

Verfasserinnen: Lisa Palme, Tiziana Jametti, Laura Dafond, Angelika Weber

Betreuer: Kurt Hanselmann

Einleitung

In diesem Experiment wird der Pansensaft einer Kuh auf verschiedene Mikroorganismen untersucht. Wiederkäuer sind für die Verdauung von Pflanzenmaterial auf Mikroorganismen angewiesen die Cellulose, Stärke, Pectin und Hemicellulose hydrolysieren und die Spaltprodukte vergären können. Diese Mikroorganismen befinden sich in einem speziellen Kompartiment im Verdauungstrakt des Tieres, dem Pansen. Dort leben sie unter anoxischen Bedingungen in Symbiose. Sie liefern die für die Verdauung von Cellulose und deren Produkte unerlässlichen Enzyme wie Cellulasen (Cellulosespaltung), Amylasen (Stärkeabbau), Esterasen und Hydrolasen (Zersetzung von Pectinen).

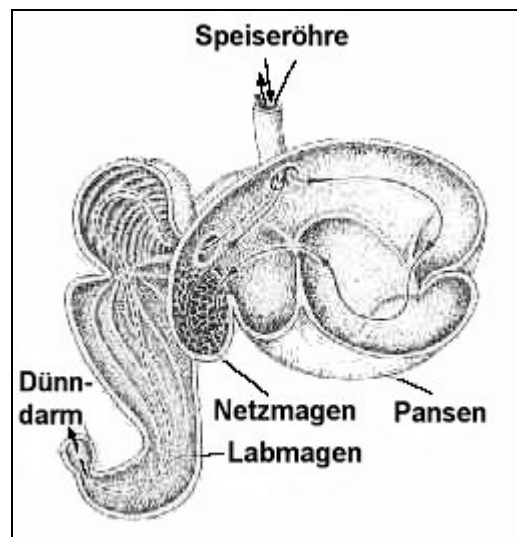


Abb. 1: Verdauungstrakt eines Wiederkäuers

Vorgehen

Zuerst wurde Pansensaft einer fistulierten Kuh entnommen und in eine sterile Flasche gefüllt. Dabei musste beachtet werden, dass die im Pansen vorherrschende Temperatur von 39 Grad Celsius möglichst beibehalten wurde, da die Mikroorganismen äusserst sensibel auf Temperaturänderungen reagieren.

Danach wurde der Saft im Phasenkontrast- und im Fluoreszenz-Mikroskops untersucht.

Als Letztes wurde die Stoffwechselaktivität der Mikroorganismen mit Hilfe von Farbindikatoren für Redoxreaktionen untersucht.

Ergebnisse/Diskussion

Bei der Untersuchung mit dem Mikroskop konnte eine enorme Vielfalt und Dichte an Mikroorganismen beobachtet werden. Es handelt sich hierbei um Bakterien, Archäen und Protozoen (Ciliaten und Flagellaten). Mit Hilfe eines Filters konnten autofluoreszente Methanarchäen beobachtet werden, wie sie sich in unmittelbarer Nähe von bestimmten

Ciliaten aufhielten, um möglichst rasch an deren Stoffwechselprodukte zu gelangen. Ausserdem konnten viele Protozoen entdeckt werden, die chlorophyllhaltige Pflanzenteile in sich aufgenommen hatten; diese erschienen als rote Punkte.

Nebst einer riesigen Anzahl Bakterien mit unterschiedlichsten Formen konnten sehr viele Ciliaten beobachtet werden. Sie ernähren sich von den Bakterien, indem sie sie herbeistrudeln. Sie sorgen auch dafür, dass die Bakteriendichte nicht ständig zunimmt (optimal: 10^{10} - 10^{11} pro ml).

Bei der Untersuchung der Stoffwechselaktivität der im Pansensaft enthaltenen Mikroorganismen wurden drei Farbindikatoren verwendet: Phenosafranin (rot), Resazurin (violett) und Methylenblau. Es handelt sich hierbei um Verbindungen, die ihre Farbe ändern, wenn sie reduziert werden (wenn sie Elektronen aufnehmen).

Bei der Fermentation werden Elektronen frei, die in einem Organismus normalerweise zum Aufbau von chemiosmotischen Gradienten und zur Bereitstellung von Reduktionsäquivalenten benötigt werden. Zum Beispiel wird NAD^+ zu $\text{NADH} + \text{H}^+$ reduziert. In diesem Experiment sind es die Farbindikatoren, die diese Elektronen abfangen und dabei farblos werden. Da sie unterschiedliche Redoxpotentiale haben, ist die Reduktionsgeschwindigkeit dieses Vorgangs für jeden Farbstoff anders. Als Kontrolle dient eine äquivalente Menge an Pansensaft bei der keine Entfärbung stattfinden sollte da zuerst auf 100 Grad erhitzt wurde, um die Organismen abzutöten.

In diesem Experiment werden folgende Ansätze gemacht und für 5 Minuten bei 39 Grad Celsius inkubiert bevor der Farbstoff zugegeben wird:

Beobachtungen:

	Methylenblau	Resazurin	Phenosafranin
9 ml Pansensaft + 1ml Glucoselösung	Entfärbung nach 6 Sekunden	Entfärbung nach 30 Sekunden	Nur schwache Entfärbung nach mehreren Minuten
9ml Pansensaft + 1ml dest. H_2O	Entfärbung nach 15 Sekunden	Entfärbung nach 44 Sekunden	Nur schwache Entfärbung nach mehreren Minuten
9ml Pansensaft + 1ml Glucose, auf 100 Grad erhitzt	Keine Entfärbung	Keine Entfärbung	Keine Entfärbung

Schlussfolgerungen:

1. Da das Methylenblau am schnellsten seine blaue Farbe verliert, muss es sich hier um denjenigen Farbindikator mit dem höchsten Redoxpotential handeln. Dementsprechend sind Resazurin und Phenosafranin schlechtere Oxidationsmittel für die Elektronendonatoren des Pansenstoffwechsels.

2. Wird statt destilliertes Wasser eine Glucoselösung zugefügt, so läuft die Reaktion schneller ab, da die Mikroorganismen nebst dem restlichen Substrat noch zusätzliche Nahrung erhalten haben, die sie verwerten können. Verständlicherweise werden mit der zusätzlichen Umsetzung mehr Elektronen freigesetzt.

3. Wird der Ansatz auf 100 Grad erhitzt, so werden die Mikroorganismen getötet und es finden keine Reaktionen mehr statt.

Genauere thermodynamische Aspekte werden im Experiment 18 behandelt.