der Eingangswiderstand werden bei *Paramecium caudatum* durch Temperaturschwankungen zwischen 10°C und 25°C kaum beeinflusst, wenn die Zellen über einen längeren Zeitraum bei ähnlicher Temperatur kultiviert worden sind (Martinac und Machemer, 1984). Die Kulturen, die in der vorliegenden Arbeit verwendet wurden, wurden bei ca. 19 °C gehalten, folglich ist der minimale Temperaturanstieg während der Parabelmanöver zu vernachlässigen. Freiburger (Dissertation, 2004) zeigte, dass sich das gravikinetische Verhalten von *Paramecium biaurelia* auch bei einer längeren Kältekultivierung kaum ändert. Dagegen konnte Machemer zeigen, dass sich bei plötzlichen, starken Temperaturanstiegen die Cilienschlagfrequenz deutlich erhöht (Machemer, 1972). Zwischen 19°C und 26°C zeigte sich jedoch die Cilienschlagfrequenz unbeeinflusst von Temperaturschwankungen. Daher halte ich die Auswirkung der geringen Temperaturschwankungen während der Parabelflüge für unbedenklich. Alle anderen Experimente wurden bei konstanten Temperaturen in einer Klimakammer durchgeführt.

4.1.2.4. Möglicher Einfluss von Sauerstoffgradienten

Der den Schwimmraum abdichtende Silikonschlauch bewirkt allenfalls ein gleichmäßiges, von allen Seiten konstantes Eindiffundieren von Sauerstoff. So kann eine Beeinflussung des Zellverhaltens aufgrund eines gerichteten Sauerstoffgradienten ebenfalls ausgeschlossen werden.

4.1.2.5. Kammergeometrie

In der Vergangenheit wurden Kammern mit unterschiedlichsten Formen für Verhaltensexperimente verwendet. Es wurde beobachtet, dass Ciliatenzellen ihre Schwimmrichtung immer in einem stumpfen Winkel ändern, wenn sie auf ein größeres Hindernis treffen. Zellen, die von der Mitte einer rechteckigen Kammer auf eine Wand zu schwimmen, treffen aus geometrischen Gründen mit höherer Wahrscheinlichkeit auf eine längere Kammerseite. Die Winkeländerung wird so erfolgen, dass die Mehrzahl der Zellpopulation parallel zur langen Kammerseite schwimmt (Machemer et al., 1991). Es besteht die Gefahr, dass hierdurch eine reizrichtungsspezifische Orientierung verfälscht wird.

Bei runden Versuchskammern verlassen dagegen die meisten Zellen den zentralen Schwimmraum und schwimmen entlang des Kammerrandes (Dembowski J., 1924; Machemer und Bräucker, 1992). Dies kann bewirken, dass nach kurzer Zeit in der Mitte der Versuchskammer (in der Regel ist dies der Beobachtungsraum) nur noch wenige Zellen zu sehen sind. Auch hier würde die Messung einer möglichen Taxis zumindest beeinträchtigt.

Um diese Komplikationen auszuschließen, wurden bei allen Verhaltensexperimenten in dieser Arbeit quadratische Versuchskammern eingesetzt. Die Kammern haben eine ausreichende Tiefe (ca. das 30-fache des Zelldurchmessers bei den Experimenten zur Graviperzeption und etwa das 50-fache des Zelldurchmessers bei den Experimenten zur Photoperzeption). Der Schwimmraum ist damit ausreichend tief, um hydrodynamische Wandeffekte, die sich auf die Schwimmgeschwindigkeit auswirken könnten, auszuschließen (Wu, 1977; Roberts, 1981). Andererseits stellt die Kammertiefe einen Kompromiss zwischen dem der Zelle zur Verfügung stehenden Platz und der Schärfentiefe der Abbildung dar. Bei deutlich tieferen Kammern könnte man das Bewegungsverhalten der Zellen nur mit einer 3D Spuranalyse aufzeichnen. Dies würde neben einem erheblich größeren technischen Aufwand auch eine weit geringere Datenzahl bedingen, was für die statistische Auswertung problematisch wäre.

Die von mir untersuchten Spezies zeigen eine negative Gravitaxis. In einer waagrecht montierten Versuchskammer schwimmen diese Zellen nicht gegen die Kammerdecke, sondern biegen vorher ab. Woran die Zellen die Nähe der Kammerwand erkennen, ist bisher ebenso ungeklärt wie die Frage nach der Erkennung eines anderen Individuums der Population. (Bis auf *Didinium nasutum* weichen sich einzelne Zellen aus und stoßen nicht zusammen).

4.1.3. Auswahl der Versuchszellen

Bei *Ophryoglena flava* ist das phototaktische Verhalten stark vom Entwicklungszyklus abhängig (Kuhlmann, 1993). Es wäre daher möglich, dass in den Experimenten Zellen unterschiedlicher Entwicklungsstadien die Ergebnisse beeinflusst haben, denn *Ophryoglena flava* wurde als einzige der untersuchten Spezies durch exzentrische Rotation der Petrischale in deren Mitte gesammelt. Aufgrund der Kultivierungsmethode (Fütterung nur in Schalen, in denen Theronten vorkommen) ist jedoch anzunehmen, dass die Anzahl noch nicht völlig ausdifferenzierter Zellen nur sehr gering war und bei der großen eingesetzten Datenzahl allenfalls die Streuung der Messwerte leicht beeinflusst haben könnte. Protomonten (Zellen nach der Nahrungsaufnahme) zeigen eine negative Photoorientierung. Jedoch sind diese Zellen optisch eindeutig von den Theronten zu unterscheiden und wurden nicht in die Versuchskammer überführt.

Die drei anderen Arten sammelten sich aufgrund ihres negativen gravitaktischen Verhaltens im oberen Bereich einer Wassersäule und wurden dort aufgenommen. Diese Zellpopulationen sind damit in Bezug auf die Graviperzeption selektiert: Nur Zellen, die eine ausgeprägte Gravitaxis sowie eine hinreichend große Schwimmgeschwindigkeit zeigten, sind bei den Experimenten berücksichtigt worden. So waren nach 10 Minuten noch etwa 10% der Zellen nicht im oberen Bereich der Wassersäule angekommen. Verletzte Zellen (oder Zellfragmente) sind wohl nicht mit in die Versuchskammer überführt worden, da davon ausgegangen werden kann, dass sie eine langsamere Schwimmgeschwindigkeit sowie eine schlechtere Orientierung aufweisen.

Die Zellen für diese Experimente wurden immer aus der stationären Wachstumsphase einer Kultur entnommen. Damit kann ausgeschlossen werden, dass die Geometrie der untersuchten Zellen stark variierte. Denn Taneda et al. (1987b) zeigten, dass bei *Paramecium caudatum* die Breite des posterioren Zellpols positiv mit dem Stadium der Kultur korreliert ist.

Insgesamt kann also davon ausgegangen werden, dass die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit nicht durch das Versuchsdesign oder die mögliche Selektion von Zellpopula-

tionen verfälscht wurden und - auch angesichts der großen Stichprobenumfänge - repräsentativ für die untersuchten Spezies sind.

4.2. Photoreaktionen

Alle von mir untersuchten Ciliatenarten zeigten eine positive Phototaxis. Im Folgenden werde ich erst die Photoorientierungen und anschließend die lichtrichtungsabhängigen Photokinesen diskutieren. Schließlich werden mögliche Hypothesen zur Lichtwahrnehmung vorgestellt.

4.2.1. Photoorientierung

Die Mehrzahl der Zellen aller untersuchten Spezies reagierte mit einer positiven Photoorientierung. Die Zellen bewegten sich in die Richtung des in die Versuchskammer einfallenden Lichts. Dies ist bei den Theronten von *Ophryoglena flava* am deutlichsten ausgeprägt. Lediglich bei einigen geringen Lichtintensitäten war die Photoorientierung von *Paramecium caudatum* nicht signifikant. Ein Grund hierfür ist nicht erkennbar; geringe Datenzahlen können jedoch als Ursache ausgeschlossen werden. Auch die Regressionsanalyse (vgl. 3.4.) der Beziehung zwischen Lichtintensität und Orientierung ließ es nicht zu, die ausbleibende Photoorientierung als Unterschreiten eines Schwellenwertes zu interpretieren. Bei den intensitätsunabhängig zusammengefassten Aktionsspektren, auf die ich mich im Weiteren beziehen werde, konnte bei jeder Wellenlänge eine signifikante Orientierung nachgewiesen werden.

Auch bei allen anderen untersuchten Spezies (*Ophryoglena flava*, *Didinium nasutum*, *Paramecium aurelia*) konnte kein Zusammenhang zwischen den Orientierungskoeffizienten (als Maß für die Präzision der Photoorientierung) und den verwendeten Lichtintensitäten nachgewiesen werden. Die minimale applizierte Lichtintensität war also offenbar bei jeder Wellenlänge ausreichend groß, um eine hoch signifikante Photoorientierung der Zellen zu bewirken.

Geringe Lichtintensitäten sind auch im Lebensraum der Zellen zu erwarten. Die Abnahme der Lichtintensität in einem Gewässer, die aus Absorption und Streuung des natürlichen Lichtes resultiert, wird als (vertikale) Lichtattenuation bezeichnet. Sie weist wellenlängenabhängige, exponentielle Verläufe auf (Lampert und Sommer, 1993). In Wasser sind bereits in 1 m Tiefe 65% des roten Lichtes, aber nur 0,5% des energiereicheren blauen Lichtes absorbiert. Die Abnahme der Lichtintensität ist ferner von der Wasserqualität (Algenwachstum, Schwebstoffe, gelöste Substanzen) abhängig und ist schon in ähnlichen Gewässertypen sehr unterschiedlich (Pearsall und Ulliyott, 1933). Da Ciliaten nicht in destilliertem Wasser leben, ist also im natürlichen Lebensraum eine

noch größere Attenuation zu erwarten. Weiterhin verändern Schwebeteilchen in der Luft (Staub, Wolken) die spektrale Zusammensetzung des Lichtes. Die durchschnittliche Lichtintensität in Köln beträgt etwa 1 mW/mm^2 (Auskunft des Instituts für technische Thermodynamik des DLR).

Ciliaten, die sich am Lichtreiz orientieren, müssen demnach ein sehr empfindliches Photosystem besitzen. Daher konnte ich keinen Zusammenhang zwischen der Lichtintensität und der Photoorientierung zeigen, da wahrscheinlich schon die geringsten, hinsichtlich der digitalen Bildverarbeitung noch möglichen Lichtintensitäten im Sättigungsbereich des Photorezeptors lagen. Höhere Lichtintensitäten wurden in dieser Arbeit verwendet, um einen solchen möglichen Zusammenhang zu überprüfen.

In jedem untersuchten Wellenlängenbereich wurden auch Lichtintensitäten verwendet, die denen im natürlichen Lebensraum nahe kommen. Ein erstelltes Aktionsspektrum dieser Daten zeigt einen sehr ähnlichen Verlauf wie das Aktionsspektrum der unabhängig von der Lichtintensität zusammengefassten Daten.

In den Aktionsspektren der unabhängig von der Lichtintensität vereinigten Schwimmspurdaten übersteigen die Beträge der Orientierungskoeffizienten bei *Ophryoglena flava* Theronten diejenigen, die ich in meiner Diplomarbeit bestimmt habe, deutlich (Abb. 4.1.).

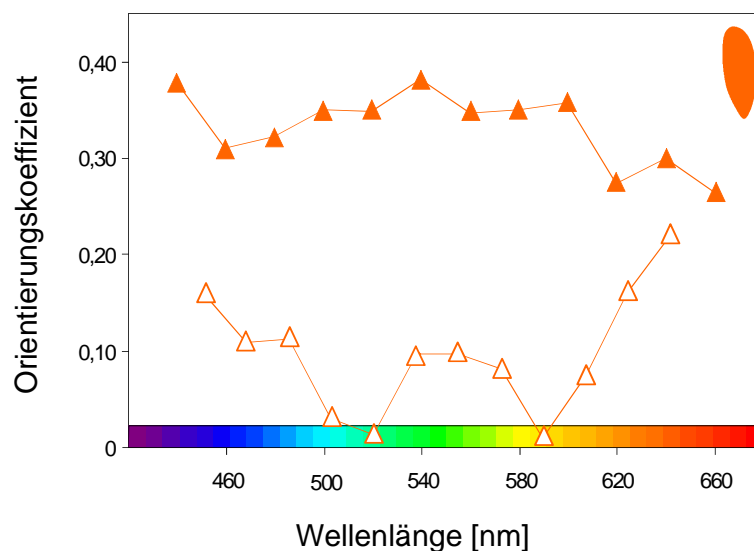


Abb. 4.1: Aktionsspektrum der Orientierung von *Ophryoglena flava* (Theronten). Offene Symbole: Diplomarbeit (Bechert, 2004), geschlossene Symbole: vorliegende Dissertation.

Gründe hierfür könnten in der abweichenden Anordnung der Lichtleiter liegen. Im Gegensatz zu den Experimenten der Diplomarbeit wurde für die Experimente zur vorliegenden Arbeit der dritte Lichtleiter in einer Dunkelfeldanordnung verwendet. Dies

war erforderlich, um auch bei geringen Lichtintensitäten noch eine scharfe Abbildung bei kleineren Zellen zu erreichen. Ferner wurde für die vorliegende Arbeit eine quadratische Versuchskammer verwendet. Bei der rechteckigen Versuchskammer, mit der in der Diplomarbeit gearbeitet wurde, ist der Aufzeichnungsbereich weiter von den Lichtleitern entfernt. Da die Lichtintensität mit dem Quadrat der Entfernung abnimmt, wird es im Aufzeichnungsbereich der quadratischen Kammer heller gewesen sein. Die in der Diplomarbeit verwendete Lichtintensität betrug am Ansatzpunkt des Lichtleiters an die Kammer bei jeder Wellenlänge $1,5 \text{ mW/mm}^2$. Vielleicht wurde hier noch im Arbeitsbereich des Photorezeptors gearbeitet. Bei dem Aktionsspektrum der Photoorientierung (Abb. 3.12.), in dem die Daten unabhängig von der Lichtintensität vereinigt worden sind, dominierten vielleicht Messwerte, welche bei einer Sättigung der Photorezeptoren gemessen worden sind. Daher geben die neueren Ergebnisse meiner Meinung nach die Photoorientierungen der Art zuverlässiger wieder.

Unterschiede im phototaktischen Verhalten könnten auch auf periodische Veränderungen innerhalb der Kultur zurückzuführen sein. Colombetti, der die in dieser Arbeit verwendete Kultur seit etwa 9 Jahren im Labor hält, konnte ähnliche Schwankungen feststellen (persönliche Mitteilung). So lassen sich die möglichen Unterschiede zwischen den Ergebnissen meiner Diplomarbeit und den etwa drei Jahre später gewonnenen Ergebnissen der vorliegenden Arbeit möglicherweise auch auf solche periodische Veränderungen zurückführen. Die Gründe für die in der vorliegenden Arbeit gefundene, ausgeprägte Photoorientierung bei *Ophryoglena flava* bleiben unbekannt. Sie sind aber mit Sicherheit nicht in den physikalischen Kulturbedingungen zu suchen, da diese unverändert waren. Die Zellen wurden im gleichen Hell- Dunkelzyklus bei identischer Beleuchtungsstärke sowie konstanter Temperatur in der Klimakammer gehalten.

Möglich wären allenfalls Änderungen in der Qualität der als Futter verwendeten Larven. Sie wurden zwar immer vom gleichen Händler bezogen, Unterschiede im Ernährungszustand der Larven sind aber nicht auszuschließen. Dies könnte Auswirkungen auf die Fähigkeit der Ophryoglenen haben, sich am Licht zu orientieren. Eine Veränderung im Gehalt der Nahrung an Fettsäuren würde möglicherweise die Lichtabsorption der Nahrungsvakuolen und des Lieberkühn'schen Organells beeinflussen. So könnte über variierende beschattende Strukturen die Photoorientierung beeinflusst werden (siehe 4.2.3.).

Die im Aktionsspektrum gezeigten Photoorientierungen aller Spezies (Abb. 3.12.) sind alle signifikant, aber gerade bei *Paramecium caudatum* weist der Orientierungskoeffizient einen sehr niedrigen Betrag auf. Jedoch stellen auch diese gering ausgeprägten

Orientierungen den Nachweis einer Photoperzeption dar, wie mit Hilfe des Rayleigh-Tests nachgewiesen werden konnte. Die hierfür erforderlichen Datenzahlen liegen vor (in Abbildung 3.12. basiert jeder Datenpunkt auf etwa 32.300 Messwerten).

Bei der Analyse der Polarhistogramme fällt auf, dass bei *Ophryoglena flava* und *Didinium nasutum* die meisten Zellen nicht direkt auf das Licht zuschwimmen. Bei *Ophryoglena flava* sind die Winkelsektoren zwischen 355° und 335° am stärksten besetzt. Bei *Didinium nasutum* zeigt sich eine deutliche Bevorzugung des linken oberen Quadranten.

Systematische Fehler für diesen Befund können ausgeschlossen werden: Da die Abweichung der bevorzugten Orientierung von der Lichtrichtung sich nur bei zwei von vier Spezies zeigt, kann man nicht von einem Fehler der Analysesoftware ausgehen. Deren korrekte Funktion ist zudem schon früher mehrmals überprüft worden (Bräucker, persönliche Mitteilung). Apparative Probleme, wie schief eingebaute Versuchskammern, können ebenfalls ausgeschlossen werden, da dies vor jedem Experiment mit einer runden Libelle geprüft worden ist. Eine mögliche Erklärung mag in dem unten (4.2.3.) diskutierten Mechanismus der Phototaxis begründet sein.

4.2.2. Schwimmgeschwindigkeiten und Photokinese

Bei allen im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Spezies konnte kein Zusammenhang zwischen genereller Schwimmgeschwindigkeit und Lichtintensität festgestellt werden.

Dagegen zeigen die Aktionsspektren der intensitätsunabhängig zusammengefassten, reizrichtungsbezogenen Schwimmgeschwindigkeiten, dass die Zellen mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten zum Licht hin bzw. vom Licht weg geschwommen sind. Dies ist nur mit einer Wahrnehmung der Lichtrichtung bei allen von mir untersuchten Spezies zu erklären, wie dies ja auch schon mit Hilfe der Analyse der Orientierungskoeffizienten bewiesen wurde.

Nach Fraenkel und Gunn (1940) wird eine Kinese als eine Geschwindigkeitsänderung definiert, welche nur von der Intensität eines Reizes abhängt, nicht aber von dessen Richtung. Die Arbeitsgruppe um Machemer (1991) konnte zeigen, dass die Gravikinese dieser Definition widerspricht: Ciliaten weisen unterschiedliche Schwimmgeschwindigkeiten auf, je nachdem wie die Zelllängsachse zum Schwerkraftvektor orientiert ist (vgl. Abb. 1.3.).

Die vorliegenden Daten zeigen eindeutig, dass die Photokinese im Lichtgradienten ebenfalls von der Lichtrichtung abhängig ist (so wie die Gravikinese vom Schwerkraft-

vektor). Dies wurde bisher nur für *Ophryoglena catenula* (Bräucker und Kuhlmann, 2000) und bei *Ophryoglena flava* (Bechert Diplom 2004) gezeigt. Möglicherweise sind Kinesen immer reizrichtungsbezogen.

Im Vergleich der vier untersuchten Spezies zeigte sich, wie auch schon bei den Photoorientierungen, dass diese Photokinese bei Theronten von *Ophryoglena flava* am ausgeprägtesten ist.

Die in Abbildung 3.15. dargestellte negative Photokinese der Theronten zeigt, dass dieser Morph langsamer auf das Licht zuschwimmt, als er entgegengesetzt der Lichtrichtung schwimmt. Die negative Photokinese ist bei langwelligem Licht schwächer ausgeprägt, als bei den meisten anderen Wellenlängen. Dies weist auf ein Absorptionsminimum eines Photopigments im roten Wellenlängenbereich hin.

Da die vertikale Lichtattenuation, wie schon erwähnt, bei rotem Licht am stärksten ist, gibt es vermutlich keinen Selektionsdruck für hohe Empfindlichkeiten von Photorezeptoren im langwelligen Bereich. Gerade die Theronten zeigen im blauen Licht die deutlichsten Photoreaktionen. Dieser sogenannte „blue light effect“ wurde auch schon bei anderen Arten beschrieben: *Blepharisma japonicum*. Kraml und Marwan, 1983, *Loxodes striatus*: Finlay und Fenchel, 2007, *Paramecium bursaria*: Matsuoka und Nakaoka, 1988, *Fabrea salina*: Marangoni et al. 1994, *Chlamydomonas mnenosyne*: Selbach und Kuhlmann, 1999.

Alle anderen von mir untersuchten Arten zeigen ebenfalls eine lichtrichtungsabhängige Photokinese. Allerdings schwimmen diese Spezies schneller auf den Lichtreiz zu als sie sich davon entfernen: Ihre positiven Photokinesen sind deutlich schwächer ausgeprägt als die negative Photokinese bei den *Ophryoglena flava* Theronten. Aus den schwächer ausgeprägten Photoreaktionen könnte man schließen, dass die Zellen der anderen Spezies sich nicht überwiegend am Licht orientieren, sondern die Reaktionen auf andere Umweltreize (insbesondere Schwerkraft) dominieren.

4.2.3. Modelle zur Lichtperzeption

Im Folgenden werden einige mögliche Mechanismen der Photoperzeption bei Ciliaten und die daran beteiligten Strukturen diskutiert.

Das in der oralen Mundhöhle von *Ophryoglena flava* lokalisierte, nierenförmige Lieberkühn'sche Organell stellt mit seiner elektronendichten und damit lichtbrechenden Matrix eine mögliche beschattende Struktur dar. (Lynn et al., 1991; Kuhlmann 1993). So könnten anteriad in den assoziierten Membranen vermutete Photorezeptoren

maximal angesprochen werden, wenn die Zelle auf den Lichtreiz zuschwimmt. Schwimmt die Zelle antiparallel zum Lichtreiz, könnten keine oder nur sehr wenige Photorezeptoren aktiviert werden, so dass keine lichtinduzierte Änderung des Membranpotentials zustande kommt (Abb. 4.4.).

Eine ähnliche Struktur findet man bei dem stigmabildenden Ciliaten *Nassula citrea*. Hier verläuft ein Membranellenband von der Mundöffnung bis ins Zentrum des gelben Augenflecks. Dieser, im linken anterioren Teil der Zelle lokalisierte Augenfleck, dient möglicherweise als beschattende Struktur. Stark hungernde Zellen, die etwa 90% der farbigen Vesikel verloren haben, sind noch in der Lage, sich phototaktisch zu orientieren, jedoch mit geringerer Präzision (Kuhlmann und Hemmersbach-Krause, 1993a).

Bei *Euglena gracilis* wird der Photorezeptor im Paraflagellarkörper vermutet (Häder, 1998). Lateral des Paraflagellarkörpers befindet sich ein leuchtend rotes Stigma. Bei der Vorwärtsbewegung schwimmen die Zellen auf einer helikalen Schwimmbahn, wobei die Geißel immer nach außen weist. Schwimmt die Zelle horizontal zum Lichtreiz, wird der Photorezeptor bei jeder Umdrehung der Schwimmbahn periodisch durch das Stigma beschattet. Dadurch wird die Geißel als Folge einer Membranpotentialänderung nach außen gelenkt, wodurch das Vorderende um einen bestimmten Winkel auf die Lichtquelle zugedreht wird (Mast, 1911).

Bei fast allen in der vorliegenden Arbeit untersuchten Lichtreizen (verschiedenste Kombinationen aus Wellenlänge und Lichtintensität sowie im Aktionsspektrum der Photokinese) zeigte sich, dass *Ophryoglena flava* eine signifikant niedrigere Schwimmgeschwindigkeit aufweist, wenn die Zelle auf den Lichtreiz zuschwimmt. Daher kann wahrscheinlich von depolarisierenden Photorezeptoren ausgegangen werden. Dies impliziert, dass die Theronten sich mit ihren „normalen“ Schwimmgeschwindigkeiten (keine lichtinduzierte Veränderung des Membranpotentials) von der Lichtquelle entfernen. Eine auf ihrer helikalen Schwimmbahn rechtwinklig zum Licht orientierte Zelle würde demnach etwa während der Hälfte jeder Umdrehung depolarisiert. Dies müsste ähnlich wie bei *Euglena* zu einer Krümmung der Schwimmbahn auf den Lichtreiz hin führen (Abb. 4.4.).

Die absoluten Schwimmgeschwindigkeiten, die im Rahmen meiner Diplomarbeit gemessen worden sind, sind insgesamt deutlich geringer als die hier gemessenen (vgl. 4.2.). Dieser Befund ließe sich im Zusammenhang mit dem Lieberkühn'schen Organell durch die Annahme depolarisierender Photorezeptoren erklären. Durch die in dieser Arbeit verwendete höhere Lichtintensität kann es sein, dass auch bei Zellen, die recht-

winklig zum Licht schwimmen, oder sich von der Lichtquelle entfernen, eine nennenswerte Zahl an Photorezeptoren aktiviert werden.

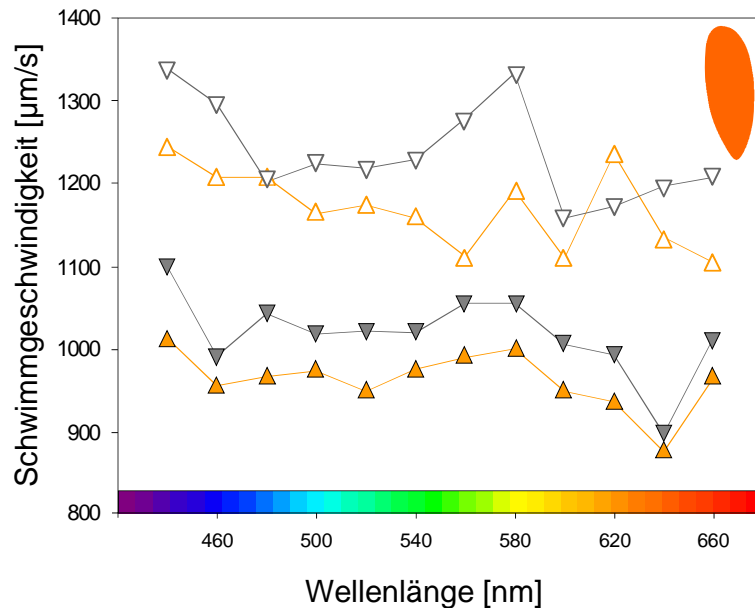


Abb. 4.2: Aktionsspektrum der richtungsabhängigen Schwimmgeschwindigkeiten von *Ophryoglena flava* (Theronten). Offene Symbole: Diplomarbeit (Bechert, 2004), geschlossene Symbole: vorliegende Dissertation. hin zum Licht: gelb, weg vom Licht: grau

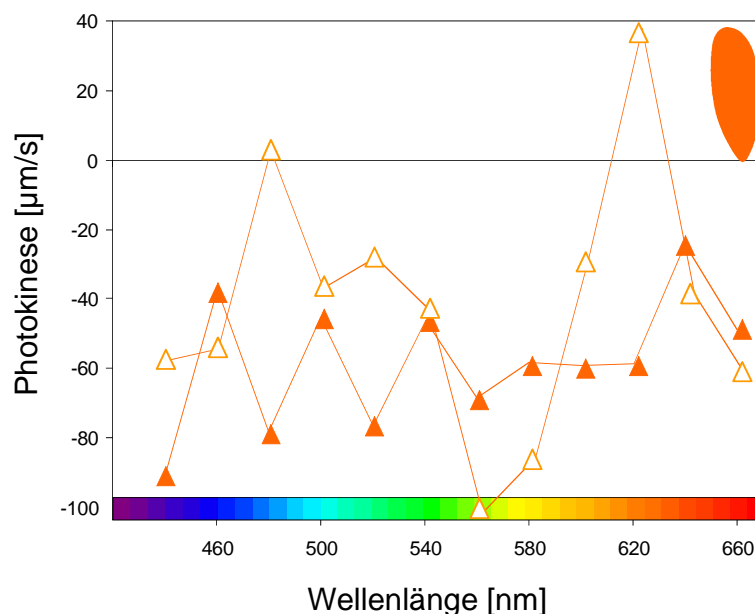


Abb. 4.3: Aktionsspektrum der Photokinesen von *Ophryoglena flava* (Theronten). Offene Symbole: Diplomarbeit (Bechert, 2004), geschlossene Symbole: vorliegende Dissertation.

Interessanterweise sind aber die Differenzen der Schwimmgeschwindigkeiten bezüglich der Lichtrichtung (Photokinese) in beiden Arbeiten ähnlich (vgl. Abb. 4.3.). Für die Gravikinese wurde eine Unabhängigkeit von den absoluten Schwimmgeschwindigkeiten bei *Paramecium caudatum* experimentell bestätigt (Machemer und Machemer-

Röhnisch, 1996). Die Datenlage legt für die Photokinesen ebenfalls eine Unabhängigkeit von den absoluten Schwimgeschwindigkeiten nahe.

Für eine effiziente Änderung des Verhaltens ist es günstig, dass die Photorezeptoren in einer Außenmembran der Zelle lokalisiert sind, da so eine Leitwertänderung der Photorezeptoren direkt eine Änderung des Membranpotentials und über die elektromotorische Kopplung eine Verhaltensänderung bewirken würde. Auf der konkaven Seite des Lieberkühn'schen Organells wurden entsprechende Membranen beschrieben. Jedoch ist keine außen liegende Zellmembran an der konvexen Seite des Organells gefunden worden. Daher ist es eher unwahrscheinlich, dass hyperpolarisierende Photorezeptoren an der konvexen Seite des Organells liegen.

Eine Lokalisation eines Photorezeptors in einer Außenmembran wäre nicht erforderlich, wenn man eine Involvierung von second messenger an der Photoperzeption annimmt (Fabczak, 1993c bei *Blepharisma* und *Stentor*). Hierzu ist jedoch bei den untersuchten Arten nichts bekannt.

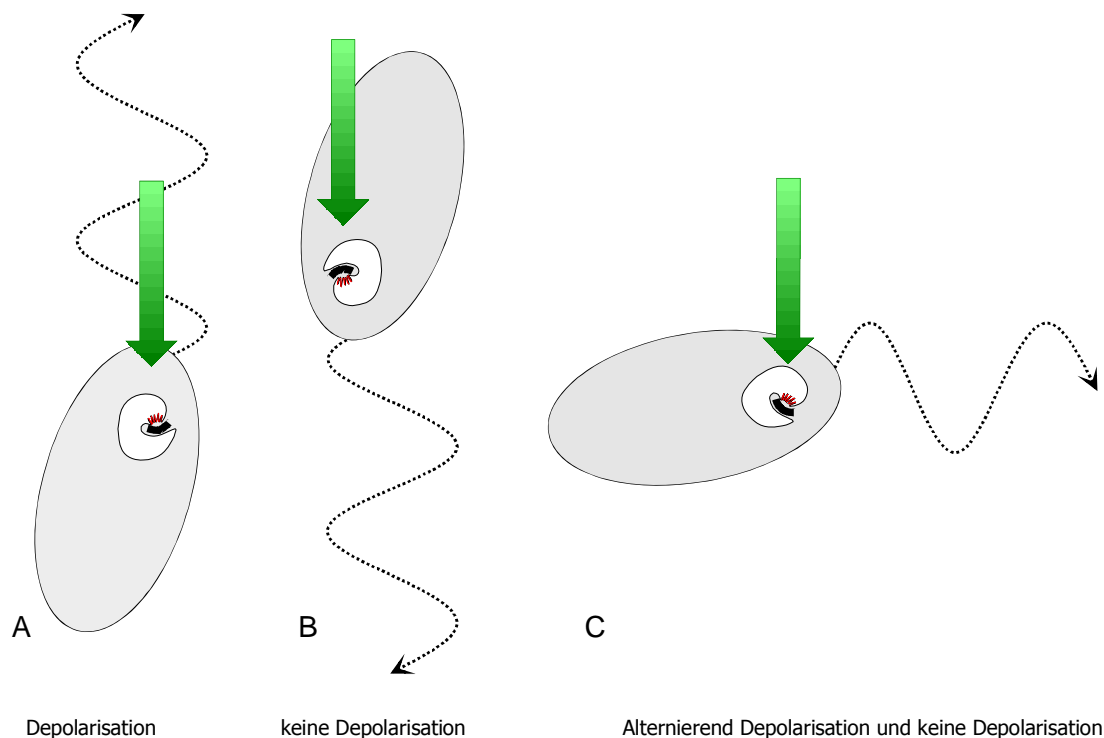


Abb. 4.4: Hypothese zur Funktion des Lieberkühn'schen Organells bei *Ophryoglena flava* (aus Bechert, Diplomarbeit 2004). Die Lichtrichtung wird durch den grünen Pfeil dargestellt. In der Mundbucht liegt das Lieberkühn'sche Organell mit seiner lichtbrechenden Struktur (schwarz) und seinen (vermuteten) depolarisierenden Photorezeptoren (rot). Schwimmt die Zelle auf das Licht zu (**A**), wird sie depolarisiert, orientiert sie sich vom Lichtreiz weg (**B**), bleibt das Membranpotential unverändert. In rechtwinkliger Orientierung zur Lichtrichtung (**C**) stellt sich durch die helikale Schwimmbewegung der Zelle alternierend eine Depolarisation ein, die eine Ausrichtung der Zelle zum Licht bewirkt.

Die konkave Wölbung des nierenförmigen Lieberkühn'schen Organells fokussiert das Licht auf die dort vermuteten Photorezeptoren. So kann Licht eines bestimmten Einfallswinkels maximal wirksam werden (vgl. Abb. 4.5.). So würde die Photoorientierung zum Licht präzisiert. Aufgrund dieser Hypothese kann ebenfalls erklärt werden, dass der maximale Betrag der Photokinese nicht bei exakter Ausrichtung der Zelle zur Lichtrichtung gemessen wurde. Wie in Abbildung 3.16. gezeigt, ist dieser um etwa 40° seitlich von der mittleren Achse verschoben. Dieser Befund stimmt mit den morphologischen Gegebenheiten überein, denn das Lieberkühn'sche Organell ist mit seiner konkaven Seite typischerweise 25° - 50° in Bezug auf die Zelllängsachse geneigt (Kuhlmann, 1998b; siehe auch Abb. 1.5.).

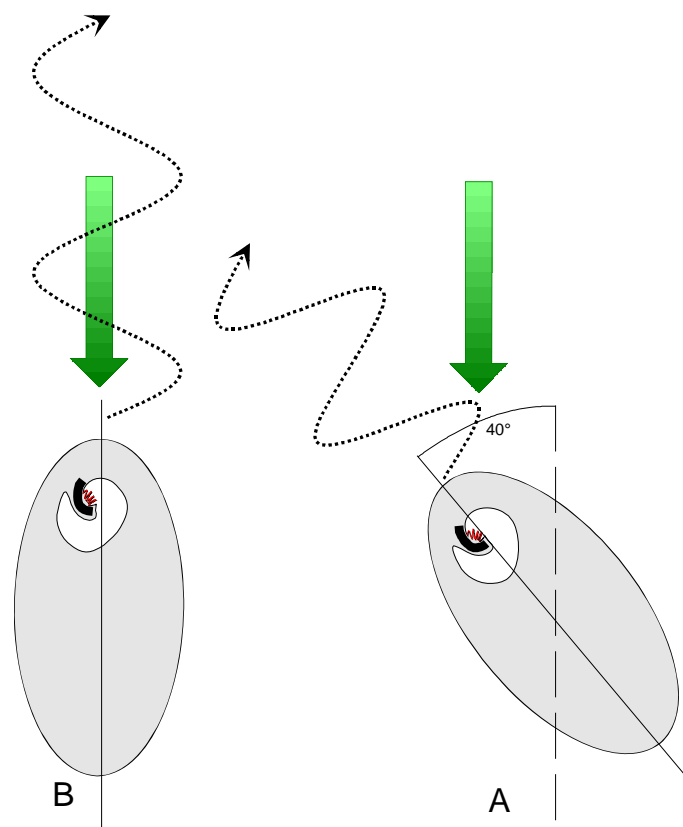


Abb. 4.5: Hypothese zur Verschiebung des Maximums der Photokinese bei *Ophryoglena flava*. **A:** Die Zelle schwimmt exakt auf die Lichtquelle zu, wobei die Photorezeptoren nur teilweise aktiviert werden können. **B:** Die Zelle schwimmt in einem Winkel von etwa 40° auf den Lichtreiz zu (die Lichtrichtung ist durch die grünen Pfeile angegeben). Die Photorezeptoren werden maximal angesprochen.

Paramecium aurelia, *Paramecium caudatum* und *Didinium nasutum* schwammen alle schneller in Richtung des Lichts. Wenn ebenfalls depolarisierende, lichtempfindliche Ionenkanäle für diese Reaktion verantwortlich wären, müssten diese posterior einer beschattenden Struktur lokalisiert sein, denn bei ungefärbten Ciliaten ist die Lichtab-

sorption des Cytoplasmas wahrscheinlich zu gering. Eine mögliche beschattende Struktur wäre der Makronukleus.

Bei den Paramecien Arten liegt dieser etwa in der Zellmitte, in räumlicher Nähe zum eingesenkten Mundfeld. So könnte der posteriore Teil des eingesenkten Mundfeldes durch den Macronucleus beschattet werden. Wenn hier depolarisierende Photorezeptoren lokalisiert wären, würde dies die lichtrichtungsabhängige Photoperzeption erklären.

Bei *Didinium nasutum* ist der Macronucleus nach lateral verschoben und könnte so Teile der posterioren Zellmembran beschatten. Auch der Proboscis könnte als beschattende Struktur in Frage kommen, wobei dann die photosensitiven Bereiche im vorderen Bereich der Zelle lokalisiert sein müssten.

Um die Natur und die Lage der Photorezeptoren genau beschreiben zu können, wären elektrophysiologische Experimente, wie sie Matsuoka (1983) sowie Kraml und Marwan (1983) durchgeführt haben, erforderlich. Die Autoren nutzen einen Lichtmikrospot um verschiedene Bereiche bei *Blepharisma japonicum* zu beleuchten. Die Ergebnisse beider Arbeitsgruppen zeigten bei *Blepharisma*, dass die anteriore Zellregion der photosensitivste Bereich ist.

4.2.4. Photopigmente

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass *Ophryoglena flava* die deutlichsten Photoreaktionen aller von mir untersuchten Spezies zeigt. Sowohl die Photokinese als auch die Photoorientierung sind im langwelligen Licht am geringsten. Der Betrag der Photokinese weist zwischen 440 nm und 540 nm starke Schwankungen auf, wogegen der Orientierungskoeffizient weitestgehend konstant bleibt.

Diese wellenlängenabhängigen Reaktionen können durch unterschiedliche Absorptionsspektren des Photopigments und des Uhrglaskörpers verursacht werden.

Bei den anderen von mir untersuchten Spezies zeigen die Aktionsspektren der Photoorientierung (Abb. 3.12.) sowie der Photokinese (Abb. 3.15.) kaum wellenlängenabhängige Schwankungen. Die Photopigmente dieser Spezies haben offenbar ein gleichmäßiges Absorptionsspektrum.

In der Literatur werden bei verschiedenen Ciliatenspezies unterschiedliche Photopigmente diskutiert. Bei *Stentor* bzw. *Blepharisma* wurden die in Pigmentvesikeln verpackten Hypericin-ähnlichen Pigmente Stentorin und Blepharismin nachgewiesen (Randall und Jackson, 1958; Matsuoka et al., 1993, Tao et al., 1994). Auch in *Fabrea salina* konnte eine Hypericin-ähnliche Chromophore identifiziert werden (Marangoni et al.,

1997; Kuhlmann, 1998b). Ferner sind Rhodopsin homologe Proteine in Ciliaten (*Paramecium bursaria*) nachgewiesen worden (Nakaoka et al., 1991).

Das Aktionsspektrum der Photoorientierung von *Ophryoglena flava* erinnert in seinem Verlauf an die Aktionsspektren der Photoakkumulation und der Membrandepolarisation von *Paramecium bursaria* (Matsuoka und Nakaoka, 1988), sowie an das Aktionsspektrum der phototaktischen Orientierung bei *Fabrea salina* (Marangoni et al., 1994). Bei beiden Spezies wird die Beteiligung eines Rhodopsin-ähnliches Moleküls für die Photosensitivität diskutiert. Das Absorptionsspektrum von Rhodopsin weist sein Maximum bei 500 nm auf. Rotes Licht (etwa 620 nm) wird wenig, blaues Licht (etwa 460 nm) hingegen stark absorbiert. Entsprechend dem Aktionsspektrum der Photoorientierung könnten Rhodopsin verwandte Pigmente für die Photoreaktionen der Ophryoglenen verantwortlich sein. Da, wie in 4.2.1. diskutiert, die spektrale Zusammensetzung des in das Teichwasser eindringenden Lichts so variabel ist, ist es für die Zelle von Bedeutung, einen Photorezeptor zu haben, der einem breiten Wellenlängenbereich absorbiert.

Viele beschriebene Photorezeptoren bewirken, wie bei den hier untersuchten Spezies vermutet, eine Depolarisation. Schwimmende *Stentor coeruleus* und *Blepharisma japonicum* (Fabczak, 2000) werden durch den Lichtreiz so stark depolarisiert, dass es zu einem „reversal“ kommt. Beide Arten zeigen eine step-up photophobic response. Bei *Paramecium bursaria* (Matsuoka und Nakaoka, 1988) sind ebenfalls depolarisierende Photorezeptoren nachgewiesen worden. Daher ist zu vermuten, dass auch bei allen von mir untersuchten Arten depolarisierenden Photorezeptoren besitzen.

4.3. Gravireaktionen bei variablen Beschleunigungen

Im folgenden Abschnitt werden zuerst die (physikalischen) Bedingungen eines Parabelfluges sowie die aus ihnen resultierenden Möglichkeiten und Grenzen diskutiert. Anschließend gehe ich auf die gravitaktischen Verhaltensweisen der vier in dieser Arbeit untersuchten Spezies ein und werde sie sowohl untereinander als auch mit Ergebnissen anderer Studien vergleichen. Da die Schwellen für eine mögliche Graviperzeption bestimmt wurden, werden zuvor die Methoden für Schwellenbestimmungen diskutiert. Anschließend werden Hypothesen zur richtungsspezifischen Wahrnehmung von Umweltreizen sowie evolutive und ökologische Aspekte diskutiert.

4.3.1. Richtungsbezogene Datenzahlen

In Abbildung 3.18. wird gezeigt, dass die Anzahl der Zellen, die in unterschiedliche Richtungen schwimmen (nach oben/oben* sowie nach unten/unten*), während des Verlaufs eines Parabelmanövers deutlich schwanken. Im Folgenden wird diskutiert, wodurch dies hervorgerufen worden sein könnte und welcher mögliche Einfluss auf die weitere statistische Analyse und Interpretation der Daten besteht.

Bräucker et al. (1994c) konnten zeigen, dass die Gravikinese (bei *Paramecium caudatum* und *Didinium nasutum*) linear mit der Beschleunigung zunimmt. Auch der Orientierungskoeffizient steigt mit steigender Beschleunigung an. Entsprechend könnte der in der vorliegenden Arbeit gefundene Unterschied in den Datenzahlen durch eine verstärkte negative Gravitaxis aufgrund der erhöhten Beschleunigung am Anfang des Parabelmanövers hervorgerufen werden. So könnte man erklären, dass die Paramecien Arten sowie die Didinien gerade im hyper-g Bereich vermehrt nach oben schwimmen. Ein Widerspruch zeigt sich jedoch bei *Ophryoglena flava* (hier bewegen sich die meisten Zellen nach unten).

Bei *Ophryoglena flava* ist der Unterschied zwischen den richtungsbezogenen Datenzahlen im hyper-g-Abschnitt im Vergleich zu den anderen Arten nicht so groß. Dies mag mehrere Gründe haben. Wie auch schon im vorangegangenen Abschnitt zur Photoperzeption diskutiert, kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Population aus Theronten verschiedener Entwicklungsstadien (z. B. mit unterschiedlich ausdifferenzierter Ciliatur) bestand.

Die Sedimentationsgeschwindigkeit der *Ophryoglena flava* Theronten beträgt 330 $\mu\text{m/s}$. Vielleicht sind viele Zellen zu schwach, um gegen die erhöhte Beschleunigung nach oben zu schwimmen. Die meisten Zellen hätten sich dann schon vor Beginn der Aufzeichnung in Richtung des Beschleunigungsvektors bewegt und können erst mit einsetzender Schwerelosigkeit wieder in das Sichtfeld des Camcorders schwimmen.

Dies würde die geringe Datenzahl nach unten schwimmender Zellen in der ersten und die erhöhte Datenzahl sich nach unten bewegender Zellen in der zweiten hyper-g-Phase erklären. Da sich am Ende der ersten hyper-g-Phase die meisten Zellen unten in der Kammer aufhalten, wird in μg die Wahrscheinlichkeit größer, Zellen aufzuzeichnen, die nach oben* schwimmen. Mit einsetzender Beschleunigung (vgl. Abb. 3.18. und 3.19.) schwammen die meisten Zellen wieder durch den Aufzeichnungsbereich nach unten. Dass die Zellen schwammen (und nicht nur sedimentierten) konnte durch einen Vergleich der beschleunigungsabhängigen Sedimentationsgeschwindigkeit mit der

Fortbewegungsgeschwindigkeit der Zellen sichergestellt werden. Die Bevorzugung der Orientierung von Ophryoglenen nach unten wird zu Beginn der hyper-g-Phase durch den stärkeren Einfluss eines Bojenprinzips verstärkt, denn im Vergleich zu den bisher untersuchten Arten wirkt bei *Ophryoglena* das Bojenprinzips umgekehrt (siehe 3.5.). Durch die Verlagerung des Schwerpunktes nach posterior entsteht bei Abweichung der Zelllängsachse von der Richtung des Beschleunigungsvektors ein Drehmoment, das bei steigender Beschleunigung weiter zunimmt.

Die in Abbildung 3.21. gezeigten größeren Konfidenzbereiche in der ersten hyper-g-Phase sind wahrscheinlich auf die unterschiedlichen Datenzahlen zurückzuführen. Hierdurch ist die Bestimmung der medianen Schwimmgeschwindigkeiten unzuverlässiger. Daher wurden diese Daten auch nicht zur weiteren Auswertung herangezogen.

4.3.3. Graviorientierungen

Mit steigender Beschleunigung steigt der Orientierungskoeffizient bei allen untersuchten Spezies an. Dieses Ergebnis war zu erwarten, da auch schon mittels eines Zentrifugenmikroskops (NIZEMI) gezeigt werden konnte, dass der Orientierungskoeffizient mit steigender Beschleunigung zunimmt. Der Zusammenhang wurde für *Paramecium aurelia* (Hemmersbach-Krause et al., 1992) sowie *Paramecium caudatum* und *Didinium nasutum* (Bräucker et al., 1994c) gezeigt. Bei allen Arten wurde ein linearer Anstieg des Orientierungskoeffizienten bei steigender Beschleunigung bis zu etwa 5 g bestimmt.

Mit einsetzender Schwerelosigkeit nimmt der Orientierungskoeffizient deutlich ab. Eine annähernde Zufallsverteilung der Zellen konnte jedoch erst mit einer Verzögerung von etwa 10 s bestimmt werden. Bei Experimenten im Bremer Fallturm (ZARM; Schwerelosigkeitsdauer 4,7 s) konnte die Arbeitsgruppe um Machemer (1992, 1993a) ebenfalls noch keine vollständige Zufallsverteilung der Zellen nachweisen. Diese Experimente wurden mit *Paramecium caudatum*, *Didinium nasutum* und *Loxodes striatus* durchgeführt. Ebenso wenig konnte im Fallschacht in Japan (JAMIC; 10 s Schwerelosigkeit) eine vollständige Zufallsverteilung der Schwimmrichtungen für *Paramecium caudatum* (Bräucker et al., 1998) und *Didinium nasutum* (Machemer-Röhnisch et al., 1998) festgestellt werden.

Auch bei den Parabelflugexperimenten konnte nach einer Schwerelosigkeitsdauer von 19 s keine anhaltend zufällige Verteilung der Zellpopulationen beobachtet werden. Bei zwei Experimentkampagnen mit Höhenraketen (TEXUS 27, TEXUS 28) wurde *Paramecien aurelia* auf Reaktionen bezüglich des Schwerkraftreizes untersucht (Hemmers-

bach-Krause et al., 1993a; Hemmersbach-Krause et al., 1994). Nach etwa 80 s im Raketenexperiment zeigte sich eine weitestgehend zufällige Orientierung der Schwimmrichtungen. Auch wenn durch die Start- und Spinbeschleunigung der Höhenrakete eine deutlichere Ausrichtung der Zellen erfolgte als in den hyper-g-Phasen der Parabelflüge zeigt dies, dass die Zellen relativ lange brauchen, bis keine bevorzugte Orientierung mehr nachweisbar ist.

Die zeitliche Abhängigkeit der Relaxation bzw. der Aktivierung der Zellorientierung beim kontinuierlichen Übergang von hyper-g zu μg bzw. von μg nach hyper-g mag mehrere Gründe haben. Nach dem Wegfall des Reizes (Schwerkraft) besteht kein Anlass für eine sofortige Richtungsänderung einer Zelle: Sie behält ihre Schwimmrichtung bei, bis ein Ereignis (zufälliges reversal, Erreichen der Schwimmraumbegrenzung, Kollision mit anderer Zelle) sie zu einer Reorientierung zwingt, welche dann zu einer zufälligen Schwimmrichtung führt.

Auffallend ist, dass der Orientierungskoeffizient beim Übergang von μg nach hyper-g schneller ansteigt, als er beim Übergang von hyper-g nach μg abfällt. Dies könnte mit dem Bojenmechanismus, der zur Ausrichtung der Zelllängsachse führt, zusammenhängen. Das Drehmoment, welches auf eine ungleiche Dichteverteilung zurückzuführen ist, erhöht sich konstant mit steigender Beschleunigung. Dadurch werden die Zellen so ausgerichtet, dass sie wieder bevorzugt nach oben schwimmen.

4.3.4. Gravikinesen

In den hyper-g-Phasen der Flugmanöver weist die Gravikinese bei *Paramecium aurelia*, *Paramecium caudatum* und *Didinium nasutum* den größten Betrag auf. Watzke et al. (1998) zeigten bereits, dass der Betrag der Gravikinese linear mit der Beschleunigung ansteigt.

Beim Übergang von hyper-g nach μg steigt die Schwimmgeschwindigkeit der nach oben schwimmenden und sinkt die Schwimmgeschwindigkeit der nach unten schwimmenden Zellen bei allen Spezies. Aufgrund der wegfallenden Sedimentationsgeschwindigkeit war dies zu erwarten. Allerdings ist bei *Ophryoglena flava* dieser Effekt am schwächsten ausgeprägt, obwohl bei dieser Spezies die Sedimentationsgeschwindigkeit die größte von allen vier untersuchten Arten ist. Ein möglicher Grund könnte in den in den Abbildungen 4.6. und 4.7. diskutierten viskoelastischen Hilfsstrukturen liegen. Durch diese Strukturen könnte man ebenfalls den Vorzeichenwechsel der Gravikinese bei *Paramecium caudatum* und *Didinium nasutum* während der μg -Phase erklären (Abb. 3.22.).

Bei *Paramecium aurelia* ist in μg statistisch kein Unterschied zwischen den richtungsbezogenen Schwimgeschwindigkeiten nachzuweisen. Erwartungsgemäß werden die mechanosensitiven Ionenkanäle nicht aktiviert, so dass es zu keiner richtungsabhängigen Modulation der Schwimgeschwindigkeiten mehr kommt. So konnte die von der Beschleunigung unabhängige Vortriebsgeschwindigkeit der Zelle (P) mit $818 \mu\text{m/s}$ bestimmt werden. Krause et al. (2006) bestimmten für *Paramecium aurelia* eine Vortriebsgeschwindigkeit von $874 \mu\text{m/s}$. Da dieselbe Apparatur und derselbe Zellstamm wie in der vorliegenden Arbeit verwendet wurden, könnte der Unterschied auf höhere Kultivierungstemperaturen zurückzuführen sein (Krauses Kampagne fand im Juni in Bordeaux statt). Auch die absoluten Schwimgeschwindigkeiten und die Gravikinese liegen in der zitierten Arbeit deutlich höher.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zur Gravikinese in wesentlichen Teilen mit der erweiterten Statocystenhypothese erklärbar sind und diese, inzwischen weitgehend akzeptierte, Theorie der Graviperzeption bei Ciliaten weiter unterstützen.

4.3.5. Das Problem der Schwellenbestimmung

Die Schwelle beschreibt die minimale Intensität eines Reizes, die von einem Rezeptorsystem wahrgenommen werden kann. Die Leistungsfähigkeit eines Sinnesorgans wird durch die beiden Kenngrößen absolute Empfindlichkeit und Auflösungsfähigkeit charakterisiert. Schwellenbestimmungen können mit verhaltensphysiologischen oder elektro-physiologischen Methoden durchgeführt werden. Eine Schwelle kann nur durch deren Über- bzw. Unterschreiten nachgewiesen werden. Die Wahrnehmungsschwelle liegt also zwischen einem nicht signifikanten und dem ersten signifikanten Datenpunkt einer Reiz-Reaktionsbeziehung.

Elektrophysiologische Schwellenbestimmungen können auf verschiedenen Ebenen von der einzelnen Rezeptorzelle, über den ableitenden Nerv eines Organs bis hin zum Verarbeitungszentrum durchgeführt werden.

Bei verhaltensphysiologischen Ansätzen zur Schwellenbestimmung wird die Reaktion auf einen Reiz betrachtet. Ein Ausbleiben der Reaktion kann nicht nur durch Unterschreiten der Wahrnehmungsschwelle, sondern auch durch Faktoren wie Motivation, Ermüdung und Lernfähigkeit des Versuchsobjekts begründet sein. So wurden bei der Hörschwellenbestimmung der Maus, in Abhängigkeit von der gewählten Methode, Hörschwellenkurven bestimmt, die um bis zu 75 dB voneinander abwichen (Markl und Ehret, 1973).

Bei Ciliaten müssen elektrophysiologische Schwellenbestimmungen naturgemäß auf der zellulären Ebene erfolgen. Die Zelle als Organismus kann auf unterschiedlichste Reize wie z. B. Temperatur, Schwerkraft, Licht und chemische Einflüsse reagieren. Verschiedenste Rezeptorpotentiale summieren sich auf der Ebene des Membranpotentials, welches dann gemessen wird.

Bei der Schwellenbestimmung aufgrund des Bewegungsverhaltens von Ciliaten werden sowohl die Schwimmgeschwindigkeit als auch die Form der Schwimmbahn analysiert. Beide können unabhängig voneinander oder insgesamt durch Reaktionen auf den untersuchten Reiz moduliert werden. Auch hier wird die Schwellenbestimmung eventuell durch andere Faktoren beeinträchtigt. Möglich wären andere Reizqualitäten, Erschöpfung von Ressourcen oder eventuell beteiligte second messenger, wie es bei der Habituation bei *Spirostomum ambiguum* diskutiert wird (Hamilton und Osborne, 1976). Die Photoreaktionen von *Paramecium bursaria* werden vermutlich durch Stoffwechselprodukte der symbiotischen Zoochlorellen moduliert (Iwatsuki und Naitoh, 1988). Weiterhin kann das Verhalten der Zelle durch morphologische Faktoren wie die Verteilung der Cilien und der Zellform (ggf. in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium) beeinflusst werden.

Auch mit verhaltensphysiologischen Methoden ist eine Schwelle nur durch deren Überschreiten zu bestimmen. Bei der großen Variabilität des Verhaltens von Ciliaten sind statistische Methoden erforderlich. Die Datenzahlen müssen sehr groß und homogen sein, um Schwellen zuverlässig eingrenzen zu können.

Gravitaxis lässt sich als Resultat von Gravikinese und Graviorientierung verstehen. Eine Gravikinese kann nur durch einen physiologischen Prozess erklärt werden. Es wäre dann zu erwarten, dass beim Unterschreiten der Schwelle die Reiz-Reaktionsbeziehung den Wert Null erreicht. Bei der Orientierung tritt das Problem auf, dass diese entweder physiologisch, physikalisch oder durch ein Zusammenwirken beider Mechanismen festgelegt sein kann. Wenn die Orientierung allein physikalisch bedingt wäre, würde man keine Schwelle erwarten. Aufgrund eines physikalischen Prozesses müsste die Reiz-Reaktionsbeziehung stetig sein und den Nullpunkt treffen. Dass bei physikalisch dominierten Prozessen dennoch eine scheinbare Schwelle gefunden werden kann, kann auch auf die Messmethode zurückzuführen sein. Eine Reiz-Reaktionsbeziehung kann ebenfalls den Wert Null erreichen, wenn die Grenze der Auflösung einer Messmethode erreicht wurde. Wenn bei einer Reaktion sowohl ein physiologischer als auch ein physikalischer Mechanismus wirkt, wird es noch schwieriger sein, sie zu bestimmen.

Auf der Grundlage dieser Überlegungen soll in den folgenden Kapiteln versucht werden, die Schwellen der Gravireaktionen zu bestimmen.

4.3.6. Schwellenbestimmung der Graviorientierungen

Im Gegensatz zu Experimenten im Fallturm oder -schacht bietet der Parabelflug die Möglichkeit, das Zellverhalten während eines kontinuierlichen Überganges von hyper-g zu μg zu untersuchen. Da aber die zeitliche Änderung der Beschleunigung im Parabelflug vorgegeben ist, war es für die Schwellenbestimmung erforderlich, von einer weitestgehend zufallsverteilten Population auszugehen. Daher wurden für die Schwellenbestimmung der Graviorientierung nur die Orientierungskoeffizienten verwendet, die zwischen der Mitte der μg -Phase und der maximalen Beschleunigung bestimmt wurden.

Bei *Paramecium aurelia* wurde der niedrigste Orientierungskoeffizient ($r_0 = 0,07$) erstaunlicherweise erst bei wieder einsetzender Beschleunigung bestimmt. Bei dieser Art kam es zu keinem Zeitpunkt zu einer Überschneidung der richtungsbezogenen Datenzahlen, selbst in μg war der Anteil nach oben* schwimmender Zellen größer, als nach unten* schwimmende Zellen. Da der Orientierungskoeffizient über die kompletten Flugmanöver statistisch sicherbar ist, konnte keine Schwelle der Graviorientierung für diese Art bestimmt werden.

Bei *Paramecium caudatum* sowie bei *Didinium nasutum* kam es im Gegensatz zu *Paramecium aurelia* zu einer Umkehr der richtungsbezogenen Datenzahlen während der μg -Phase. Es schwammen mehr Zellen nach unten* als nach oben*. Die für beide Arten berechneten Orientierungskoeffizienten schneiden nach etwa 10 s die Abszisse und nehmen negative Werte an. Dieses Phänomen wurde auch schon bei Experimenten im Fallschacht in Japan festgestellt (Machemer-Röhnisch et al., 1998). *Paramecium caudatum* und *Didinium nasutum* weisen eine höhere Schwimmgeschwindigkeit auf als *Paramecium aurelia*. So könnte man vermuten, dass die ersten Zellen, die die obere* Kammerbegrenzung erreicht haben, bei $t = -10$ s bzw. $t = -15$ s schon wieder umgekehrt sind und von oben* zurück in den Aufzeichnungsbereich schwimmen.

Einen völlig anderen Zeitverlauf zeigten die Orientierungskoeffizienten von *Ophryoglena flava*. Durch die bereits diskutierte starke Abhängigkeit der richtungsbezogenen Datenzahlen von der Beschleunigung kommt es bei dieser Art zu einem völlig unsystematischen Verlauf der Graviorientierung während der Flugmanöver.

In Abbildung 3.20. sind die Orientierungskoeffizienten der einzelnen Spezies gegen die Beschleunigung aufgetragen. Ziel war es, eine mögliche Schwelle für die Graviorientie-

rung einer Art zu finden. Sie kann zwischen einem nicht signifikanten Messwert und dem ersten signifikanten Messwert bei wieder ansteigender Beschleunigung eingegrenzt werden.

Aufgrund dieses Kriteriums kann lediglich für *Paramecium caudatum* eine Schwelle unterhalb von 1,08 g vermutet werden. Andererseits konnte bei *Paramecium caudatum* eine signifikante Graviorientierung auch schon bei 0,3 g nachgewiesen werden, was das Vorliegen einer Schwelle zwischen 0,75 g und 1,08 g unwahrscheinlich macht. Bei den anderen Arten konnte aufgrund der angeführten Kriterien keine Schwelle der Graviorientierung gefunden werden. Die zahlreichen signifikanten Punkte bei $g = 0$ sind wahrscheinlich auf eine noch nicht vollständig erfolgte Randomisierung der Schwimmrichtungen in der Schwerelosigkeitsphase zurückzuführen.

Aus den vorliegenden Ergebnissen ziehe ich den Schluss, dass die Graviorientierung bei den untersuchten Arten nicht überwiegend auf einem physiologischen Prozess beruhen kann, sondern das (physikalische) Bojenprinzip dominiert. Die versuchsweise ermittelten Regressionsfunktionen könnten einen physikalischen Zusammenhang zwischen Ausrichtung der Zelle und der Schwerkraft beschreiben, für ihre weitere Interpretation fehlen jedoch weitere Anhaltspunkte und Daten.

Es fällt auf, dass diese Funktionen die Abszisse schneiden, was bedeutet, dass die Richtung der Graviorientierung umgekehrt wird. Dies ist durch einen physikalischen Mechanismus nicht zu erklären. Ein möglicher Grund könnten die durch die Geometrie des Schwimmraums erzwungenen Richtungswechsel der Zellen sein.

Da mit den zur Verfügung stehenden Methoden nicht zu beweisen ist, dass eine Zelle nicht auf einen Reiz reagiert, kann ein physiologischer Anteil an der Graviorientierungsreaktion der Zellen nicht völlig ausgeschlossen werden. In einem vorangegangenen Parabelflugexperiment mit *Paramecium biaurelia* grenzte Krause eine Schwelle zwischen 0,4 g und 0,6 g ein (Krause et al., 2006).

Durch den kontinuierlichen Übergang von μg nach hyper-g sind Parabelflüge ein gutes Instrument, um Schwellen der Graviperzeption bei biologisch schnell reagierenden Systemen zu bestimmen (Hemmersbach et al., 2005). Eine bessere, aber ungleich aufwändigere Methode wäre der Einsatz einer Zentrifuge in Schwerelosigkeit. Hemmersbach führte ein Zentrifugenexperiment bei einer Space Shuttle Mission durch (Hemmersbach et al., 1996a, b). In dieser Kampagne wurde die Schwelle der Graviorientierung bei *Paramecium aurelia* zwischen 0,16 g und 0,3 g eingegrenzt. Die Messungen bei den verschiedenen Beschleunigungen dauerten jeweils 5 Minuten. In

dieser, im Vergleich zur μg Zeit während der Parabelflüge langen, Phase der Schwerelosigkeit konnte die Graviorientierung der Zellen wahrscheinlich vollständig relaxieren.

4.3.7. Schwellenbestimmung der Gravikinesen

Trägt man die Gravikinesen gegen die Beschleunigung auf, lässt sich eine mögliche Schwelle der Gravikinese bestimmen. Machemer et al. (1992) zeigten in Fallturmexperimenten, dass (bei *Paramecium caudatum*) erst nach etwa 4,5 s μg Zeit eine Gravikinese statistisch nicht mehr sicherbar ist. Für die Schwellenbestimmung wurden daher in der vorliegenden Arbeit nur Daten, die im Zeitraum zwischen 5 s nach Beginn der Schwerelosigkeit und dem Erreichen der maximalen Beschleunigung ermittelt wurden, verwendet.

Für *Paramecium aurelia* wurde eine signifikante Gravikinese bei einer minimalen Beschleunigung von 0,53 g bestimmt, die Wahrnehmungsschwelle wird niedriger sein (Abb. 3.23.). Krause et al. (2006) bestimmten die Schwelle für eine Gravikinese bei 0,4 g. Bei der Kampagne 2004 (bei der die Daten der vorliegenden Arbeit für *Paramecium aurelia* erhoben wurden) wurde der Beschleunigungswert 0,4 g nicht überprüft, denn zur Gewährleistung einer größeren Datenzahl und Messung längerer Schwimmspuren wurden breitere Beschleunigungsklassen gewählt.

Die von mir ermittelte Schwelle liegt auf einem ähnlichen Niveau wie sie schon mittels eines Zentrifugenmikroskops (NIZEMI) während eines Space Shuttle Fluges bestimmt worden ist. Hier konnte die Arbeitsgruppe um Hemmersbach et al. (1996a) die Schwelle der gravikinetischen Reaktion bei *Paramecium biaurelia* bei unterhalb von 0,6 g eingrenzen.

Da die Gravirezeptoren schon bei dieser geringen Beschleunigung ansprechen, ist hier von einem extrem empfindlichen System auszugehen. In Tabelle 4.1. werden die ermittelten Schwellen der Gravikinese und die dafür auf der Grundlage von Machemer (Machemer et al. 1998; Bräucker und Hemmersbach, 2001) berechneten gating-energies sowie der Abstandsfaktor zum thermischen Rauschen zusammengestellt.

Machemer-Röhnisch et al. (1996) vermuten aufgrund der Empfindlichkeit des Systems reizverstärkende Strukturen, möglicherweise corticale Filamente, welche in Verbindung mit den mechanosensitiven Ionenkanälen stehen.

Tab. 4.1: Zusammenstellung der Schwellenwerte der Gravikinese einiger Ciliatenspezies, Abschätzung der gating-energy zur Aktivierung der Rezeptorkanäle bei dieser Beschleunigung sowie den Abstandsfaktor zum thermischen Rauschen. Berechnung entsprechend Machemer et al., 1998; Bräucker und Hemmersbach, 2001.

Art	Schwellenwert der Gravikinese [g]	gating energy bei Schwelle [J]	Abstandsfaktor zum thermischen Rauschen
<i>Ophryoglena flava</i>	?	?	?
<i>Paramecium aurelia</i>	0,53	9×10^{-20}	50
<i>Paramecium caudatum</i>	0,75	3×10^{-19}	140
<i>Didinium nasutum</i>	0,75	9×10^{-19}	460

Im Gegensatz zu *Paramecium aurelia* haben die Gravikinesen bei *Paramecium caudatum* und *Didinium nasutum* in der μg -Phase der Parabelflugmanöver ein positives Vorzeichen. Dies bedeutet, dass die Zellen schneller nach unten* schwimmen als nach oben*. Bei *Ophryoglena flava* dagegen klingt die Gravikinese in Schwerelosigkeit nicht ab (daher konnte auch keine Schwelle der Gravikinese bestimmt werden). Alle diese Befunde widersprechen den theoretischen Überlegungen, denn bei Wegfall eines Reizes muss auch das Ausbleiben einer Reaktion postuliert werden. Wenn nach der „speziellen Statocystenhypothese“ die Gravikinese allein auf die Charakteristik von Mechanorezeptoren zurückzuführen wäre, wären Reaktionszeiten von längstens 25 ms zu erwarten, denn diese Reaktionszeiten wurden für Mechanorezeptoren an Ciliaten elektrophysiologisch gemessen (Naitoh und Eckert, 1973; De Peyer und Machemer, 1978). Verschiedene Autoren führen die langsame Ansprechzeiten der Gravireaktionen auf die Involvierung von Hilfsstrukturen zurück (Bräucker et al., 1998 und Machemer-Röhnisch et al., 1998, Machemer, 1998; 1999).

Dies könnten viskoelastische Strukturen sein, die zwischen Cytoplasma oder Zellorganellen und den Gravirezeptoren vermitteln, vgl. Abbildungen 4.6. und 4.7.

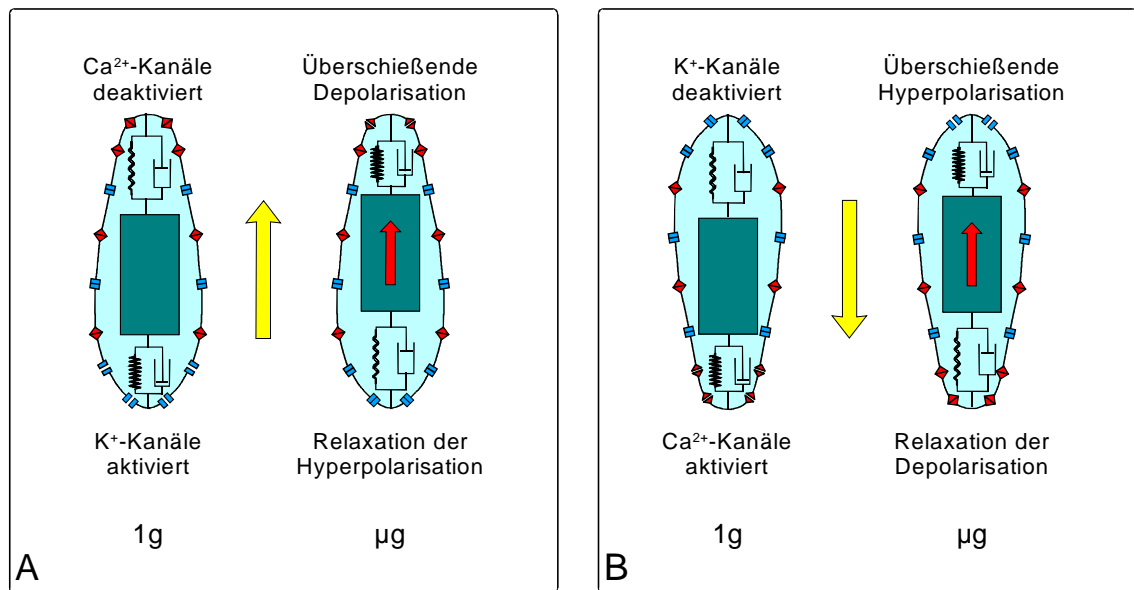


Abb. 4.6: Schematische Abbildung (nach Bräucker et al., 1998) zur hypothesierten Erklärung der Relaxation einer Gravikinese sowie deren Vorzeichenwechsel beim Übergang zu μg für *Paramecium caudatum*. Viskoelastische Elemente („Stoßdämpfer“, hier symbolisiert durch Federn und hydraulischen Zylinder) am oralen und aboralen Zellpol verbinden die Masse des Cytoplasmas (dunkles Rechteck) mit der Zellmembran, in der die mechanosensitiven Ionenkanäle lokalisiert sind. Bei 1 g werden die unten liegenden Kanäle durch eine Auswärtsdeformation der Zellmembran aktiviert. (depolarisierende Mechanorezeptoren: rot; hyperpolarisierende Mechanorezeptoren: blau) **A**) Eine nach oben schwimmende Zelle wird bei 1 g hyperpolarisiert. Beim Übergang zu μg wird das System entlastet. Aufgrund der Massenträgheit wirkt kurzfristig eine Beschleunigung auf die anteriore Zellmembran (roter Pfeil). Die resultierende Verformung führt zur Aktivierung der depolarisierenden Ionenkanäle. Das Summenmembranpotential ist nun leicht depolarisiert was zu einer Reduktion der Schwimmgeschwindigkeit nach oben* schwimmender Zellen führt. **B**) Bei nach unten schwimmenden Zellen sind die depolarisierenden mechanosensitiven Ionenkanäle aktiviert. In Analogie zu (A) wird der „Stoßdämpfer“ beim Übergang zu μg entlastet und durch eine Deformation der posterioren Zellmembran (nach außen) werden die hyperpolarisierenden mechanosensitiven Ionenkanäle aktiviert. Dies führt zu einer Erhöhung der Schwimmgeschwindigkeit nach unten* schwimmender Zellen. Die Dämpfungseigenschaften der viskoelastischen Strukturen bestimmen das Schwimmverhalten während der folgenden Zeit in μg . Die gelben Pfeile geben die Schwimmrichtung an.

Die vorgestellte Hypothese wird durch meine Ergebnisse unterstützt, da auch in der μg -Phase der Parabelflüge die Änderung der Schwimmgeschwindigkeiten unerwartet langsam erfolgte und unstete Schwankungen der richtungsabhängigen Schwimmgeschwindigkeiten auftraten.

Der Parabelflug bietet eine längere μg -Zeit als Fallschächte, so dass die am Ende der μg -Zeit gemessenen Schwimmgeschwindigkeiten vielleicht die vollständige Relaxation der Gravikinese repräsentieren. Möglicherweise liegt die Dämpfungszeit dieses Systems im Bereich von 19 s (vgl. Abb. 3.21.).

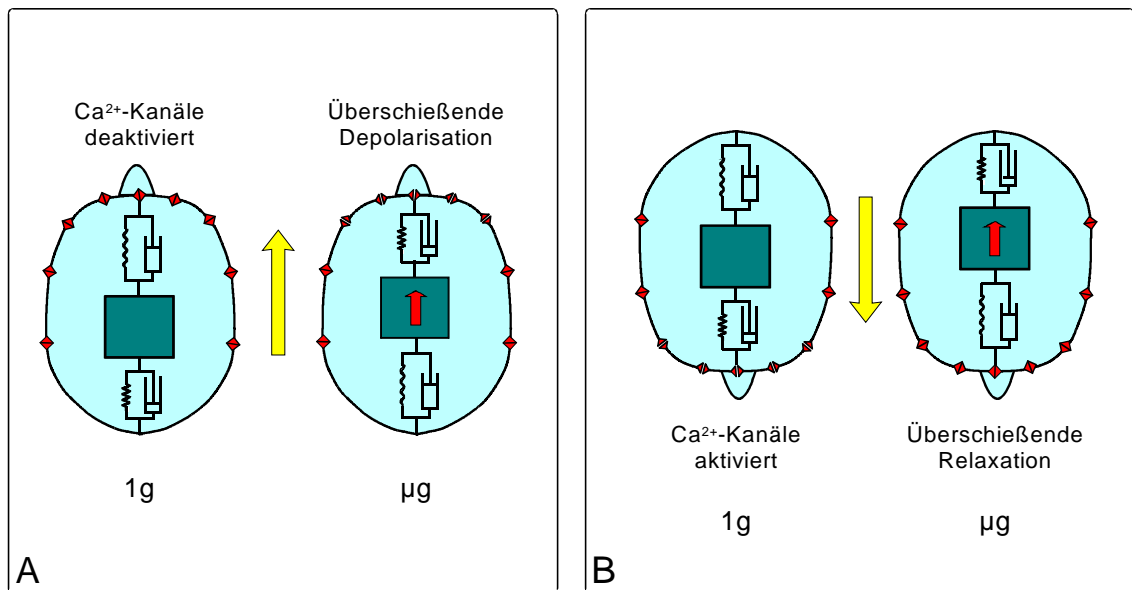


Abb. 4.7: Schematisches Diagramm (nach Machemer-Röhnisch et al., 1998) zur Erklärung der Relaxation der Gravikinese sowie deren Vorzeichenwechsel bei Übergang zu μg für *Didinium nasutum*. Der vermutete Mechanismus ist ähnlich wie in Abbildung 4.6. Jedoch besitzt *Didinium* keine hyperpolarisierenden Mechanorezeptoren (depolarisierende Mechanorezeptoren: rot). **A)** Beim Übergang zu μg bewirkt dies eine Verringerung der Schwimgeschwindigkeit einer nach oben* schwimmenden Zelle. **B)** Eine nach unten schwimmende Zelle wird entsprechend beim Übergang zu μg beschleunigen.

4.4. Taxien

Im folgenden Kapitel werden die Mechanismen, die zu einer Taxis führen, diskutiert. Dabei wird besonderes Gewicht auf die Gravitaxis gelegt. Die Phototaxis wurde bereits ausführlich im Kapitel 4.2.3. diskutiert. Chemotaxis und Thermotaxis werden vergleichend behandelt.

Der Begriff Taxis leitet sich von dem griechischen Wort Taxos (τάχος = Ordnung, Schlachtreihe) ab. Taxis beschreibt eine gerichtete Bewegung in Bezug auf einen Reiz. Der Begriff wird in der Verhaltensforschung nicht einheitlich verwendet. Prinzipiell werden in der Literatur zwei verschiedene Konzepte diskutiert:

Nach dem Begriffsverständnis von Lorenz und Köhler beschreibt eine Taxis nur die orientierende Wendung des Tieres (Vogel und Angermann, 1977). Ein Beispiel ist die Phonotaxis bei Heuschrecken. Die Tympanalorgane der Heuschrecke sind in den Beinen lokalisiert. Die Heuschrecke ist daher nur in der Lage, Schallrichtungen wahrzunehmen, wenn sie sich nicht bewegt. So richtet sich ein Weibchen ohne Fortbewegung nach dem Zirpen eines Männchens aus. Nachdem es sich in diese Richtung fortbewegt hat, bleibt es wieder stehen, um sich erneut auszurichten. Eine sitzende Kröte, durch deren Sichtfeld ein Wurm bewegt wird, dreht nur den Kopf, ohne sich auf den Wurm zuzubewegen.

Nach Kühn wird die Taxis folgendermaßen definiert (zitiert nach Schöne, 1983): „Die Orientierungsreaktionen der vielzelligen Tiere...sind Reflexbewegungen. Die Reaktion beruht auf der Verknüpfung bestimmter Reizaufnahmestellen mit bestimmten Teilen des Bewegungsapparates durch das Nervensystem“. Dabei unterscheidet Kühn Orientierung und Fortbewegung. Bei Ciliaten ist die Verhaltensanalyse auf das Bewegungsverhalten beschränkt. So beschreibt er die Phobotaxis, welche man heute als Serie von reversals bezeichnen würde.

Für Ciliaten beschreibt der Begriff Taxis nach meinem Verständnis eine gerichtete Bewegung (eines Individuums oder einer Population) in Bezug auf eine vektorielle Reizquelle. Als zur Taxis führenden Mechanismen verstehe ich aktive Orientierung, die passive Ausrichtung der Zelllängsachse (ggf. durch physikalische Mechanismen) und eine reizrichtungs- und reizintensitätsabhängige (aktive) Kinese. Diese Mechanismen können einzeln oder in Kombinationen wirksam sein.

4.4.1. Gravitaxis

So beruht auch die Gravitaxis offensichtlich auf zwei Phänomenen: einer passiven Ausrichtung der Zellachse (oder einer Orientierungsreaktion) und einer Gravikinese, der Anpassung der Schwimgeschwindigkeit in Abhängigkeit von dieser Ausrichtung zum Schwerkraft- bzw. Beschleunigungsvektor. Dass es sich um unabhängige, zur Gravitaxis führende, Mechanismen handelt, wurde schon in früheren Untersuchungen vermutet. Die Arbeitsgruppe um Machemer et al. (1993b) zeigte für *Paramecium caudatum* eine Unabhängigkeit zwischen Gravikinese und Graviorientierung bei unterschiedlichen Sauerstoffkonzentrationen. Freiburger (1997, 2004) kommt zu ähnlichen Vermutungen aufgrund ihrer Verhaltensanalysen nach der Kältekultivierung von *Paramecium biaurelia* Zellen.

Gravikinese ist immer ein aktiver Prozess. Wenn sie allein zur negativen Gravitaxis führen soll, muss die Sedimentationsgeschwindigkeit überkompensiert werden. Durch zufällige Reorientierungen und eine richtungsabhängig erhöhte Schwimgeschwindigkeit (hier nach oben) würde die Population sich im oberen Bereich der Wassersäule aufhalten. Dieses Phänomen kann als „biased random walk“ bezeichnet werden. Wenn die Gravikinese ein negatives Vorzeichen hat, aber die Sedimentationsgeschwindigkeit nicht überkompensiert, begünstigt sie die Ausbildung einer negativen Gravitaxis.

Ausrichtung bzw. Orientierung kann durch einen physikalischen Vorgang oder eine physiologische Reaktion erfolgen. Eine physikalische Ausrichtung der Zelle, etwa durch einen Bojenefekt, kann durchaus allein eine negative Gravitaxis bewirken (wenn die

Zelle nach oben ausgerichtet wird). Aktive Orientierungen der Zellen sind durch Asymmetrien von Antriebszentrum und Schwerpunkt der Zelle vorstellbar („Vortriebshypothese“, Winet und Jahn, 1974). Eine ungleiche Wirkung der Ciliatur konnte Nagel (1993) bei *Loxodes striatus* nachweisen. Ähnlich wie bei der Phototaxis wären spezielle gravisensorische Organelle (z. B. Müller'sche Körper) denkbar.

Die negative Gravitaxis bei den Paramecien Arten ist offenbar auf einen Bojenefekt sowie eine negative Gravikinese (jedoch mit nur partieller Kompensation der Sedimentationsgeschwindigkeit) zurückzuführen. Hinweise auf eine aktive Orientierung wurden nicht gefunden.

Die negative Gravikinese von *Didinium nasutum* überkompensiert die Sedimentationsgeschwindigkeit ebenfalls nicht. Inwieweit die Schwimmrichtung auf einem physikalischen oder physiologischen Mechanismus beruht, ist nicht geklärt.

Im Gegensatz zu den Paramecien sedimentieren *Ophryoglena flava* Theronten mit dem oralen Pol voran. Dieser Bojenefekt ist stark ausgeprägt, würde allerdings zu einer positiven Gravitaxis führen (die nicht beobachtet wurde). Die Gravikinese bei 1 g (-181,5 $\mu\text{m/s}$) kompensiert die Sedimentationsgeschwindigkeit (330 $\mu\text{m/s}$) bei weitem nicht (Bechert, 2004). Also muss ein anderer Mechanismus, der zur Orientierung des Zellkörpers führt, postuliert werden. Die Orientierung der Theronten im Schwerefeld könnte sich nach der „Vortriebshypothese“ erklären lassen (Winet und Jahn, 1974). Die Autoren postulieren, dass das Antriebszentrum einer Zelle nach anterior verschoben ist. Dadurch würde beim Vorwärtsschwimmen ein Drehmoment erzeugt, so dass die Zelle mit ihrem anterioren Zellpol nach oben ausgerichtet wird. Diese Form der Orientierung setzt zwar die Fortbewegung der Zelle voraus, wäre daher eventuell als Gravitaxis im Köhler'schen Sinne zu verstehen, da jedoch nicht die Wahrnehmung der Richtung des Schwerkraftvektors, sondern morphologische Gegebenheiten die Orientierung bedingen würde, könnte man auch hier nicht von einer aktiven Graviorientierung sprechen.

Baba (Baba et al., 1991) vermutet für die Orientierung von *Paramecium* einen aktiven Prozess unter Beteiligung von Gravirezeptoren in der Zellmembran. Bei jeder Umdrehung der helikalen Schwimmbahn wird, seiner Hypothese nach, die Form der Helix moduliert, so dass ein nach oben gerichtetes Schwimmen resultiert. Babas Hypothese rückt hier im Sinne einer räumlich und zeitlich wirkenden Gravikinese in die Nähe der speziellen Statocystenhypothese.

Lediglich für *Loxodes striatus* ist ein aktiver Mechanismus der Graviorientierung (mit Hilfe des Müllerkörpers) belegt.

Abbildung 4.8. fasst die bekannten Daten der Kompensation der Sedimentationsgeschwindigkeit durch die Gravikinese sowie Richtung des Bojenefektes und Belege über eine aktive Graviorientierung für acht Ciliatenspezies zusammen. Die Daten legen den Schluss nahe, dass keine systematische Korrelation zwischen Zellgröße und der Kompensation der Sedimentationsgeschwindigkeit durch die Gravikinese besteht.

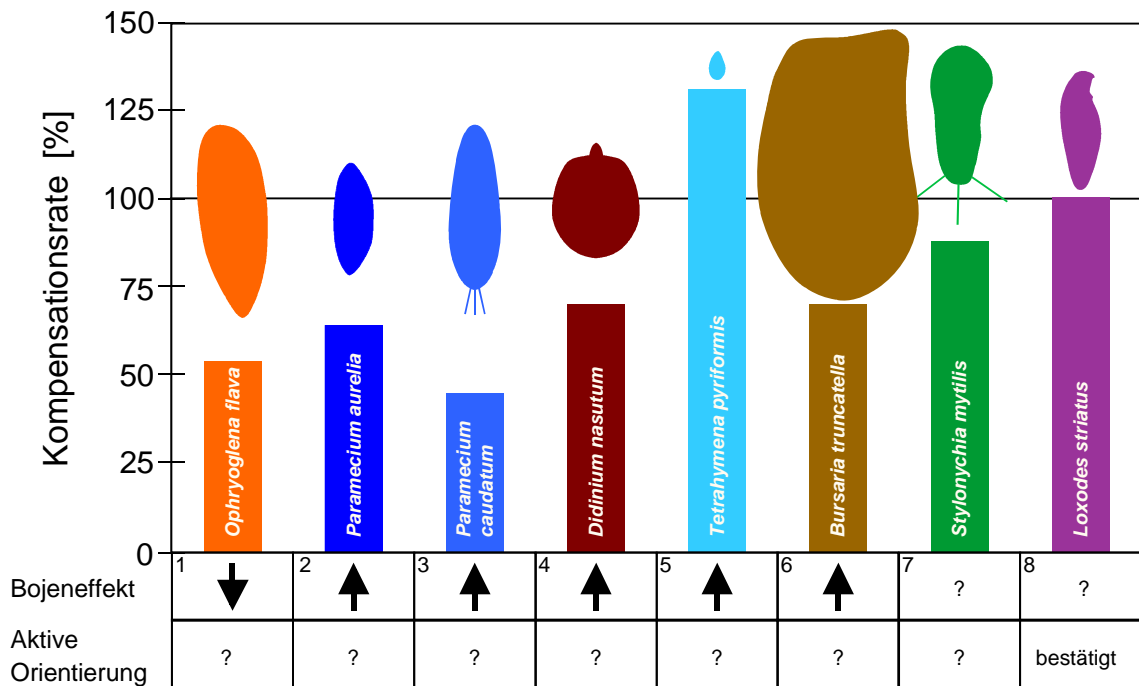


Abb. 4.8: Kompensation der Sedimentationsgeschwindigkeit durch eine Gravikinese bei den bisher untersuchten Ciliatenarten. Falls bekannt, ist die Ausrichtung der Zelllängsachse sedimentierender Zellen (Hinweis auf einen Bojeneffekt; Pfeilspitze: Richtung des anterioren Zellpols) und eine eventuell beteiligte aktive Orientierung angegeben. Die Umrissszeichnungen der Zellen sind – bis auf *Bursaria truncatella* – maßstabsgerecht. *Bursaria* ist etwa doppelt so groß wie gezeichnet. 1) Bechert, 2004 und vorliegende Arbeit; 2) Nagel und Machemer, 2000; 3) Machemer et al., 1991; Kuźnicki, 1968; 4) Machemer et al., 1993a, Bräucker et al., 1994c; 5) Kowalewski et al., 1998; 6) Krause, 1999; Krause und Bräucker, 2008; 7) Krause, 2003; 8) Bräucker, 1991; Bräucker et al., 1992

4.4.2. Thermotaxis, Chemotaxis

Die Thermoperzeption wurde bei *Paramecium caudatum* (Inoue und Nakaoka, 1990; Tominaga und Naitoh, 1993) und *Paramecium multimicronucleatum* (Kuriu et al., 1996) mit Hilfe elektrophysiologischer Methoden untersucht. Weiterhin bestimmte die Arbeitsgruppe um Nakaoka (1987) die Reversalraten bei unterschiedlichen Temperaturen.

Bei beiden Spezies wurden sowohl depolarisierende als auch hyperpolarisierende thermosensitive Ionenkanäle nachgewiesen. Diese Kanäle sind, ähnlich wie die Gravirezeptorkanäle, asymmetrisch angeordnet. Kälteempfindliche Rezeptoren sind im anterioren Bereich, wärmeempfindliche Rezeptoren posterior lokalisiert. Die Gradienten der

Kanalverteilung sind gegenläufig zu den Gradienten der mechanosensitiven Ionenkanäle. So finden sich im anterioren Teil der Zelle Ca^{2+} - und im posterioren Teil K^{+} - spezifische Thermorezeptorkanäle. Der Nachweis von reizspezifischen Kanälen legt den Schluss nahe, dass auch andere Reizqualitäten durch modifizierte Zellstrukturen oder Rezeptorkanäle wahrgenommen werden, die möglicherweise prinzipiell asymmetrisch verteilt sein müssen. Eine denkbare Thermorezeption aufgrund von Veränderungen von chemischen Aktivitäten innerhalb der Zelle (Q_{10} -Regel) würde die Wahrnehmung aller Reizqualitäten beeinflussen und scheint nicht realisiert zu sein.

Eine ebenfalls asymmetrische Verteilung ist auch bei den chemosensitiven Ionenkanälen bei *Paramecium caudatum* elektrophysiologisch nachgewiesen worden (Oami, 1998). Bei Kontakt des anterioren Bereichs der Zelle mit Bitterstoffen wurde eine Depolarisation gemessen. Wurden die Bitterstoffe mit dem posterioren Teil der Zelle in Kontakt gebracht, konnte dagegen eine Hyperpolarisation beobachtet werden. Die elektrophysiologisch gemessenen Amplituden der Reaktionen waren mit der Konzentration der Substanz korreliert. Die Zelle ist demnach in der Lage, sowohl auf die Richtung als auch auf die Intensität eines chemischen Reizes zu reagieren. Mit verhaltensphysiologischen Methoden konnte Oami zeigen (1996), dass die Zelle an einer Grenzschicht zu einer Lösung, welche Bitterstoffe enthält, eine Vermeidungsreaktion (reversal) ausführt. Dies bewirkt ein Chemodispersal der Population.

Bei *Paramecium tetraurelia* konnte ein von anterior nach posterior verlaufender Gradient der Chemosensitivität nachgewiesen werden (Preston und van Houten, 1987), wobei diese anterior am stärksten ausgeprägt ist. Dies ist plausibel, da dieser Bereich den ersten Kontakt mit einer möglichen Schadschubstanz hat. Auch bei dieser Art wurde beobachtet, dass durch die Änderung der Reversalfrequenz an der Schadschubstoffgrenze günstige Lebensräume bevorzugt werden (van Houten, 1978, 1979). So zeigt sich, dass auch bei der Chemotaxis aufgrund einer asymmetrischen Verteilung von Rezeptorkanälen eine Reizrichtungswahrnehmung möglich ist.

4.5. Evolutive und ökologische Aspekte

Die Perzeption der Schwerkraft als einzigen konstanten Umweltfaktor ist für den Einzeller eine wichtige Fähigkeit, um Lebensräume mit für ihn günstigen Umweltbedingungen aufzusuchen. Die in der vorliegenden Arbeit diskutierten Mechanismen der reizrichtungsabhängigen Modulation der Schwimmggeschwindigkeiten (Gravikinesen) können dies im Zusammenhang mit der Bevorzugung einer Schwimmrichtung gewährleisten.

Es zeigte sich, dass der Betrag der Gravikinese direkt von der Beschleunigung abhängt. Bräucker (Bräucker et al., 1994c) konnte bei *Paramecium caudatum* und *Didinium nasutum* in Zentrifugenexperimenten einen linearen Anstieg der Gravikinese mit steigender Beschleunigung nachweisen. Ähnliches konnte Krause (2003) bei *Stylonychia mytilus* zeigen, siehe hierzu auch die Werte der hyper-g-Phasen bei den Parabelflügen (vgl. Abb. 3.22.). Diese Tatsache ist insofern bemerkenswert, als dass während der gesamten Evolution die Schwerkraft der Erde konstant war. Durch die Bestimmung der Schwellen der Gravikinesen wurde in der vorliegenden Arbeit bestätigt, dass die graviperzipierenden Strukturen auch schon durch Reize unterhalb von 1 g aktivierbar sind.

Wenn die Schwerkraftwahrnehmung für viele Ciliaten überlebenswichtig ist, stellt sich die Frage, ob die Ausstattung mit Gravirezeptoren nicht schon auf einer sehr frühen Phase der Evolution vorhanden war. Die Mechanorezeptoren von Ciliaten könnten dann davon abgeleitete Strukturen sein. Aufgrund des oben erläuterten Empfindlichkeitsbereichs von Gravirezeptoren ist jedoch anzunehmen, dass die Mechanorezeptoren die ursprünglicheren Rezeptoren sind. Im Laufe der Evolution wird es wohl keinen Selektionsvorteil durch die Perception von erhöhten Beschleunigungen gegeben haben. Die Wahrnehmung von mechanischen Reizen hingegen ermöglicht der Zelle, Hindernissen auszuweichen.

Durch bestimmte Lebensweisen einiger Ciliatenspezies kann es einen Selektionsdruck gegeben haben, der zur Entwicklung von spezialisierten Organellen zur Reizwahrnehmung geführt hat. So ist der in der Einleitung diskutierte Müller'sche Körper bei *Loxodes striatus* wohl eine sekundäre Bildung, die es der auf Substrat lebenden Art ermöglicht, auch in Kontakt mit Oberflächen gleitend den Schwerkraftvektor wahrzunehmen, denn die somatischen Gravirezeptoren würden bei dieser Fortbewegungsweise ständig aktiviert.

So könnte ebenfalls das Lieberkühn'sche Organell, welches die Wahrnehmung der Lichtrichtung verbessert, als eine spezielle Anpassung zu verstehen sein. Als histophage Ciliat ernährt sich *Ophryoglena flava* von Cladoceren, Aas und Insektenlarven. 5% aller Eintagsfliegenlarven sind mit *Ophryoglena flava* infiziert (Gaino und Rebora, 2000).

Die Theronten finden ihre Nahrung in den oberen Wasserschichten (Kuhlmann, 1992). Das Aufsuchen dieses Bereichs ist durch die Fähigkeit, die Schwerkraft wahrzunehmen über beliebige Entfernungen möglich. Auf kürzere Entfernungen wird das Verhalten

durch Lichtrichtungswahrnehmung verstärkt. Auf sehr kurze Distanz kommt höchstwahrscheinlich ein chemotaktisches Verhalten hinzu, wodurch die präzise Ortung der Nahrung möglich wird.

Die Tomonten (Zellmorph, der gerade Nahrung aufgenommen hat) setzen sich auf dem Substrat ab, um in die Teilungsphase überzugehen. Kuhlmann (1993) diskutiert ein Umschalten der Phototaxis und führt dies auf die zahlreichen Nahrungsvakuolen zurück. Die Bildung von Nahrungsvakuolen und die Veränderung der Zellform werden wahrscheinlich auch einen möglichen Bojenefekt beeinflussen. Hinzu kommt vielleicht auch der Umbau der Ciliatur. Diese konträre Verhaltensform, die bei demselben Individuum allein vom Entwicklungszustand abzuhängen scheint, zeigt, dass bei Arten wie *Ophryoglena* die Taxien und Kinesen schnell veränderbaren Entwicklungsprozessen unterliegen können.

Als phylogenetisch alte und dennoch komplexe Einzeller zeigen Ciliaten Reaktionen auf die unterschiedlichsten Umweltreize. Dort, wo sie ein Überleben der Spezies begünstigen, findet man sehr spezifische Reaktionen, die sich sogar periodisch mit dem Entwicklungszyklus ändern können. Spezialisierte Strukturen wie gradientenförmig angeordnete, reizspezifische Rezeptoren oder komplexe Zellorganelle haben sich hier entwickelt. Andererseits scheinen große Bandbreiten der Reizwahrnehmung dort erhalten geblieben zu sein, wo auch im Lebensraum stark wechselnde Bedingungen herrschen. Die Ausstattung von Einzellern mit Rezeptorkanälen war offensichtlich bereits auf einem frühen Stadium abgeschlossen, denn trotz mehr als einer Milliarde Jahre wirksamer Selektionsprozesse finden sich heute zahlreiche Parallelen zwischen der Ciliatenzelle und selbst hoch spezialisierten Metazoenzellen. Ciliaten sind daher ausgezeichnete und gleichzeitig leicht zugängliche Modellsysteme für zelluläre Reizaufnahme und -verarbeitung.

5. Zusammenfassung

Vier Ciliatenspezies (*Ophryoglena flava*, *Didinium nasutum*, *Paramecium aurelia*, *Paramecium caudatum*) wurden mit verhaltensphysiologischen Methoden auf ihre Reaktionen bei variablen Beschleunigungen (Parabelflüge mit Beschleunigungen von $1,8 \text{ g}$ bis μg) sowie bei unterschiedlichen Lichtreizen (verschiedene Kombinationen aus Wellenlängen und Lichtintensitäten) untersucht. Aus den reizbedingten Veränderungen der Schwimgeschwindigkeiten wird auf die Funktion von spezifischen Rezeptoren und Änderungen des Membranpotentials geschlossen.

Alle untersuchten Arten zeigten eine eindeutige Phototaxis, die vermutlich auf zwei Mechanismen zurückzuführen ist: Photoorientierung und Photokinese. Die Photoorientierung aller Populationen war positiv, die Mehrheit der Zellen schwamm auf die Lichtquelle zu. Alle Arten zeigten ebenfalls eine lichtrichtungsabhängige Schwimgeschwindigkeitsänderung. Diese reizrichtungsbezogene Photokinese widerspricht der üblichen Definition von Kinesen. Sie stimmt jedoch mit der Definition der Gravikinese überein, die ja ebenfalls von der Richtung des Beschleunigungsvektors abhängt. Es wird diskutiert, ob Kinesen nicht grundsätzlich richtungsabhängig sind.

Die Phototaxis von *Ophryoglena flava* resultiert wahrscheinlich aus der Funktion einer speziellen Struktur, des Lieberkühn'schen Organells.

Die schon bei mehreren Ciliaten nachgewiesene Gravitaxis wurde in Parabelflugkampagnen weiter untersucht. Die Ergebnisse stehen im Einklang mit der speziellen Statocystenhypothese. Schwellen für die Graviperzeption ließen sich für *Paramecium aurelia* (unter $0,53 \text{ g}$), *Paramecium caudatum* und *Didinium nasutum* (unter $0,75 \text{ g}$) bestimmen. Möglichkeiten und Grenzen einer Schwellenbestimmung der Graviperzeption bei Ciliaten in Parabelflügen werden diskutiert. So war für *Ophryoglena flava* mit dieser Methode keine Schwellenbestimmung möglich.

Die Ausbildung von Taxien (Ergebnis von aktiven Prozessen (Kinese, Orientierung) und/oder passiver Ausrichtung) scheint prinzipiell asymmetrische Strukturen vorauszusetzen. Es ist offensichtlich, dass auch für Spezies auf einem frühen Entwicklungsstand, wie Ciliaten, die Wahrnehmung von Richtung und Intensität eines Reizes von entscheidender phylogenetischer und ökologischer Bedeutung ist.

6. Literaturverzeichnis

- Baba S.A., Tatematsu R., Mogami Y. (1991): A new hypothesis concerning graviperception of single cells and supporting simulated experiments. *Biol. Sci. Space* 5: 290-291
- Batschelet E. (1981): Circular statistics in Biology. In: Mathematics in Biology (Ed.: Sibson R., Cohen J.E.) Academic press, London, New York: S. 3-353
- Bechert J. (2004): *Ophryoglena flava*: Reaktionen auf Schwerkraft und Licht. Diplomarbeit. Universität Bonn
- Beers, C.D. (1937): The viability of ten-year-old *Didinium* cysts (Infusoria). *Am. Nat.*,71: 521-525
- Beran A., (1983): Lebenszyklus und Ultrastruktur von *Ophryoglena atra*. Diplomarbeit der Fakultät für Biologie, Universität Tübingen
- Bick, H. (1972a): Ciliated Protozoa. An illustrated guide to the species used as biological indicators in freshwater biology. World Health Organisation, Geneva. 198pp
- Bick, H. (1972b): Ciliata. – Binnengewässer, 26: 31-83
- Bräucker R., Machemer H., Machemer-Röhnisch S. (1991): Gravitaxis in *Loxodes*. *Biological Science in Space* 5 (4) 286-287
- Bräucker R., Machemer-Röhnisch S., Machemer H. (1992): Gravity-controlled gliding velocity in *Loxodes*. *Europ. J. Protistol.* 28: 238-245
- Bräucker R. (1994a): New modules for microgravity experiments. *Proceedings of the C.E.B.A.S. Workshop Annual Issue 1994*: 25-28
- Bräucker R. (1994b): Behavioural changes of *Paramecium* and *Didinium* exposed to short-term microgravity. *Adv Space Research* 16 (7): 231-234.
- Bräucker R., Machemer-Röhnisch S., Machemer H. (1994c): Gravitaxial responses in *Paramecium caudatum* and *Didinium nasutum* examined under varied hypergravity conditions. *J. Exp. Biol.* 197: 271-294
- Bräucker R., Murakami A., Ikegaya K., Yoshimura K., Takahashi K, Machemer-Röhnisch S., Machemer H. (1998): Relaxation and activation of graviresponses in *Paramecium caudatum*. *J. Exp. Biol.* 201: 2103-2113
- Bräucker, R., Kuhlmann, H. W. (2000): Phototaxis und Photokinese bei *Ophryoglena catenula*. 19. Wiss. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Protozoologie, Göttingen
- Bräucker, R., Hemmersbach, R. (2001): Graviperception in Ciliates - A comparative approach. IX. International congress of Protozoology, Salzburg 2001 p 62 (15-19.07.2001)
- Cadetti L., Marroni F., Marangoni R., Kuhlmann H.W., Gioffré D., Colombetti G. (2000): Phototaxis in the ciliated protozoan *Ophryoglena flava*: dose-effect curves and action spectrum determination. *J. Photochem Photobiol.* 57: 41-50
- Colombetti G., Bräucker R., Machemer H. (1992): Photobehaviour of *Fabrea salina*: responses to directional and diffused gradient-type illumination. *J. Photochem. Photobiol. B* 15: 253-257
- Corliss J.O., Daggett P.M. (1983): *Paramecium aurelia* und *Tetrahymena pyriformis*: current status of the taxonomie and nomenclature of these popularly known and widely used ciliates. *Protistologica* 19: 307 – 322
- Davenport C.B. (1897): Experimental morphology. Macmillan Publ. Co., New York, 1-509
- Deitmer J.W., Machemer H. (1989): Ion channels and behaviour: Ciliates as cellular models. In *Biological Signal processing*; VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim
- Dembowski J. (1924): Über die Bewegungen von *Paramecium caudatum*. *Arch. Protistenkd.* 47: 25-54
- De Peyer J.E., Machemer H. (1978): Hyperpolarizing and depolarizing mechanoreceptor potentials in *Stylonychia*. *J. Comp. Physiol.* 127: 255-266
- Diehn, B., Feinleib, M., Haupt, W., Hildebrand, E., Lenci, F. and Nultsch, W. (1977): Terminology of behavioral responses of motile microorganisms. *Photochem. Photobiol.* 26: 559-560

- Ehrenberg C.G. (1831): Über die Entwicklung und Lebensdauer der Infusionsthier; nebst ferneren Beiträgen zu einer Vergleichung ihrer organischen Systeme. Abh. Dt. Akad. Wiss. Berl.: 1-154
- Ehrenberg C.G. (1833): Dritter Beitrag zur Erkenntnis großer Organisation in der Richtung des kleinsten Raumes. – Abh. Dt. Akad. Wiss. Berl.:145-336
- Fabczak H. (2000): Protozoa as model system for studies of sensory light transduction: Photophobic response in the Ciliate *Stentor* and *Blepharisma*. Acta Protozool. 39: 171-181
- Fabczak S., Fabczak H., Song P. S. (1993a): Photosensory transduction in Ciliates. III. The temporal relation between membrane potentials and phototile responses in *Blepharisma japonicum*. Photochem. Photobiol. 57 (5): 872-876
- Fabczak S., Fabczak H., Tao N., Song P. S. (1993b): Photosensory transduction in Ciliates. I. An analysis of light-induced electrical and motile responses in *Stentor coeruleus*. Photochem. Photobiol. 57 (4): 696-701
- Fabczak H., Park P.-B., Fabczak S., Song P. S. (1993c): Photosensory transduction in Ciliates. II. Possible role of G-protein and cGMP in *Stentor coeruleus*. Photochem. Photobiol. 57: 702-706
- Fabczak H., Tao N., Fabczak S., Song P. S. (1993d): Photosensory transduction in Ciliates. IV. Modulation of photomovement response of *Blepharisma japonicum*. Photochem. Photobiol. 57: 872-876
- Fabczak H., Walerczyk M., Fabczak S. (1998): Identification of protein homologous to inositol triphosphate receptor in ciliate *Blepharisma*. Acta Protozool. 37: 209-213
- Fabczak H., Walerczyk M., Groszyska B., Fabczak S. (1999): Light induces inositol triphosphate elevation in *Blepharisma japonicum*. Photochem. Photobiol. 69: 254-258
- Fenchel T., Finlay B.J. (1986): The structure and function of Müller vesicles in loxodid ciliates. J. Protozool. 33: 69-76
- Finlay B.J., Fenchel T. (2007): Photosensitivity in the ciliated protozoan *Loxodes*: Pigment granules, absorption and Action spectra, Blue Light Perception, and ecological significance. J. Euc. Microbiol. 33 (4): 534-542
- Firestein S. (1992): Physiology of transduction in the single olfactory neuron. Sensory Transduction (Ed. D.P. Corey and S.D. Roper), The Rockefeller Univ. New York: 62-71
- Foissner W., Berger H., Kohmann F. (1994): Taxologische und ökologische Revision der Ciliaten des Saprobiensystems. Band III: Hymenostomata, Prostomatida, Nassulida. Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft, Informationsberichte Heft 1/94: 110-139
- Foissner W., Berger H., Kohmann F. (1995): Taxologische und ökologische Revision der Ciliaten des Saprobiensystems. Band IV: Gymnostomatea, Loxodes, Suctoria. Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft, Informationsberichte Heft 1/95: 228-234
- Fraenkel G.S., Gunn D.L. (1940): The orientation of animals. Oxford University Press. 2nd edition: (1961) Dover Publ. Inc., New York
- Freiberger, N. (1997): Einfluß der Temperatur auf die Schwerkraftantworten von Protozoen. Diplomarbeit, Bonn
- Freiberger, N. (2004): Morphologie und Physiologie von *Paramecium biaurelia* und *Tetrahymena pyriformis* unter variablen Umweltbedingungen. Dissertation, Bonn
- Gaino E., Rebora M. (2000): *Ophryoglena* sp. (Ciliata: Oligohymenophora) in *Caenis luctuosa* (Ephemeroptera: Caenidae). Acta Protozoologica 39: 225-231
- Gebauer M. (1999): Bedingungen für den Nachweis von Gravirezeptorpotentialen bei *Paramecium caudatum*. Diplomarbeit. Universität Bochum.
- Gebauer M., Watzke D., Machemer H. (1999): The gravikinetic response of *Paramecium* is based on orientation-dependent mechanotransduction. Naturwiss. 86: 352-356
- Häder D.P. (1998): Orientierung im Licht: Phototaxis bei *Euglena gracilis*. G. Fischer Verlag, Mikrokosmos 87, Heft 1
- Hamilton T.C., Osborne D. (1976): Measurements of contraction latencies to mechanical and electrical stimulation of the protozoan, *Spirostomum ambiguum*. J. Cell Physiol. 91: 403-408

- Hara R., Asai H. (1980): Electrophysiological responses of *Didinium nasutum* to *Paramecium* capture and mechanical stimulation. *Nature* 283: 869 – 870
- Hara, R., Asai, H. (1985): Electrical responses of the carnivorous ciliate *Didinium nasutum* in relation to discharge of the extrusive organelles. *J. Exp. Biol.*: 119: 211-224
- Hemmersbach-Krause R., Häder D.P. (1990): Negative gravitaxis (geotaxis) of *Paramecium* – demonstrated by image analysis. *Applied Microgravity Tech.* 2: 221-223
- Hemmersbach-Krause R., Briegleb W., Häder D.P. (1992): Swimming behaviour of *Paramecium* – first results with the low-speed centrifuge microscope (NIZEMI). *Adv. Space Res. Vol. 12* (1): 113-116
- Hemmersbach-Krause R., Briegleb W., Häder D.P., Vogel K., Grothe D., Meyer I. (1993a): Orientation of *Paramecium* under the conditions of weightlessness. *J. Euk. Microbiol.* 40 (4): 439-446
- Hemmersbach-Krause R., Briegleb W., Vogel K., Häder D.P. (1993b): Swimming velocity of *Paramecium* under the conditions of weightlessness. *Acta Protozool.* 32: 229-236
- Hemmersbach-Krause R., Briegleb W., Häder D.P., Vogel K., Klein S., Mulisch M. (1994): Protozoa as model system for the study of cellular responses to altered gravity conditions. *Adv. Space Res. Vol. 14* (8): 49-60
- Hemmersbach R., Voormanns R., Briegleb W., Rieder N., Häder D.P. (1996a): Influence of accelerations on the spatial orientation of *Loxodes* and *Paramecium*. *J. of Biotech.* 47: 271-278
- Hemmersbach R., Voormanns R., Häder D.P. (1996b): Gravitaxial responses in *Paramecium biaurelia* under different accelerations; studies on the ground and in space. *J. Exp. Biol.* 199: 2199-2205
- Hemmersbach R., Voormanns R., Bromeis B., Schmidt N., Rabien H., Ivanova, K. (1998): Comparative studies of the gravitaxial responses of *Paramecium* and *Loxodes*. *Adv. Space Res. Vol. 21*, (8/9): 1285-1289
- Hemmersbach R., Wilczek M., Stieber C., Bräucker R., Ivanova, K. (2002): Variable acceleration influences cAMP levels in *Paramecium biaurelia*, Proc of "Life in Space for Life on Earth" ESA SP-501
- Hemmersbach R., Krause M., Bräucker R., Ivanova K. (2005): Gravitaxial perception in ciliates: Steps in transduction chain. *Adv. In Space* 35 (2): 296-299
- Hodgkin A.L., Huxley A.F. (1952): Quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol. (London)* 117: 500
- Howard J, Roberts, WM, Hudspeth AJ (1988) Mechano-electrical transduction by hair cells. *Annu Rev Biophys Chem* 17: 99–124
- Hudspeth A.J. (1985): The cellular basis of hearing: the biophysics of hair cells. *Science* 230: 745-752
- Inoue T., Nakaoka Y. (1990): Cold-sensitive responses in the *Paramecium* membrane. *Cell Structure and Function* 15: 107-112
- Iwatsuki K., Naitoh Y. (1982a): Photoresponse in colorless *Paramecium*. *Experientia* 38: 1453-1454
- Iwatsuki K., Naitoh Y. (1982b): Behavioral responses in *Paramecium multimicronucleatum* to visible light. *Photochem. Photobiol.* 37 (4): 415-419
- Iwatsuki K., Naitoh Y. (1988): Behavioral responses to light in *Paramecium bursaria* in relation to its symbiotic green alga *Chlorella*. *J. Exp. Biol.* 137: 477-485
- Kanda S. (1914): On the geotropism of *Paramecium* and *Spirostomum*. *Biol. Bull.* 26: 1-24
- Kitamura, A. (1982): Attachment of *Paramecium* to polystyrene surfaces: A model system for the analysis of sexual cell recognition and nuclear activation. *J. Cell Sci.* 58: 185-199
- Kitamura A. (1986): Attachment of mating reactive *Paramecium* to polystyrene surfaces: IV. Comparison of the adhesiveness among six species of the genus *Paramecium*. *Biol. Bull.* 171: 350-359
- Kowalewski U., Bräucker R., Machemer H. (1998): Responses of *Tetrahymena pyriformis* to the natural gravity vector. *Microgravity Sci. Technol.* 11: 167-172

- Krause M. (1999) Elektrophysiologie, Mechanosensitivität und Schwerkraftbeantwortung von *Bursaria truncatella*. Diplomarbeit an der Fakultät für Biologie der Ruhr-Universität Bochum.
- Krause M. (2003): Schwerkraftwahrnehmung des Ciliaten *Stylonychia mytilus*. Elektro- und verhaltensphysiologische Untersuchungen. Dissertation, Universität Bonn
- Krause M., Bräucker R. (2008): Gravitaxis of *Bursaria truncatella*: Electrophysiological and behavioural analyses of a large ciliate cell. Eur. J. Protist., in press
- Krause M., Bräucker R., Hemmersbach R. (2006): Graviresponses of *Paramecium biaurelia* during parabolic flights. Protoplasma 229: 109-116
- Kramel M., Marwan W. (1983): Photomovement responses of the heterotrich ciliate *Blepharisma japonicum*. Photochem. Photobiol. 37: 312–319
- Kuhlmann H.-W. (1992): Photomovement in *Ophryoglena* and ecological consequences. Europ. J. Protistol. 28: 346-347
- Kuhlmann H.W. (1993): Life cycle dependent phototactic orientation in *Ophryoglena catenula*. Europ. J. Protistol. 29: 344-352
- Kuhlmann H.W. (1997): Untersuchungen zur Lage und Ausrichtung potentieller Lichtrichtungs-detektoren bei sich phototaktisch orientierenden Ciliaten. Verh. Dtsch. Zool. Ges. 90.1: 205
- Kuhlmann H.W. (1998a): Do phototactic ciliates make use of directional antennas to track the direction of light? Europ. J. Protistol. 34: 244-253
- Kuhlmann H.W. (1998b): Photomovements in Ciliated Protozoa. Naturwissenschaften 85: 143–154
- Kuhlmann H.W.; Hemmersbach-Krause R. (1993a): Phototaxis in the „stigma“-forming ciliate *Nassula citrea*. J. Photochem. Photobiol. 21: 191-195
- Kuhlmann H.W., Hemmersbach-Krause R. (1993b): Phototaxis in an “eyespot”-exposing ciliate. Naturwissenschaften 80: 139-141
- Kuriu T., Nakaoka Y., Oosawa Y. (1996): Cold-sensitive Ca²⁺ influx in *Paramecium*. J. Membr. Biol. 154: 163-167
- Kuroda K., Kamiya N. (1989): Propulsive force of *Paramecium* as revealed by the Video Centrifuge Microscope. Exp Cell Research 184: 268-272
- Kuźnicki L. (1968): Behavior of *Paramecium* in gravity fields. I. Sinking of immobilized specimens. Acta Protozool. 6: 109-117
- Lampert W., Sommer U. (1993): Limnöökologie. Thieme Verlag Stuttgart
- Lynn D.H., Frombach S., Ewing M.S., Kocan K.M. (1991): The organelle of Lieberkühn as an synapomorphie fort he Ophryoglenina (Ciliophora): Hymenostomatida. Trans. Am. Microsc. Soc. 110: 1-11
- Lyon E. P. (1905): On the theory of geotropism in *Paramecium*. Acta Protozool. 11: 295-300
- Machemer H. (1972): Temperatur influences on ciliary beat and metachronal coordination in *Paramecium*. J. Mechanochem. Cell Motility 1: 57-66
- Machemer H. (1974): Frequency and directional responses of cilia to membrane potential changes in *Paramecium*. J. Comp. Physiol. 92: 293-316
- Machemer H. (1975): Modification of ciliary activity by the rate of membrane potential changes in *Paramecium*. J. Comp. Physiol. 101: 343-356
- Machemer H. (1976): Interactions of membrane potential and cations in regulation of ciliary activity in *Paramecium*. J Exp Biol 65: 427 – 448
- Machemer H. (1986): Electromotor coupling in Cilia. Membrane control of cellular activity. Lüttgau, H. C. (Ed.), Fortschr. Zool. 33: 205-250
- Machemer H. (1987): From structure to Behaviour: *Stylonychia* as a Model System for Cellular Physiology. Progress in Physiology 2: 213-330
- Machemer H. (1989): Cellular behaviour modulated by Ions: Electrophysiological implications. J. Protozool. 36 (5): 463-487

- Machemer H. (1994): Gravity-dependent modulation of swimming rate in ciliates. *Acta Protozool.* 33: 53-57
- Machemer H. (1995): A Theory of Gravikinesis in *Paramecium*. *Adv. Space Res.* 17: 11-20
- Machemer H. (1998): Electric potentiation of gravikinesis in *Paramecium* is possibly mediated by filaments. *Adv. Space Res.* 21: 1301-1309
- Machemer H. (1999): The identification of gravikinesis from ciliates: Methods and Experience. *Adv. Space Res.* 24 (6): 867-876
- Machemer H., Machemer-Röhnisch S., Bräucker R., Takahashi K. (1991): Gravikinesis in *Paramecium*: theory and isolation of a physiological response to the natural gravity vector. *J. Comp. Physiol. A* 168: 1-12
- Machemer H., Bräucker R. (1992): Gravireception and graviresponse in ciliates. *Acta Protozool.* 31: 185-214
- Machemer, H., Bräucker R., Takahashi K., Murakami A. (1992): Short-term Microgravity to isolate Graviperception in cells. *Microgravity Sci. Technol.* V (3): 119-123
- Machemer, H., Bräucker R., Murakami A., Yoshimura, K. (1993a): Graviperception in unicellular organisms – A comparative behavioural study under short-term Microgravity. *Microgravity Sci. Technol.* 5 (4): 221-231
- Machemer H., Machemer-Röhnisch S., Bräucker R. (1993b): Velocity and graviresponses in *Paramecium* during adaptation and varied oxygen concentrations. *Arch. Protistenkd.* 143: 285-296
- Machemer H., Machemer-Röhnisch S. (1996): Is Gravikinesis in *Paramecium* affected by swimming velocity. *Europ. J. Protistol.* 32: 90-93
- Machemer H., Nagel U., Bräucker R. (1997): Assessment of g-dependent cellular gravitaxis: determination of cell orientation from locomotion track. *J. Theor. Biol.* 185: 201-211
- Machemer H., Bräucker R., Machemer-Röhnisch S., Nagel U., Neugebauer D.C., Weskamp M. (1998): The linking of extrinsic stimuli to behaviour: Roles of Cilia in Ciliates. *Europ. J. Protistol.* 34: 254-261
- Machemer-Röhnisch S., Machemer H. (1989): A Ca paradox: electric and behavioural responses of *Paramecium* to changes in cation concentration of the medium. *Europ. J. Protistol.* 25: 45-59
- Machemer-Röhnisch S., Machemer H., Bräucker R. (1996): Electric-field effects on gravikinesis in *Paramecium*. *J. Comp. Physiol. A* 179: 213-226
- Machemer-Röhnisch S., Bräucker R., Machemer H. (1998): Relaxation of graviresponse of the ciliate *Didinium* following step transition to the weightless condition. *Microgravity sci. technol* 11 (1): 35-43
- Marangoni R., Puntoni S., Favati L., Colombetti G. (1994): Phototaxis in *Fabrea salina* I. Action spectrum determination. *Photochem. Photobiol.* 23: 149-154
- Marangoni R., Puntoni S., Colombetti G. (1997): A model system for photosensory perception in Protozoa: the marine ciliate *Fabrea salina*. In *Biophysics of Photoperception. Molecular and Phototransductive Events* (Ed.C. Taddei-Ferretti) World Scientific. Singapore, New Jersey, London, Hong Kong, 83-91
- Markl H., Ehret G. (1973): Die Hörschwelle der Maus (*Mus musculus*). *Z. Tierpsychol.* 33: 274-286
- Martinac B., Machemer H. (1984): Effects of varied culturing and experimental temperature on electrical membrane properties in *Paramecium*. *J. exp. Biol.* 108: 179-194
- Mast, S.O. (1906): Light reactions in lower organisms. I. *Stentor coeruleus*. *J. Exp. Biol.* 3: 359-399
- Mast, S.O. (1911): *Light and behavior of organisms*. John Wiley & Sons, New York, Chapman & Hall, London
- Matsuoka K., Nakaoka Y. (1988): Photoreceptor potential causing Phototaxis of *Paramecium bursaria*. *J. Exp. Biol.* 137: 477-485
- Matsuoka T. (1983): Distribution of Photoreceptors inducing ciliary reversal and swimming acceleration in *Blepharisma japonicum*. *J. Exp. Zool.* 225: 337-340

- Matsuoka T., Murakami Y., Kato Y. (1993): Isolation blepharismine-binding 200 kDa protein responsible for behaviour in *Blepharisma*. Photochem. Photobiol. 57: 1042-1047
- Matsuoka T., Moriyama N., Kida A., Okuda K., Suzuki T., Kotsuki H. (2000): Immunochemical analysis of photoreceptor protein using anti IP₃ receptor antibody in the unicellular organism, *Blepharisma*. J. Photochem. Photobiol. B 54: 131-135
- Millicchia R., Mauro A. (1969): The ventral photoreceptor cells of *Limulus*. II. The basic photo-response. J. gen. Physiol. 54: 310-330
- Mogami Y., Oobayashi C., Yamagushi T., Ogiso Y., Baba S. A. (1988): Free fall experiments on swimming behaviour of ciliates. Proceed 16. Intern Symp. Space Technol. Science: 2351 – 2354
- Müller O.F. (1773): Vermium terrestrium et fluviatilium, seu animalium infusorium, Helminthi-corum et Testaceorum, non marinorum, Succincta historia. Heineck & Faber, Havniae & Lipsiae: 135pp
- Müller O.F. (1786): Animalcula infusoria fluviatilia et marina, quae detexit, sytematice descripsit et ad vivum delineari curavit. N. Mölleri, Haunia: 367pp
- Nagel U. (1993): Elektrische Eigenschaften und elektromotorische Kopplung im Verhalten von *Loxodes striatus*. Diplomarbeit Ruhr-Universität Bochum
- Nagel U. (1998): Mechanismen physiologischer Schwerkraftbeantwortung beim Wildtyp und einer Mutante von *Paramecium tetraurelia*. Dissertation Ruhr-Universität Bochum
- Nagel U., Watzke D., Neugebauer D.C., Machemer-Röhnisch S., Bräucker R., Machemer H. (1997): Analysis of sedimentation of immobilized cells under normal and hypergravity. Microgravity Sci. Technol. 10: 41-52
- Nagel U., Machemer H. (2000): Physical and physiological components of the graviresponse of wild-type and mutant *Paramecium tetraurelia*. J. Exp. Biol. 6: 1059-1070
- Naitoh Y., Eckert R. (1973): Sensory mechanisms in *Paramecium*. II. Ionic basis of the hyperpolarizing mechanoreceptor potential. J. Exp. Biol. 54: 53-65
- Nakaoka Y., Kurotani T., Itoh H. (1987): Ionic mechanism of thermoreception in *Paramecium*. J. Exp. Biol. 127: 95-103
- Nakaoka Y., Tokioka R., Shinozawa T., Fujita J., Usukura J. (1991): Photoreception of *Paramecium* cilia: localization of photosensitivity and binding with anti-frog-rhodopsin IgG. J. Cell. Sci. 99:67-72
- Neugebauer DC, Machemer-Röhnisch S, Nagel U, Bräucker R, Machemer H (1998): Evidence of central and peripheral gravireception in the ciliate *Loxodes*. J Comp Physiol A 183: 303-311
- Oami K. (1996): Membrane potential responses controlling chemodispersal of *Paramecium caudatum* from quinine. J. Comp. Physiol. A 178: 307-316
- Oami K. (1998): Membrane potential responses of *Paramecium caudatum* to bitter substances: Existence of multiple pathways for bitter substances. J. Exp. Biol. 201: 13-20
- Ogura A., Machemer H. (1980): Distribution of mechanoreceptor channels in the *Paramecium* surface membrane. J. Comp. Physiol. 135: 233-242
- Oka T., Nakaoka Y., Oosawa F. (1986): Changes in membrane potential during adaptation to external potassium ions in *Paramecium caudatum*. J. Exp. Biol. 126: 111-117
- Ooya M., Mogami Y., Izumi-Kurotani A., Baba S.A. (1992): Gravity-induced changes in propulsion in *Paramecium caudatum*: A possible role of gravireception in protozoan behaviour. J. Exp. Biol. 163: 153-167
- Pape H.-C., Machemer H. (1982): Electrical membrane properties of *Didinium*. J Protozool 29: 553, Abstr. 228
- Pape H.-C., Machemer H. (1986): Electrical properties and membrane currents in the ciliate *Didinium*. J. Comp. Physiol. A 158: 111-124
- Pearsall W. H., Ulliyott P. (1933): Light penetration into fresh water. J. Exp. Biol. 10 (4): 293-305
- Pernberg, J., Machemer, H (1980): Depolarization-induced membrane current components in *Didinium*, J. Comp. Physiol. A 164: 551-562

- Pernberg, J., Machemer, H (1995): Voltage Dependence of ciliary activity in the Ciliate *Didinium nasutum*. J. Exp. Biol. 198: 2537-2545
- Preston R.R., van Houten J.L. (1987): Localization of the chemoreceptive properties of the surface membrane of *Paramecium tetraurelia*. J. Comp. Physiol. A 160: 537-541
- Randall J.T., Jackson S. (1958): Fine structure in *Stentor polymorphus*. J. Biophys. Biochem. 261: 15461-15466
- Roberts A. M. (1970): Geotaxis in motile micro-organisms. J. Exp. Biol. 53: 687-699
- Roberts A. M. (1981): Hydrodynamics of protozoan swimming. Levandowsky M., Hutner S. H. (eds), Biochemistry and physiology of Protozoa, vol 4. Academic press, New York: 5-66
- Sachs, L. (1984): Angewandte Statistik: Anwendung statistischer Methoden. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo 6. Auflage: S. 1-552
- Salt G.W. (1974): Predator and prey densities as controls of the rate of capture by the predator *Didinium nasutum*. Ecology 55 (2): 434 – 439
- Savoie, A. (1961): *Ophryoglena hypertrophica* n. sp. (Ciliata Hymenostomatida). J. Protozool., 8: 324-334.
- Scevoli P., Bisi F., Colombetti G., Ghetti F., Lenci F., Passarelli V. (1987): Photomotile responses of *Blepharisma japonicum* I: Action spectra determination and time – resolved fluorescence of photoreceptor pigments. J. Photochem. Photobiol. B 1: 75-84
- Schöne H. (1983): Orientierung im Raum. Formen und Mechanismen der Lenkung des Verhaltens im Raum bei Tier und Mensch. 2. unveränderte Auflage. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart.
- Selbach M., Kuhlmann H.W. (1999): Structure, fluorescent properties and proposed function in phototaxis of the stigma apparatus in the ciliate *Chlamydomonas mnemosyne*. J. Exp. Biol. 202 (8): 919-927
- Sobierajska K., Fabczak H., Fabczak S. (2006): Photosensory transduction in unicellular eukaryotes: A comparison between related ciliates *Blepharisma japonicum* and *Stentor coeruleus* and photoreceptor cells of higher organisms. J. Photochem Photobiol. 83: 163-171
- Song P. S. (1997): Light signal transduction in ciliate *Stentor* and *Blepharisma*. 2. Transduction mechanism. Biophysics of Photoreception. Molecular and Phototransductive Events (Ed. C. Taddei-Ferretti) World Scientific. Singapore, New Jersey, London, Hong-Kong, 67-82
- Song P. S., Walker E. B. (1981): Molecular aspects of photoreceptors in protozoa and other microorganisms. Levandowsky M., Hutner SH. (eds) Biochemistry and physiology of protozoa 4: 199-233
- Sonneborn T. M. (1975): *Paramecium aurelia* complex of fourteen sibling species. Transactions of the American Microscopical Society 94 (2): 155 – 178
- Stein F. (1859): Der Organismus der Infusionsthier nach eigenen Forschungen in systematischer Reihenfolge bearbeitet. I. Abtheilung. Allgemeiner Theil und Naturgeschichte der hypotrichen Infusionsthier. W. Engelmann, Leipzig. 206pp
- Taneda K. (1987a): Geotactic behaviour in *Paramecium caudatum*. I. Geotaxis assay of individual specimen. Zool. Science 4: 781-788
- Taneda K., Miyata S., Shiota A. (1987b): Geotactic behaviour in *Paramecium caudatum*. II. Geotaxis assay in a population of the specimens. Zool. Science 4: 789-795
- Tao N., Deforce L., Romanowski M., Meza-Keuthen S., Song P. S., Furuya M. (1994): *Stentor* and *Blepharisma* photoreceptors: structure and function. Acta Protozool. 33: 199-211
- Tominaga T., Naitoh Y. (1994): Comparison between thermoreceptor and mechanoreceptor currents in *Paramecium caudatum*. J. Exp. Biol. 189: 117-131
- Van Houten J. (1978): Two mechanisms of chemotaxis in *Paramecium*. J comp Physiol A 127: 167 – 174
- Van Houten J. (1979): Membrane potential changes during chemokinesis in *Paramecium*. Science 204: 1100 – 1103
- Verworn M. (1889): Psychophysiologische Protistenstudien. Experimentielle Untersuchungen. Gustav Fischer Verlag, Jena pp 1-219

- Vogel G., Angermann H. (1977): dtv-Atlas zur Biologie. Band 2. 1968 Deutscher Taschenbuch Verlag GmbH & Co.KG, München
- Walerczyk M., Fabczak H., Fabczak S. (2000): Cyclic GMP-gated channels are present in ciliate *Stentor coeruleus*. Postepy Hig. Med. Doswiad. 54: 329-339 (in Polish with English summary)
- Watzke D., (2000): Dissertation: Experimentelle Beeinflussung der gravisensorischen Transduktion bei *Paramecium caudatum*.
- Watzke D., Bräucker R., Machemer H. (1998): Graviresponses of iron-fed *Paramecium* under Hypergravity. Europ. J. Protistol. 34:82-92
- Winet H., Jahn T.L. (1974): Geotaxis in protozoa. I. A propulsion-gravity model for *Tetrahymena* (Ciliata). J. theor. Biol. 46: 449-465
- Wood, D.C. (1976): Action spectrum and electrophysiological responses correlated with the photophobic response of *Stentor coeruleus*. Photochem. Photobiol. 24: 261-266
- Wood D.C. (1982): Membrane permeabilities determining resting, action and mechanoreceptor potentials in *Stentor coeruleus*. J. Comp. Physiol. 146: 537-550
- Wu Y.T. (1977): Hydrodynamics of swimming at low Reynolds numbers. Physiology of movement – biomechanics. Progr. Zool. 24: 149-169

7. Danksagungen

Ich danke Herrn Prof. Dr. H. Bleckmann und Frau PD Dr. R. Hemmersbach dafür, dass sie sich bereit erklärt haben, meine extern angefertigte Dissertation zu begutachten.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. R. Bräucker für die unermüdliche Diskussionsbereitschaft und seine Unterstützung während der Durchführung der Experimente und dem Fertigstellen der vorliegenden Arbeit. Außerdem danke ich ihm für die Bereitstellung der angewandten Computerprogramme und Apparaturen. Auch danke ich ihm sehr für die fruchtbare Zusammenarbeit, die exzellente Betreuung und das Interesse an meinem weiteren Werdegang.

Ich bedanke mich auch bei Prof. Dr. R. Gerzer, dass er mir die Möglichkeit gegeben hat, die Labors des Institutes für Luft- und Raumfahrtmedizin des Deutschen Zentrums für Luft- und Raumfahrt zu nutzen.

Eine von mir gehaltene und untersuchte Zellkultur stammt aus dem Instituto di Biofisica CNR in Pisa, Italien. Sie wurde mir freundlicherweise von Prof. Dr. G. Colombetti zur Verfügung gestellt, wofür ich ihm danke.

Nicht zuletzt danke ich ganz herzlich meiner Frau für Ihre Geduld und aufmunternden Worte (insbesondere in den letzten Monaten) und meinen Eltern und Großeltern für ihre mentale Unterstützung während der Erstellung dieser Arbeit.