



# Hormone und Blütenentwicklung am *Arabidopsis thaliana*

Untersuchung von Auxin- und Cytokininaktivität in der  
Pflanzenentwicklung und der Einfluss von ABC-Genen in  
der Blütenentwicklung im Modell *Arabidopsis thaliana*

## **Versuchsdurchführende**

Oscar Moore (634083)  
Fridolin Rehning (625757)  
Philipp Kunze (625468)  
Daniel Kollenkirchen (625426)  
Huyen Anh Nguyen (572309)

## **Versuchsort**

Campus Nord, Haus 9  
R2006

## **Versuchsbetreuer**

Dr. Cezary Smaczniak

18. Juni 2024

# Contents

<b>1 Einführung</b>	<b>1</b>
<b>2 Material und Methode</b>	<b>1</b>
2.1 Histochemische Färbung der Auxin- und Cytokininaktivität . . . . .	1
2.2 morphologische Beurteilung der Mutation anhand der Blütenbildung . . . . .	2
<b>3 Ergebnis</b>	<b>2</b>
3.1 Auxin- und Cytokininaktivität . . . . .	2
3.1.1 Auxinaktivität . . . . .	2
3.1.2 Cytokininaktivität . . . . .	2
3.2 Phänotypische Analyse der Blüte . . . . .	4
<b>4 Diskussion</b>	<b>5</b>
4.1 Floral homöotische Gene . . . . .	5
<b>5 Anhang</b>	<b>5</b>

## 1 Einführung

## 2 Material und Methode

Wildtyp und 5 verschiedene Mutanten der Pflanze *Arabidopsis thaliana* wurde in diesen Versuch verwendet.

### 2.1 Histochemische Färbung der Auxin- und Cytokininaktivität

In diesem Versuch sollte die Cytokinin und Auxin Antwort, in verschiedenen Geweben, histochemisch ermittelt werden. Verwendet wurden transgene Pflanzen, in denen Auxin / Cytokinin abhängige Sequenzen mit  $\beta$ -Glucuronidase-Reportergenen (GUS) gekoppelt waren. Bei der regulatorischen Sequenz, welche die Aktivität der Auxinantwort misst, handelt es sich um den sogenannten DR5-Promotor. Bei der regulatorischen Sequenz, welche die Aktivität der Cytokininantwort misst, handelt es sich um den sogenannten TCS-Promotor.

Um die GUS-Färbelösung herzustellen, mussten zuerst die Konzentrationen der Komponenten berechnet werden. Hierbei wurden folgende Werte ermittelt:

- 100  $\mu$ L Ferrocyamid-Stammlösung
- 100  $\mu$ L Ferricyanid-Stammlösung
- 800  $\mu$ L Phosphatpuffer

Anschließend wurde die Färbelösung in ein 1,5ml Reaktionsgefäß pipettiert, indem bereits 1mg X-Gluc vorabgewogen enthalten war. Mithilfe einer Glaspasteurpipette wurde dann noch ein Tropfen Triton-X-100 hinzugegeben und dann solange gevortext, bis das X-Gluc sich vollkommen aufgelöst hat.

Für die Färbung wurden 1-2 Blätter, sowie Schoten in ein 1,5ml Reaktionsgefäß getan und vorsichtig mit 300 $\mu$ L GUS-Färbelösung hinzupipettiert. Das Reaktionsgefäß wurde offen auf Eis in die Eppendorf Vakuumfuge gestellt und 5min infiltriert. Da das Reaktionsgefäß anschließend über Nacht bei 37°C inkubiert, haben wir im nächsten Schritt mit dem Proben von der Gruppe vom Vortag weitergearbeitet.

Bei der Entfärbung wurde die GUS-Färbelösung zunächst abpipettiert. Unterm Abzug wurden dann 500 $\mu$ L Ethanol-Essigsäure-Mix in das Reaktionsgefäß gegeben. Da auch hier das Entfärben über Nacht passierte, wurde anschließend eine Probe einer anderen Gruppe stereomikroskopisch analysiert. Hierzu wurde die entfärbte Probe auf einem Objektträger platziert und tropfenweise Ethanol (70%) hinzugegeben. Es wurde festgehalten, wo die Färbung aufgetreten ist.

## 2.2 morphologische Beurteilung der Mutation anhand der Blütenbildung

Es wurde phänotypisch die Blütenblätter der Mutanten 1 bis 5 unter einem Stereomikroskop untersucht.

## 3 Ergebnis

### 3.1 Auxin- und Cytokininaktivität

#### 3.1.1 Auxinaktivität

#### 3.1.2 Cytokininaktivität

Mittels GUS-Färbung konnten die Gewebeteile, die eine Cytokinin (CK)-Aktivität zeigen, angefärbt werden. Nach Betrachtung unter dem Stereo-Mikroskop ist zu erkennen, dass vor allem die Leitbündel der Blätter eine Färbung zeigten (Figure 1, Rechts). Die Infloreszenzen hingegen zeigten eine starke Färbung in den Blütenböden, die als kleine Punkte sichtbar waren. (siehe Figure 1, links). Bei der Frucht (Schote) konnte keine eindeutige Färbung ausgemacht werden. Es konnte jedoch eine leichte Zunahme der Färbung von der Narbe hin zum Fruchtsiel, beobachtet werden (siehe Figure 1 Mitte).

Anhand der zur Verfügung gestellten Dauerpräparate konnte man ebenfalls die CK-Aktivität in anderen Pflanzenteilen erkennen. Hier waren vor allem die Wurzeln stark gefärbt (siehe Figure 2). Zusätzlich zeigte sich, wie auch in der vorherigen Probe eine Färbung der Leitbündel der Blätter.

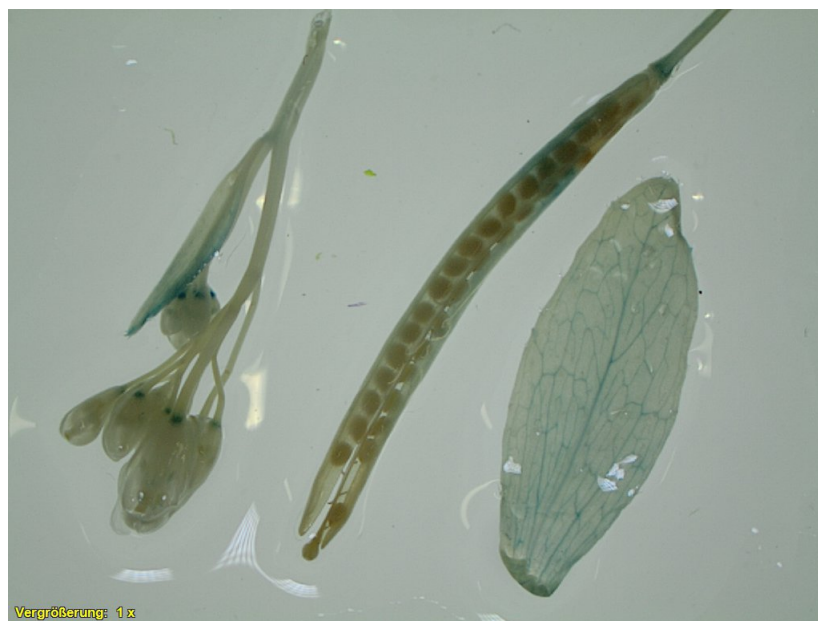


Figure 1: Mit GUS-Färbung angefärbte Infloreszenzen, Schote und Blatt von transgener Arabidopsis thaliana (mit TCS-Reportergen)



Figure 2: Fertigpräparate von transgenen *A. thaliana* Keimlingen (TCS-Reportergen), gefärbt mit GAU-Färbung

### 3.2 Phänotypische Analyse der Blüte



(a) Mutant 1



(b) Mutant 2



(c) Mutant 3



(d) Mutant 4



(e) Mutant 5

Figure 3: Stereomikroskopische Aufnahme der Blüten von der *Arabidopsis thaliana* Mutanten 1-5 in der 1x-Vergrößerung

Die erste Mutante besitzt Staubblätter und Fruchtblätter (siehe Figure 3a). Die zweite Mutante besitzt ebenfalls nur Staubblätter und Fruchtblätter (siehe Figure 3b). In Figure 3c ist in der dritten Mutante zu sehen, dass die Fruchtblätter nur von Kelchblättern umgeben ist, welches phänotypisch auch Mutant 4 vorweist (siehe Figure ??). Die fünfte Mutante besitzt Kelchblätter, die in Figure 3e nicht gut zu sehen ist und Kronenblätter.

## 4 Diskussion

### 4.1 Floral homöotische Gene

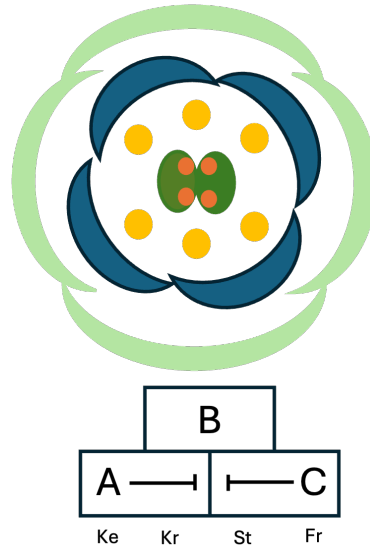


Figure 4: ABC-Modell des Floral homöotische Gen als Diagramm des Wildtypes und Blütendiagramm vom *Arabidopsis thaliana*.

Kr = Krone, Ke = Kelch, St = Staub, Fr = Frucht -Blätter

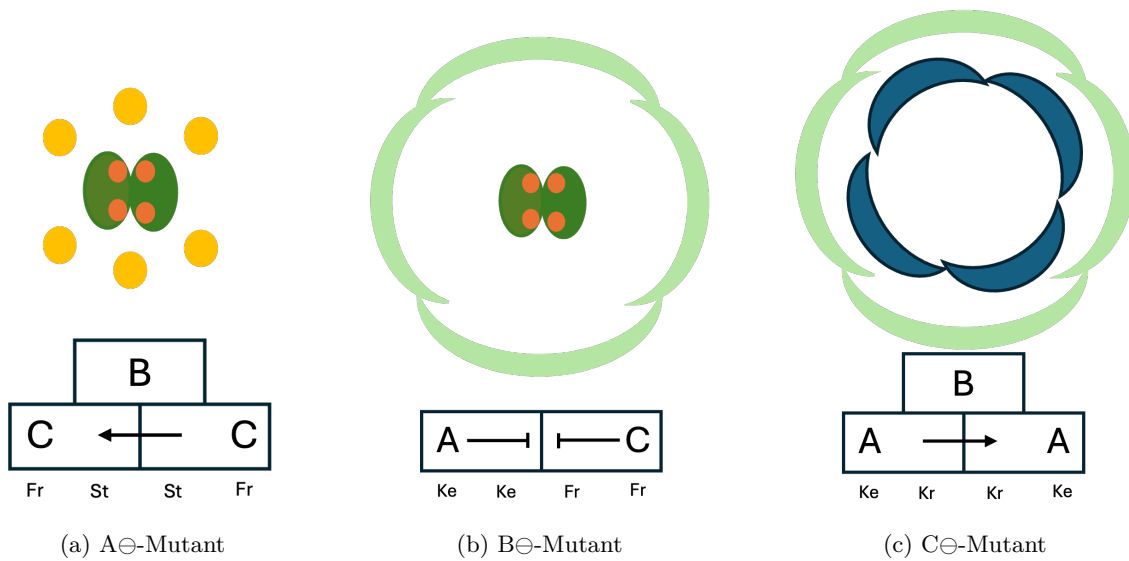


Figure 5: Stereoikroskopische Aufnahme der Blüten von der *Arabidopsis thaliana* Mutanten 1-5 in der 1x-Vergrößerung

## 5 Anhang