

Die „Innere Uhr“ der Pflanzen

Ein Projekt von Jessica Albers, Jakob Streuber, Pauline Thomé, Sonja Klaunzler und Nils Christiansen
Unter der Anleitung von Dr. Joachim Schulze und Rebecca Liese

Unsere zufällige Beobachtung und Ausgangsfragen:



18:00 Uhr

22:00 Uhr

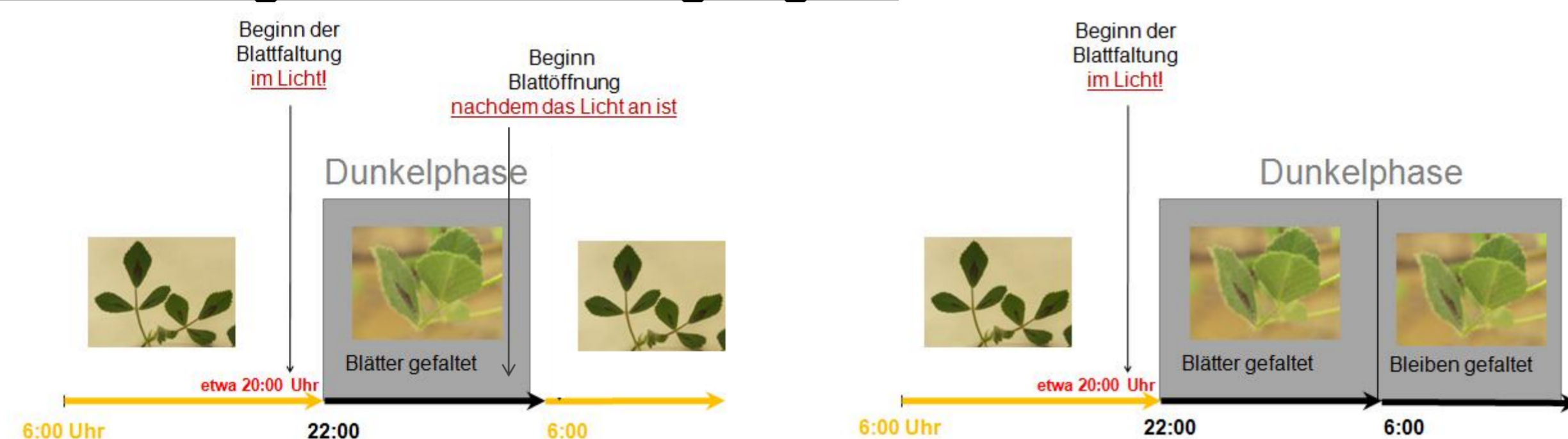
(→ siehe Film)

- Die Blätter von *Medicago truncatula* öffnen und schließen sich zu bestimmten Tageszeiten.
- ? Existiert eine innere Uhr der Pflanze? Welche Stoffwechselwege sind an die Blattbewegungen gekoppelt und wodurch werden sie induziert?

Unser Weg um Antworten zu finden:

1. Untersuchung der Blattbewegungen:

Oberirdisch



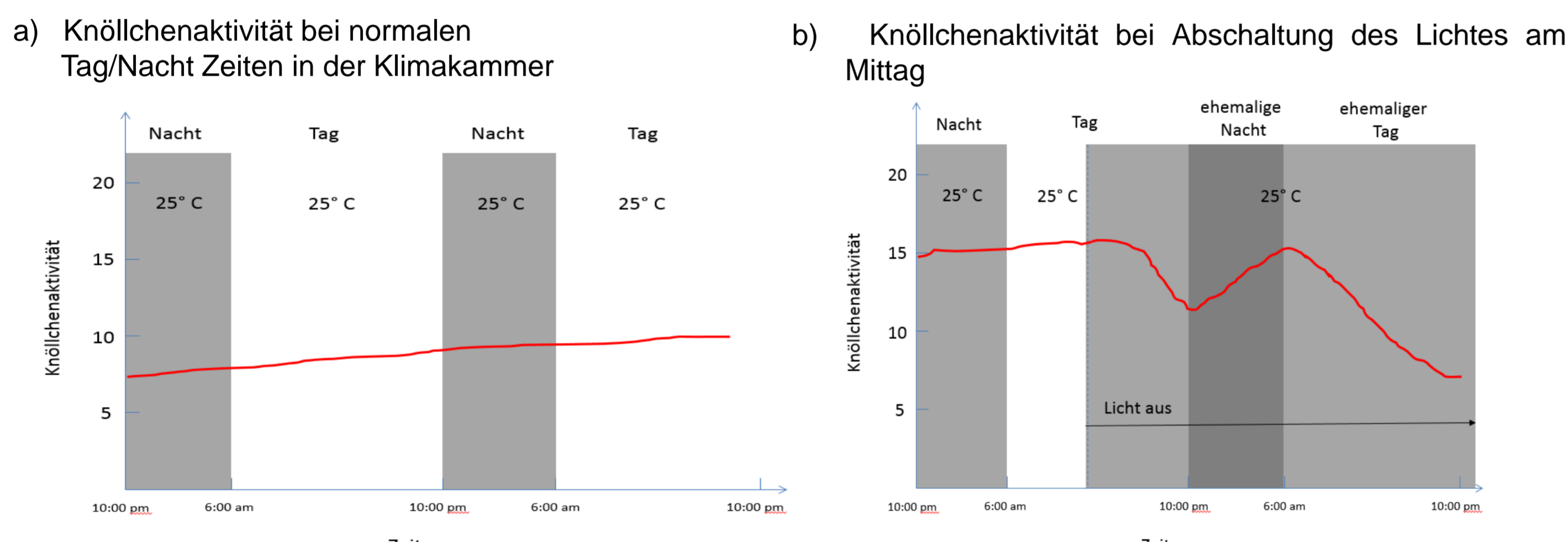
- Die Blätter öffnen oder schließen sich vor Eintreten des Tages bzw. der Nacht.
- Bei Verschieben der Lichtphase adaptieren sich die Pflanzen in 24 h an den neuen Rhythmus.
- Die Blattbewegungen hängen von der Dauer der Nacht ab anstelle von absoluten Uhrzeiten.

? Daraus ergab sich die Frage, ob die Knöllchen parallel im Untergrund entsprechende Reaktionen in ihrer Aktivität aufweisen.

2. Untersuchungen der Aktivität von Wurzel-Knöllchen:

Auch Knöllchen reagieren auf Veränderungen des Tag/Nacht-Rhythmus

Unterirdisch



- Unter geregelten Bedingungen steigt die Fixierleistung stetig an.
- Wird das Lichtregime unterbrochen, fällt die Fixierleistung der Knöllchen ab und erholt sich erst zum Zeitpunkt der ursprünglichen Nacht.

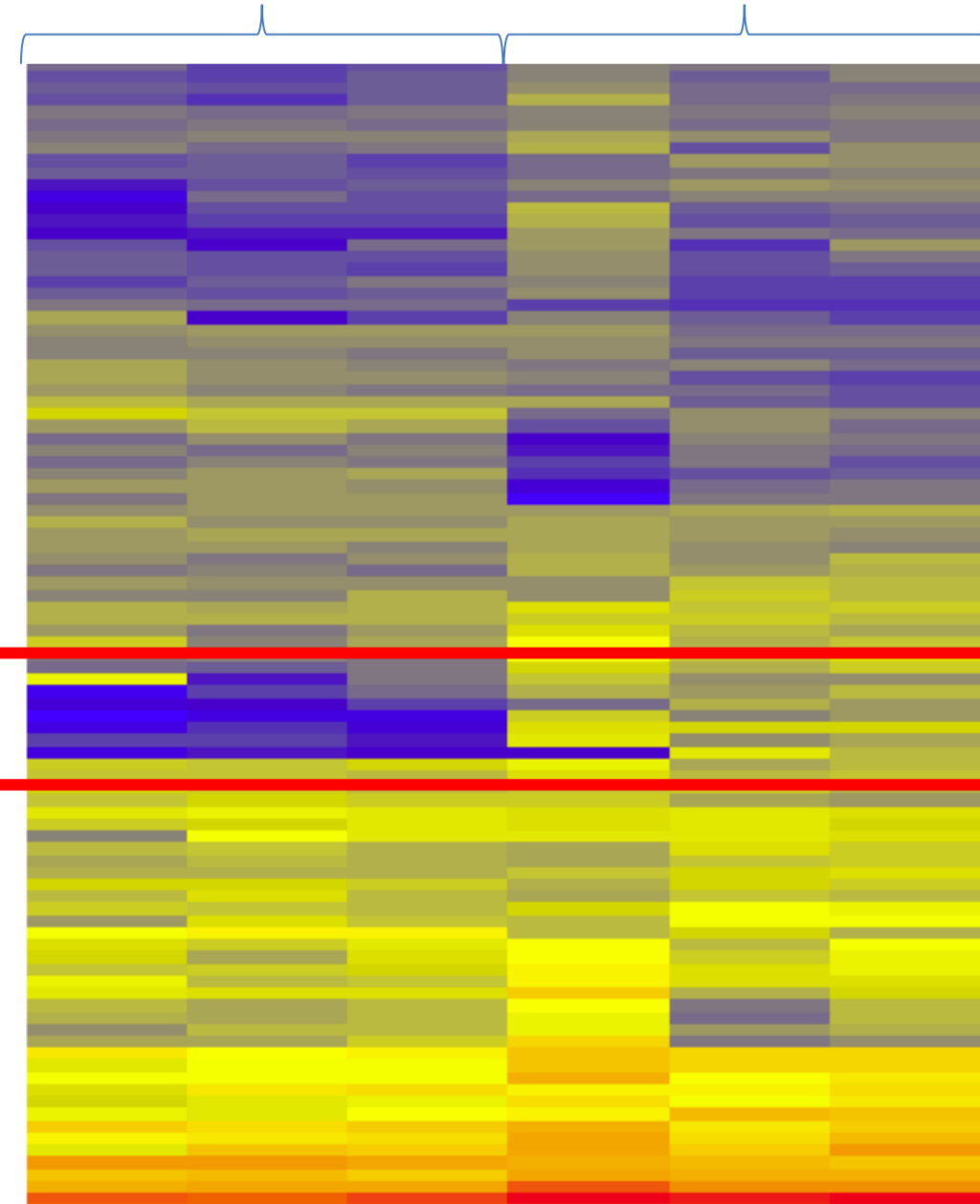
? Was vermittelt die Informationen zwischen Spross und Knöllchen? Ist die vermittelnde Substanz anhand der veränderten Gene der Pflanze zu finden?

3. Untersuchung der abgelesenen Gene/Transkriptom:

Genetisch

a) Visualisierung des Transkriptoms

Nach 3 h Dunkelheit am Tage Nach 3 h Dunkelheit in der Nacht



b) 20 der signifikant veränderten Genaktivitäten

Gene ID	Functional description	Control (counts)	3h darkness at day (10 am-1 pm) (counts)	Fold Change (log ₂)	p-value
Medtr1g030580.1	nodulin MN21/EamA-like transporter family protein	102 368	39 228	-1,4	0,000
Medtr7g110310.1	S-adenosylmethionine synthase-like protein	92 259	56 442	-0,7	0,000
Medtr8g041390.1	nodulin MN21/EamA-like transporter family protein	59 207	10 012	-2,6	0,000
Medtr4g029500.1	extensin-like repeat protein	23 267	11 509	-1,0	0,000
Medtr4g079780.1	ketol-acid reductoisomerase	23 219	13 925	-0,7	0,000
Medtr1g030600.1	auxin-induced SNG4-like protein	21 858	6 360	-1,8	0,000
Medtr4g089155.1	serine carboxypeptidase-like protein	18 908	7 602	-1,3	0,000
Medtr5g080440.1	leghemoglobin Lb120-1	17 290	10 679	-0,7	0,001
Medtr1g102550.1	ATP sulfurylase	15 756	6 732	-1,2	0,000
Medtr8g072640.1	3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase-like protein	15 738	8 854	-0,8	0,000
Medtr7g093200.1	microsomal omega-3 fatty acid desaturase	13 771	7 579	-0,9	0,000
Medtr5g041610.1	leghemoglobin Lb120-1	12 340	7 656	-0,7	0,001
Medtr4g014540.1	ferritin	12 030	22 870	0,9	0,000
Medtr1g025430.1	heat shock protein 81-2	11 441	18 036	0,7	0,001
Medtr1g084050.1	nicotianamine synthase-like protein	10 966	612	-4,2	0,000
Medtr2g030470.1	stress up-regulated Nod 19 protein	10 765	17 644	0,7	0,000
Medtr1g061100.1	Nodule Cysteine-Rich (NCR) secreted peptide	9 888	5 836	-0,8	0,001
Medtr00360110.1	eukaryotic aspartyl protease family protein	9 801	15 776	0,7	0,001
Medtr7g062540.1	auxin response factor 2	9 458	5 933	-0,7	0,001
Medtr8g086020.1	BZIP transcription factor bZIP124	9 196	4 442	-1,0	0,000

- Die Dunkelheit am Tag hat eine andere Auswirkung auf die Knöllchen als in der „üblichen“ Nacht.
- Am stärksten ist das Gen für ein „nicotianamine synthase-like protein“ verändert.
- Dies bindet Eisen und transportiert es durch Membranen.

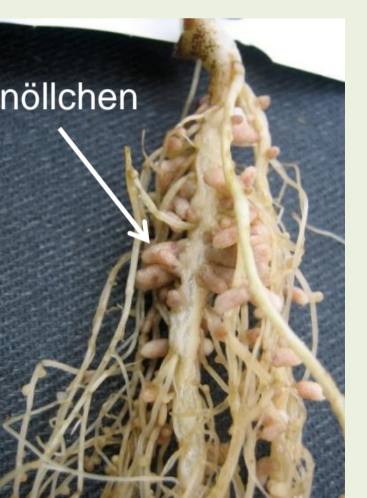
Hintergrundinformationen:

Unsere Versuchspflanze/Leguminosen:

Die Anzucht unserer Pflanzen erfolgte in Klimakammern mit einstellbaren Tag/Nacht-Rhythmen. Eine besondere Fähigkeit von *Medicago truncatula*, sowie aller Leguminosen, ist es, eine Lebensgemeinschaft mit sogenannten Knöllchenbakterien oder Rhizobien zu bilden. Dies ermöglicht dem Organismus, Stickstoff aus der Luft zu fixieren und in organischen, für die Pflanze verfügbaren, Stickstoff umzuformen.

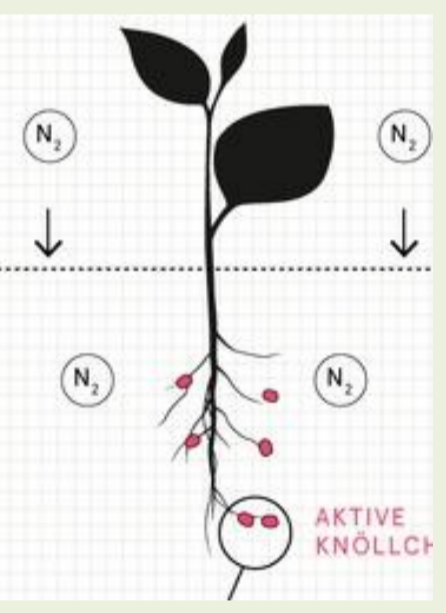


Als Habitat für die Bakterien bildet die Pflanze **Knöllchen** an der Wurzel. Die Pflanze versorgt die Bakterien mit von ihr erzeugten Kohlenhydraten und bekommt im Gegenzug den benötigten Stickstoff.



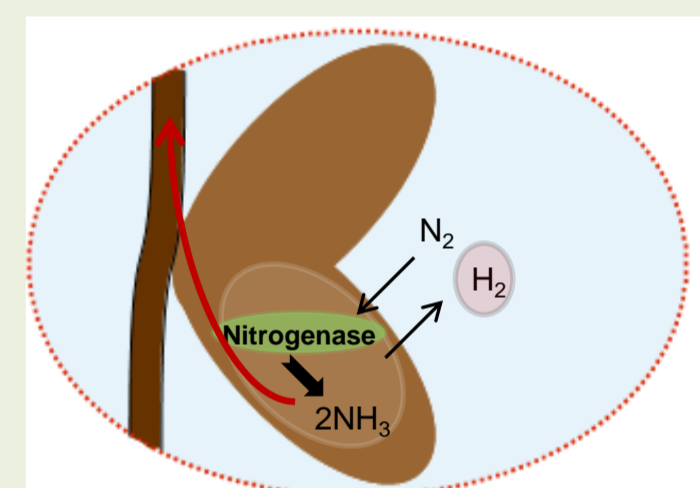
Stickstofffixierung:

Die Fähigkeit Stickstoff zu fixieren macht Leguminosen von der oft wachstums-limitierenden Stickstoffversorgung aus dem Boden unabhängig. Verantwortlich ist hierfür das knöllcheneigene **Enzym Nitrogenase**, das Luftstickstoff in pflanzenverfügbaren Stickstoff umwandelt. Die **Knöllchenaktivität** beschreibt dabei die Aktivität des stickstofffixierenden Enzyms Nitrogenase.

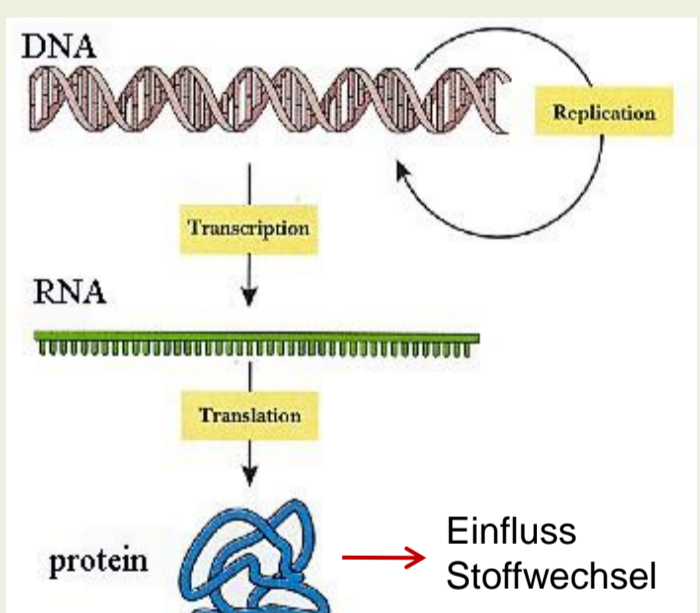


Transkriptomanalysen:

Das **Transkriptom** beschreibt die RNA, also eine umgeschriebene Version der DNA. Mit ihr lassen sich Informationen von der DNA transportieren und in Proteine verwandeln, die die Werkzeuge und Bausteine des Stoffwechsels sind. Die Menge an RNA zu einem bestimmten Zeitpunkt kann uns Aufschluss über den Stoffwechselzustand von Pflanzen geben.



Mit sogenannten „**vergleichenden Transkriptomanalysen**“ werden RNA-Mengen von verschiedenen Zeitpunkten gegenübergestellt und die Reaktion des Stoffwechsels auf eine Veränderung (z.B. verschobener Tag-/Nachtrhythmus) untersucht. So erhält man einen Eindruck der Gen-Aktivität.



Möglicher Zusammenhang/Hypothese:

Eisen ist Bestandteil des Enzyms Nitrogenase, welches die Aktivität der Knöllchen ausmacht. Geringere Versorgung bzw. Anlieferung von Eisen könnte die Bildung der Nitrogenase einschränken, wodurch ein Verlust der Knöllchenaktivität hervorgerufen wird. miRNA2768 zerschneidet die mRNA des Gens. Diese könnte aus dem Spross stammen und über verminderte Eisenzufuhr die Aktivität der Knöllchen herunterregulieren.