© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/


# Biokonvektionsmuster in Kulturen der Alge Euglena gracilis

Andrea Kamphuis

**Gießt man eine dichte Kultur negativ geotaktischer Einzeller zu einer flachen Schicht aus, so entstehen oft in wenigen Minuten flächenfüllende Muster. Schon eine einzige Spezies, hier *Euglena gracilis*, präsentiert eine verblüffende Strukturvielfalt, wenn man in einfachen Experimenten mit den Parametern spielt. Der Mechanismus der Musterbildung – Biokonvektion – ist bekannt, aber viele Details harren der Klärung.**

So mancher Biologe wird dem Phänomen am Rande seiner Arbeit schon begegnet sein: Man erinnert sich an einen vergessenen Erlenmeyerkolben mit Protozoen oder einzelligen Algen und stellt fest, daß sich in dem flachen Rest der dichten, stationären Kultur Schlieren gebildet haben. Wer diesen Rest jetzt achselzuckend aufschüttelt oder in den Ausguß gibt, bringt sich um eine ästhetisch und intellektuell reizvolle Erfahrung. (Der Physiker John Kessler, der sich lange mit diesen Schlieren beschäftigt und einen wesentlichen Beitrag zu ihrer Erklärung geleistet hat, pflegt sich über die Zwangsneurose seiner physiologisch oder biochemisch geprägten Biologie-Kollegen lustig zu machen, jede Flüssigkeit, in der sie Strukturen finden, sofort kräftig umzurühren!) Gießt man die Kultur nämlich zur besseren Beobachtung in eine Petrischale, so arrangieren sich die Schlieren – von oben als Punkte oder Linien wahrgenommen – nach wenigen Minuten in Form eines flächenfüllenden Musters von fast kristalliner Regelmäßigkeit (Abb. 1). Wer nach den Ursachen fragt, lernt viel über das individuelle Schwimmverhalten der Einzeller, die Hydrodynamik zäher Flüssigkeiten und das Wechselspiel beider Faktoren, das zur Emergenz der Muster führt.

Einer der ersten, die sich in dieses Grenzland zwischen Biologie und Physik wagten, war der britische Biologe Harold Wager. „On the effect of gravity upon the movements and aggregation of *Euglena viridis*" seine fast 60seitige Abhandlung aus dem Jahre 1911, ist die Frucht mehrjähriger akribischer Beobachtung der aus seinem Gartenteich isolierten Algen. In

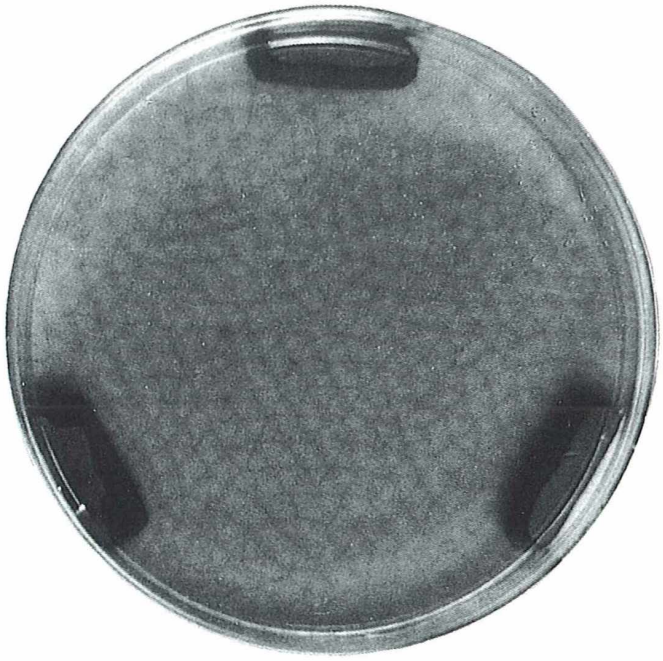


**Abb.: Regelmäßiges Netzmuster in abgedeckter Petrischale nach einigen Stunden Ruhe in Dunkelheit.**

Glasröhren und liegenden Flachküvetten, mit denen Wager arbeitete, bildeten sich Netze aus: miteinander verknüpfte Linien extrem hoher Zelldichte. Er sah, daß die Maschenweite der Netze von zwei Parametern abhängt: Kulturkonzentration – je dichter, desto enger – und vertikale Ausdehnung der Flüssigkeit – je flacher, desto enger. Daß die Neigung der Zellen, aufwärts zu schwimmen, notwendige Bedingung der Musterbildung ist, erkannte er, und daß die scheinbar ruhende Flüssigkeit sich permanent in Umwälzung befindet. Mit anorgani-

 © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

schen Substanzen erzeugte er in Analog-Experimenten sehr ähnliche Netzstrukturen, was ihn zu Spekulationen über allgemeine Gesetze der Musterbildung veranlaßte.

### *Beobachtungsmethoden*

Ohne großen technischen Aufwand können wir Wagers Experimente wiederholen und so variieren, daß sich ein noch reicheres Spektrum an Mustern auftut. Besonders reizvoll ist der Einsatz einer Stereolupe, deren feinstufig verstellbare Vergrößerung uns den nahtlosen Übergang vom makroskopischen Blick aufs Ganze zum mikroskopischen Blick auf die einzelne Zelle ermöglicht, und einer Videokamera, mit der wir die Dynamik der Muster dokumentieren können.
Die Zellkultur – jeder gewöhnliche Stamm z. B. von *Euglena gracilis* ist geeignet – sollte eine Dichte von mehr als $1 \times 10^6$ Zellen/ml erreicht haben. Sowohl in nach oben offenen als auch in abgedeckten Flüssigkeitsschichten bilden sich Muster. Der geschlossene Aufbau ist weniger anfällig für störende Luftbewegungen. Man legt den Deckel einer Kunststoffpetrischale umgekehrt auf eine helle, ebene Fläche, auf einen Dialeuchttisch oder den Leuchtfuß einer Lupe mit Kameraanschluß. Aus Knetmasse formt man drei Abstandhalter definierter Höhe (minimal 2 bis 3 mm), legt sie in den Deckel, füllt ihn mit der Zellkultur und setzt den Boden der Petrischale darauf (Abb. 2 a). Um die Schlieren von der Seite zu betrachten, konstruiert man eine einfache Flachküvette (Abb. 2 b). Bei Schichten bis zu etwa 8 mm Dicke erhält man beim Durchfokussieren mit der Lupe noch ein ausreichend kontrastreiches Bild.
Die regelmäßigsten Muster bilden sich erfahrungsgemäß in Schichten von 3 bis 4 mm Tiefe nach einigen Stunden der Ruhe in Dunkelheit; die optimalen Bedingungen können aber von Kultur zu Kultur variieren, da z. B. das Schwimmverhalten der Zellen von ihrer endogenen Rhythmik abhängt. Zur Beobachtung und Dokumentation muß Licht eingesetzt werden. Will man dabei musterverändernde Effekte vermeiden, so sollte man Rotlicht verwenden und darauf achten, daß sich die Kultur nicht erwärmt. Allerdings führt oft gerade die Veränderung der Muster durch seitlich oder von unten einfallendes Licht zu den spektakulärsten Resultaten. Zwei Parameter des Aufbaus lassen sich recht einfach variieren: Die Flüssigkeitshöhe – optimal zwischen 2 und 8 mm, aber man betrachte auch einmal eine mehrere Zentimeter tiefe Schicht – und die Kulturkonzentration – zwischen $5 \times 10^5$ und $5 \times 10^6$ Zellen/ml. Für beide Parameter gibt es kritische Mindestwerte, unterhalb derer die Flüssigkeit unstrukturiert bleibt.

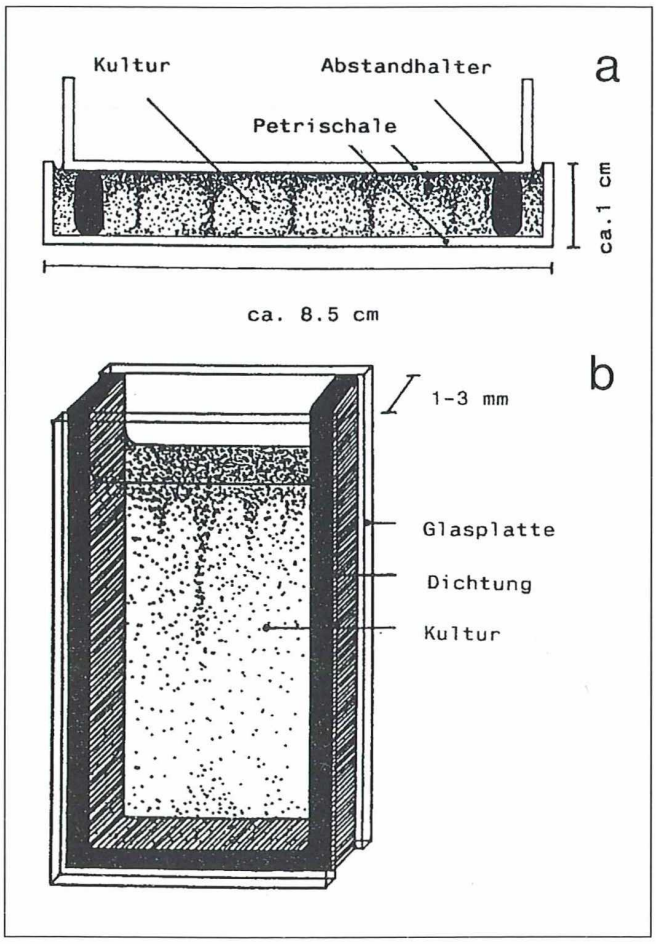



**Abb. 2: a) Petrischale mit fester Oberfläche (Querschnitt). – b) Flachküvette.**

### *Panoptikum der Muster*

Drei Grundmuster lassen sich unterscheiden: Punkte (Abb. 3 a), Netze (Abb. 1, 3 b) und Streifen (Abb. 4). Streifen findet man zum einen am Gefäßrand, zu dem sie meist etwa senkrecht stehen (Abb. 3 a, 4 a), zum anderen bei seitlich einfallendem Licht. Kurioserweise stehen sie dann mal senkrecht, mal auch parallel zur Einfallrichtung – vermutlich hängt das von der Lichtstärke und dem Einfallwinkel ab. Während Gefäßrandstreifen auch von Mutanten gebildet werden, die sich nicht nach dem

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/ 

Licht orientieren, gibt es lichtorientierte Streifen nur in Kulturen phototaktischer Stämme. In Gefäßen mit unterschiedlichen Schichthöhen nimmt die Maschenweite der Netzmuster im allgemeinen mit der Höhe etwas zu (Abb. 5). Man kann subkritische, für Punktmuster ausreichende und für Netze geeignete Schichten auch in *einer* Petrischale erzeugen, indem man sie etwas neigt. In einer Serie mit steigender Kulturkonzentration entstehen typischerweise zunächst Punkte, die sich dann immer stärker vernetzen (Abbildung 6 zeigt ein Punktmuster mit ersten zarten Verbindungsarmen); die Maschenweite der Netze nimmt ab. In allzu dichten Kulturen sind die Muster unruhig und verschwommen.

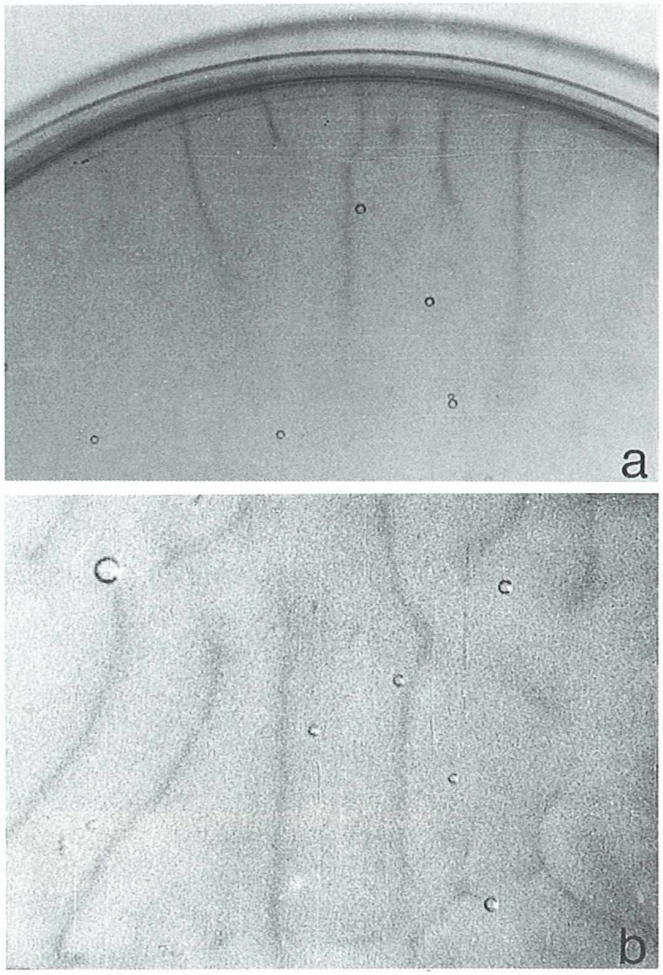



**Abb. 4: a) Streifen am Schalenrand. – b) Streifen in 5 mm tiefer Schicht, senkrecht zur Lichteinfallrichtung; typischer Streifenabstand 5 mm.**

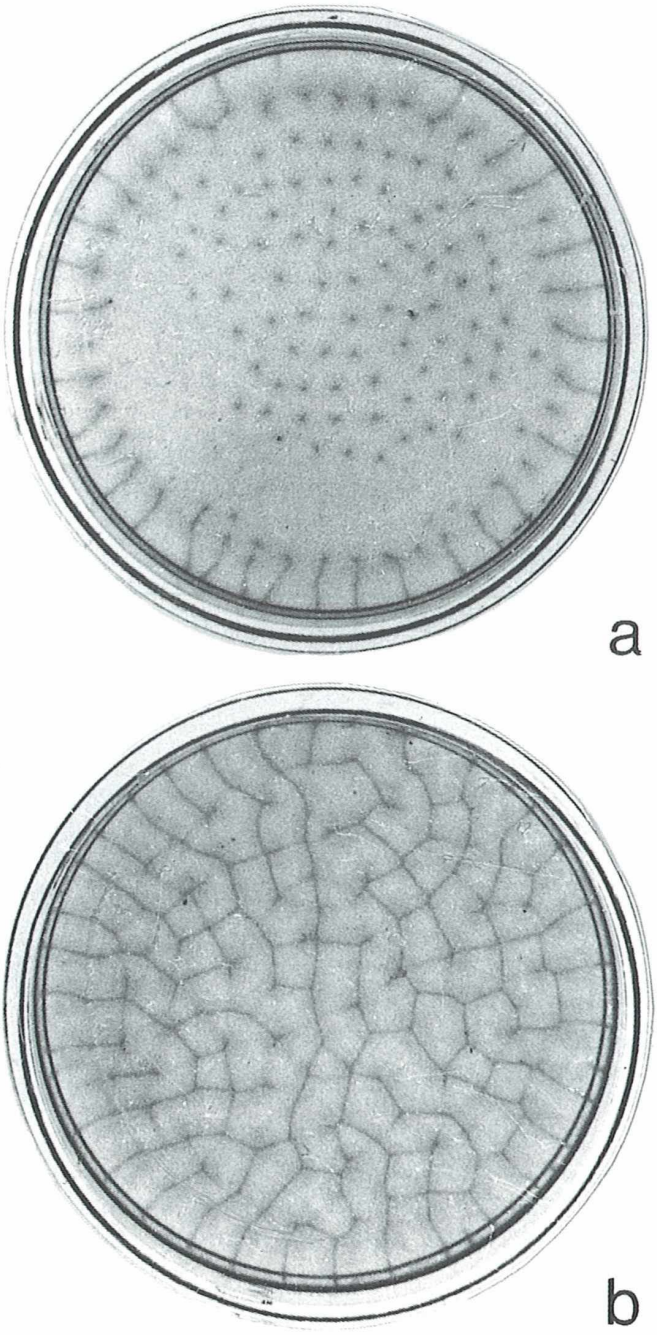



**Abb. 3: a) Aufsicht auf sehr flache Flüssigkeitsschicht. In der Mitte Punktmuster, am Rand Streifen. – b) Netzmuster in tieferer Flüssigkeitsschicht. Beide Schalen sind oben offen.**

Neben den Grundmustern gibt es Übergangsformen und Abweichungen. So sind die Punkte oft nur in sehr flachen Schichten gestochen scharf wie in Abbildung 3 a, in höheren und dichteren Schichten aber verschwommen wie in Abbildung 7. Wenn sie noch weiter „auslaufen", so sieht man Schollen, die im Idealfall die hexagonale Anordnung von Bienenwaben einnehmen. Bleiben sie etwas unregelmäßig wie in Abbildung 8, so erinnern sie den Zoologen vielleicht an ein Giraffenfell, den Mathematiker an sogenannte Voronoi-Diagramme. Unregelmäßige, bewegte Strukturen wie in Abbildung 9 sind transient; sie tauchen kurz nach dem Ein-

 © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

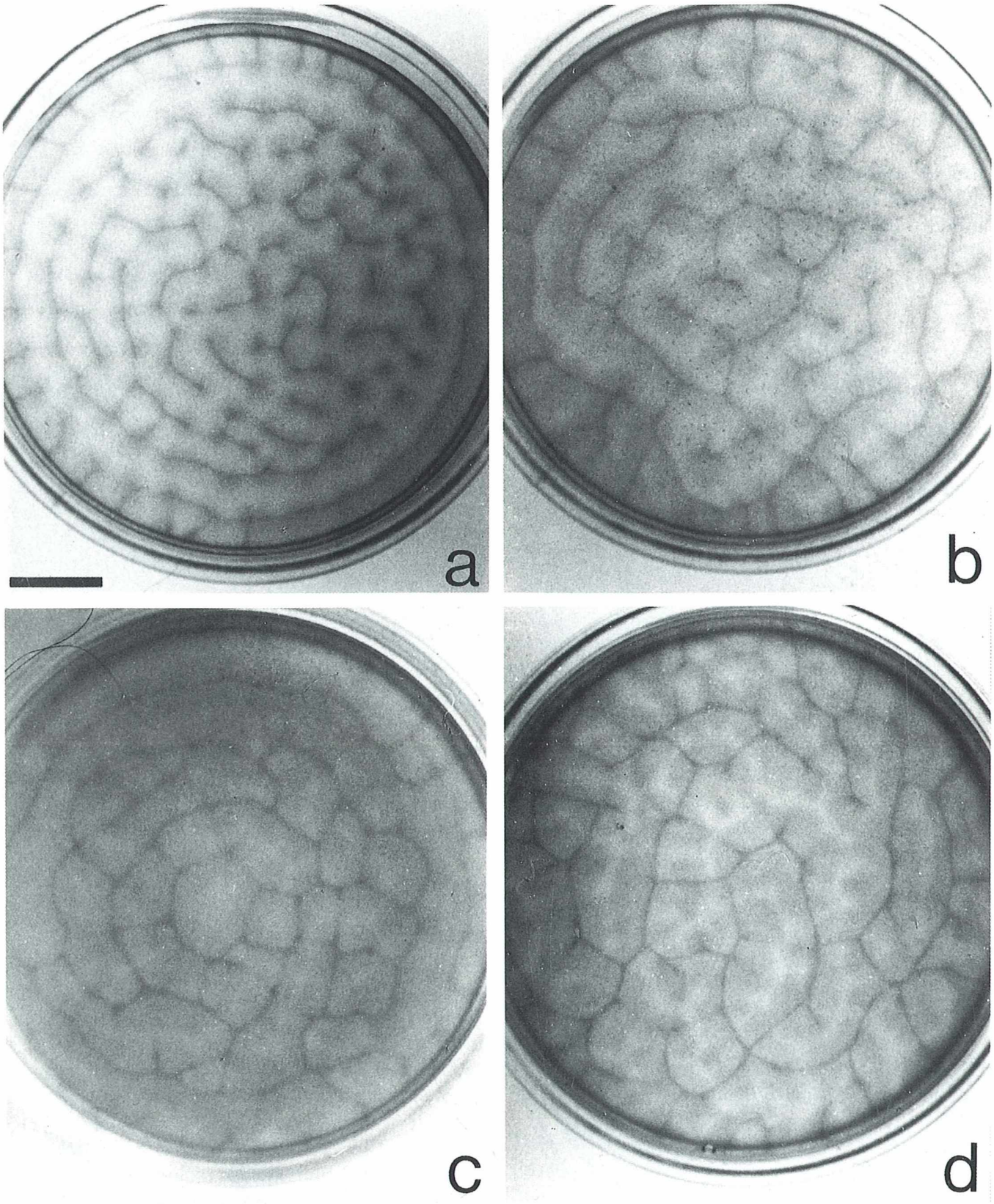



**Abb. 5: Einfluß der Schichtdicke auf die Musterweite. Tiefe in a) 3 mm, b) 4 mm, c) 5 mm und d) 6 mm. Typische Musterweite in a) 3–4 mm, in d) 8–10 mm. Kulturdichte 1,1 × $10^6$ Z./ml.**

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

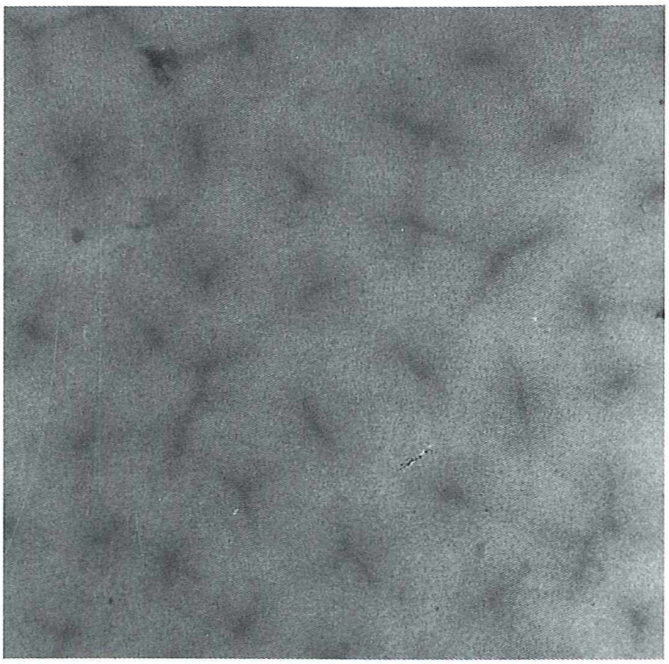



Abb. 6: Punkte mit einigen Verbindungsarmen.

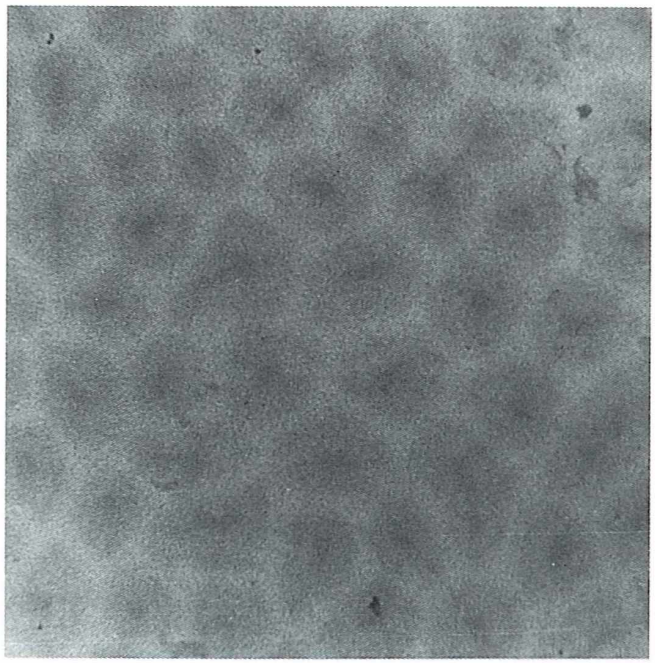


Abb. 8: Schollenmuster. Schichttiefe 5 mm, typischer Schollendurchmesser 8 mm.

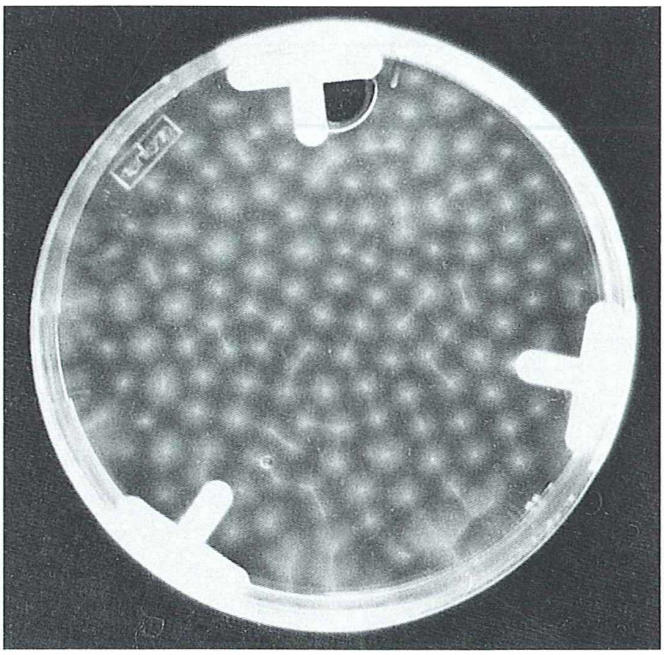


Abb. 7: Punktmuster einer weißen *Euglena*-Mutante vor dunklem Untergrund. Schichttiefe 3 mm, Musterweite etwa 5 mm.

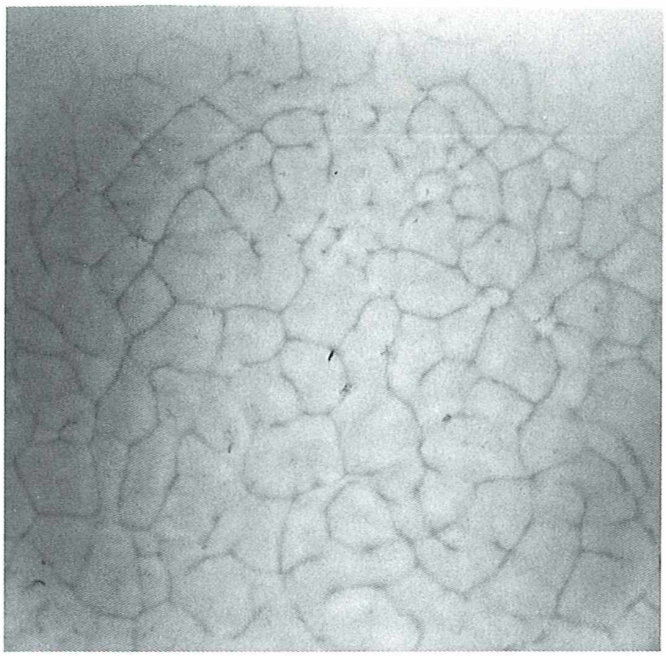


Abb. 9: Transientes Netzmuster.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

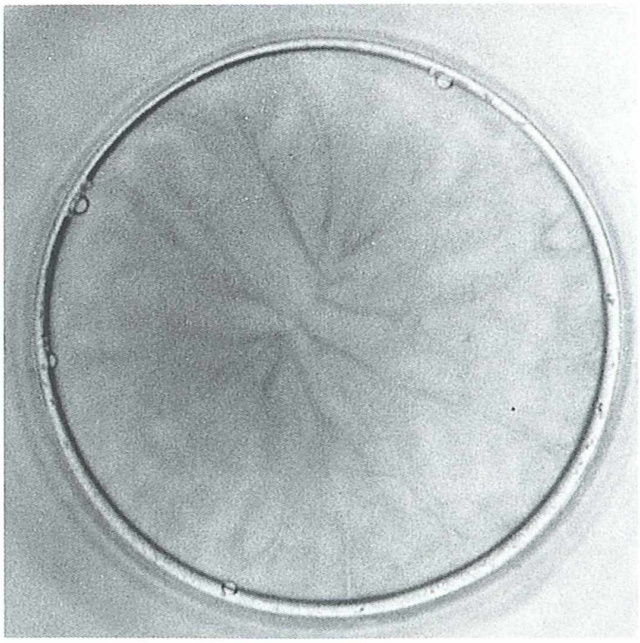


Abb. 10: Sternstruktur in einem Becherglas. Schicht gut einen Zentimeter tief.

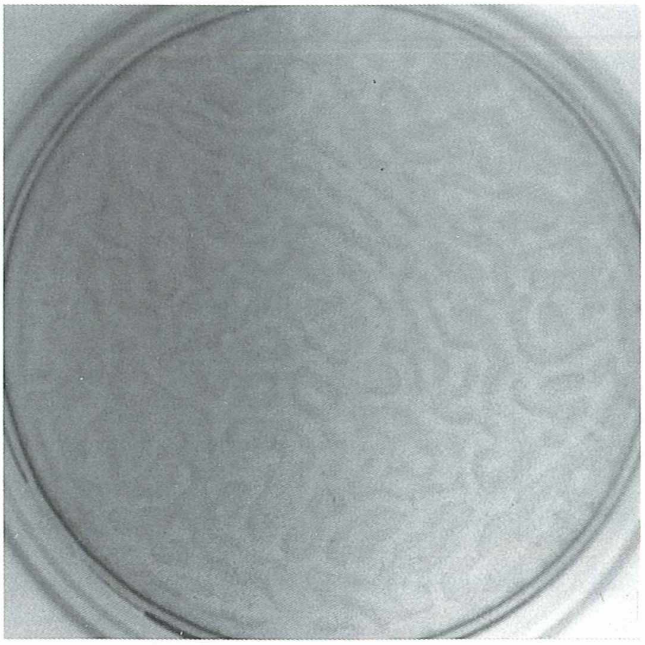


Abb. 11: Labyrinthmuster in oben offener Petrischale.

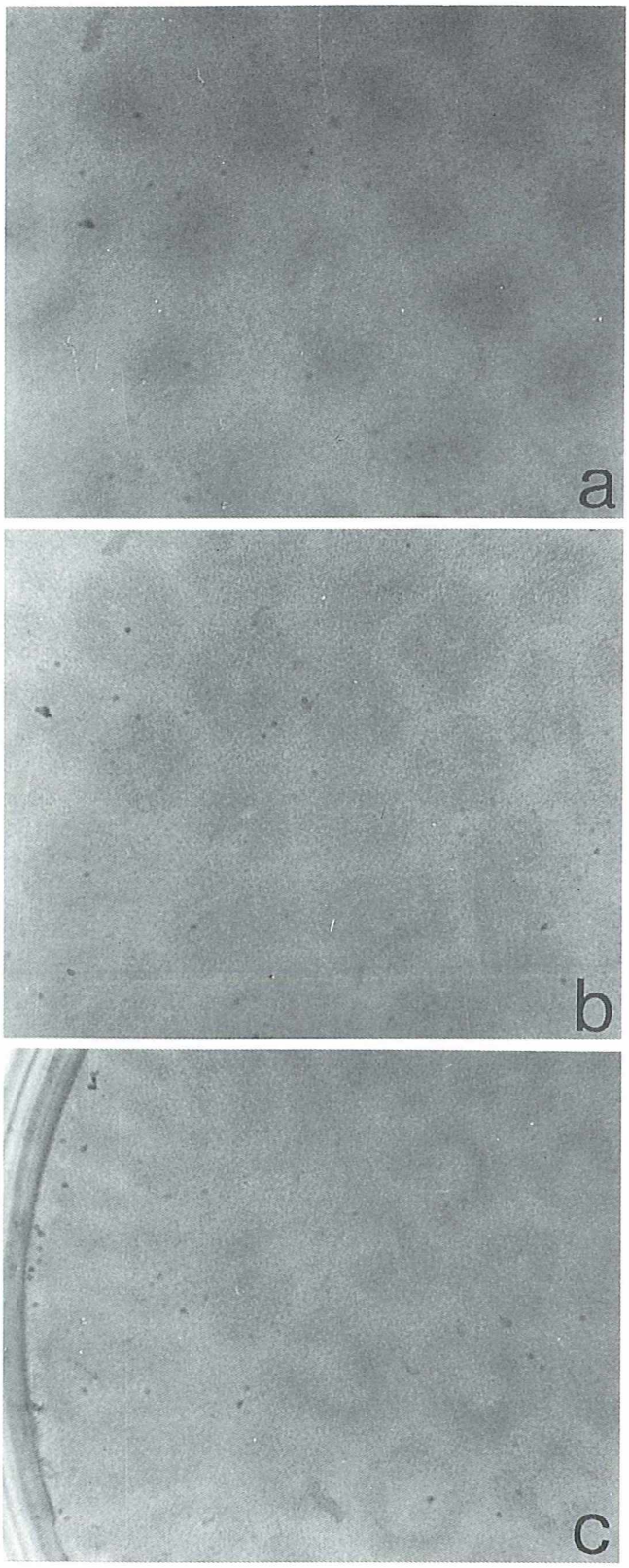
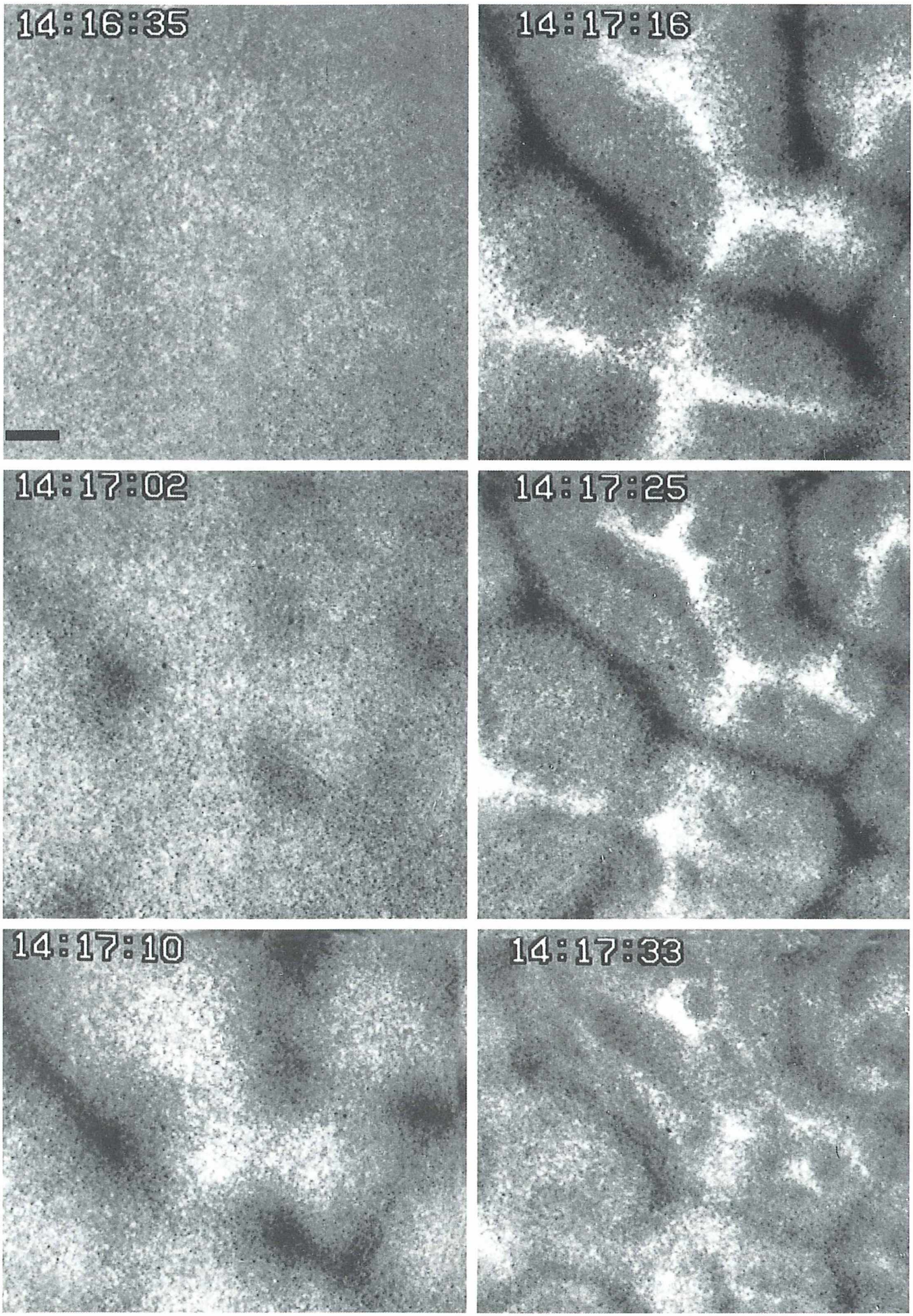



Abb. 12: Entstehung eines „Leopardenfell"-Musters (c) aus einem Punktmuster (a). Beleuchtung von unten, Punktabstand ca. 8 mm.

Abb. 13: Videoprintserie zur Mustergenese. Zwischen dem ersten und dem letzten Bild liegt knapp eine Minute. Schichttiefe 4,5 mm, Beleuchtung von unten, offene Oberfläche. ▶

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

 © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

füllen der Flüssigkeit in die Schale auf und machen bald z. B. einem Punktmuster Platz. Die sternförmige, verzweigte Gestalt in Abbildung 10 hat sich in einer mehr als 1 cm tiefen Schicht in einem Becherglas mit Kulturresten herausgebildet. Ursache war wahrscheinlich ein leichter Wirbel in dem Glas, der die Zellen mittels der Corioliskraft ins Zentrum trieb und so einen radiären Konzentrationsgradienten erzeugte. (Man denke an die Ansammlung von Teeblattstückchen in der Mitte einer Teetasse!) Ebenfalls eher ein Ausnahmemuster ist das Labyrinth in Abbildung 11: Diese Kultur war sehr alt und hochgradig mit Bakterien durchsetzt; nur die oberste Flüssigkeitsschicht ist strukturiert. Beleuchtet man ein Punktmuster von unten (Diatisch!), so verschwimmen die Konturen zunächst, sodann entstehen zentrale Löcher innerhalb der Flecken. Schließlich sind Ringe an die Stelle der Punkte getreten, und das Muster wirkt wie ein Ausschnitt aus dem Fell eines Leoparden (Abb. 12). Bei weiterer Beleuchtung löst sich das Muster auf.

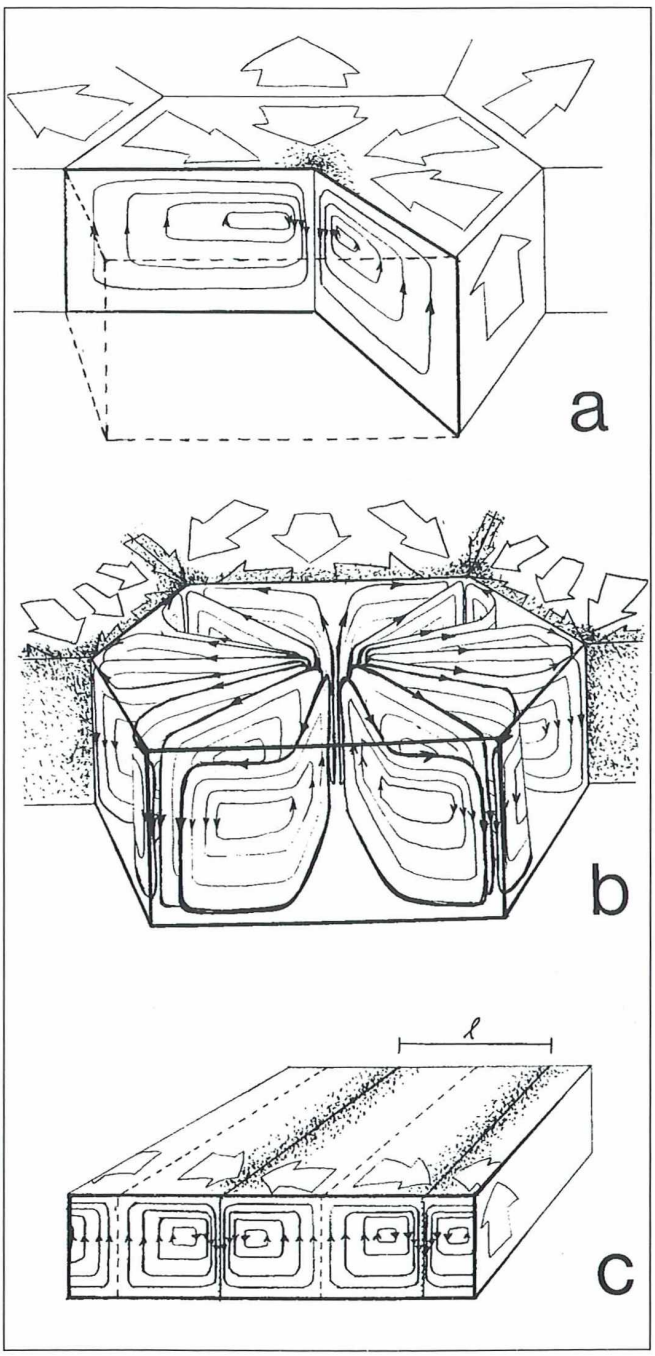



**Abb. 14: Strömungsverhältnisse in Punkt-(a), Netz- (b) und Streifenmustern (c).**

Filmt man eine frisch gefüllte Petrischale von oben durch die Lupe, so kann man die Genese des Musters und seine anschließende Deformation durch das von unten einstrahlende Licht dokumentieren (Abb. 13): Die eingeblendete Uhr zeigt, daß binnen einer halben Minute in einer zunächst homogen wirkenden Zell-Suspension ein Punktmuster entsteht. Die Punkte zerlaufen zu Schollen und bilden zugleich Verbindungsstrecken aus. Nach insgesamt einer Minute sind die Linien und Punkte einer diffusen Struktur gewichen, die sich über Stunden halten kann.

Wie schon dieser kurze Gang durch das Panoptikum der Muster zeigt, bedienen wir uns bei ihrer Benennung und Beschreibung vieler Analogien: Wir fühlen uns an Giraffen- und Leopardenfelle, Bienenwaben, Sterne (für Modebewußte: Fraktale!), Eisschollen, Labyrinthe etc. erinnert. Wie weit gehen diese Ähnlichkeiten? Liegen sie in der Natur unserer Wahrnehmung oder in der „Natur der Natur"? Sind die *Euglena*-Muster mit ihren Namensgebern mehr als nur oberflächlich, nämlich ursächlich verwandt? Um diese Frage zu klären, müssen wir uns zunächst mit der Ursache der Strukturbildung in unseren Algenkulturen befassen.

### *Strömungsverhältnisse*

Alle in der Literatur beschriebenen Organismen, die in Flüssigkulturen Muster wie die hier gezeigten ausbilden, haben dreierlei gemeinsam: Ihr spezifisches Gewicht liegt etwas über dem des Kulturmediums, die einzelne Zelle schwimmt bevorzugt aufwärts („negative Geotaxis"), und dennoch ist gerade in tiefen Flüssigkeitsschichten die Zellkonzentration in der Nähe des Bodens besonders hoch. Offenbar setzt unter bestimmten Bedingungen ein physikalischer Transportmechanismus ein, der effektiver ist als das aktive Schwimmen: die Biokonvektion.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/ 

Wärmekonvektion kennen wir aus Kochtöpfen oder Ölbädern: Einer Flüssigkeit wird von unten Hitze zugeführt. Die bodennahe Schicht dehnt sich aus; dadurch wird die Dichteverteilung in der Flüssigkeit instabil. Schwere Flüssigkeit von oben sinkt ab, leichte von unten steigt auf. Unter allen möglichen Strukturen setzt sich diejenige durch, die am effektivsten Wärme nach oben abführt: meist ein Bienenwabenmuster aus hexagonalen Konvektionszellen. Ähnliches geschieht in unseren Algenkulturen: Die negativ geotaktischen Zellen versammeln sich an der Oberfläche der Flüssigkeit und machen diese obere Schicht damit schwerer als die zellarmen Schichten darunter. Vereinfacht kann man die Kultur nun als zusammengesetzt aus zwei Flüssigkeiten verschiedener Dichte betrachten. Damit diese beiden Flüssigkeiten die Plätze tauschen können, muß eine kritische Dichtedifferenz überschritten werden. Dies geschieht zunächst an zufälligen Orten in der oberen Schicht, die durch das stochastische (d. h. zufällige) Element im Bewegungsverhalten der Zellen eine noch höhere Dichte erreichen als ihre Nachbarschaft. Hier beginnt die Flüssigkeit sich umzuwälzen. Die ersten Muster sind also noch unregelmäßig. Da die Individuen weiterhin dazu tendieren, nach oben zu schwimmen, wird die obere Schicht immer wieder mit überschüssiger Dichte aufgeladen; so bleibt die Konvektion in Gang. Die ungleich großen Konvektionszellen mit unregelmäßig-polygonalen Grundrissen üben nun seitlich Druck aufeinander aus: In kleinen Zellen ist der Druckabfall während eines kompletten Umlaufes geringer als in großen, daher üben sie mehr Druck auf ihre Nachbarn aus als umgekehrt. Die Grenzen zwischen den Konvektionszellen verschieben sich allmählich. Wird ein Kräftegleichgewicht zwischen ihnen erreicht, so ist das Muster regelmäßig. In sehr tiefen oder dichten Kulturen wird dieser Zustand nie erreicht: Die Schlieren, in denen die schwere Flüssigkeit absinkt, ordnen sich nicht regelmäßig an. Abbildung 14 zeigt schematisch, wie in den Grundmustern die Flüssigkeit strömt. Die Zellen bewegen sich nun auf drei Arten, charakterisiert durch drei verschiedene Geschwindigkeiten: Sie schwimmen aktiv mit etwa 100 µm/sec; aufgrund der Gravitation sinken sie mit circa 10 µm/sec ab; und bis zu 1000 µm/sec schnell nimmt die Strömung sie mit.

Wie können sich trotz der starken Eigenbeweglichkeit der Organismen so klare Strukturen, so extreme Konzentrationsgefälle ausbilden und vor allem erhalten? Der Blick auf eine große, senkrecht stehende Flachküvette in Abbildung 15 zeigt, daß die unmittelbare Nachbarschaft der sinkenden Schlieren heller, also zellärmer ist als der Rest der Kultur. Die Schlieren saugen förmlich Zellen aus der Umgebung auf. Die Ursache hierfür fand John Kessler: Gyrotaxis. In Abbildung 16 ist der physikalische Mechanismus skizziert. Abbildung 16 a zeigt zunächst, wie man sich die Aufwärts-Tendenz der Zellen erklärt: Wenn das Massezentrum hinter dem geometrischen Mittelpunkt der Zelle liegt, wirkt ein Drehmoment, das die Zelle allmählich aufrichtet. (Es gibt allerdings auch andere, physiologische Theorien der Geotaxis!) In Abbildung 16 b tritt eine ungleichförmige Abwärtsströmung hinzu: An der Peripherie einer Schliere ist die Flüssigkeitsgeschwindigkeit aufgrund der Reibung geringer als in ihrem Zentrum. Gerät eine Zelle in diesen Gradienten, so erfährt sie ein zweites Drehmoment. Die Drehmomente heben einander auf, falls die Zelle – wie im Bild – auf das Zentrum der Strömung zuschwimmt. Schwimmt sie von der Schliere fort, so wirken beide in die gleiche Richtung, und die Zelle rotiert so lange, bis ihr Bewegungsvektor in Richtung der Schliere weist. So werden die Zellen in die Schliere hineingezwungen.

Bei einigen der gezeigten Mustern wirken weitere Faktoren, insbesondere das Licht, dem die

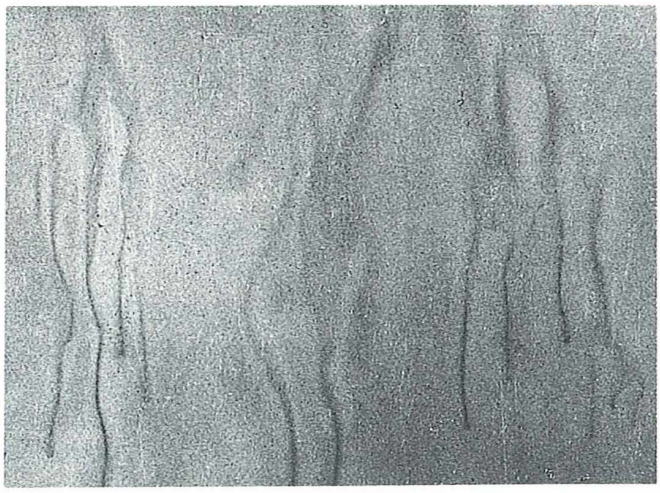


**Abb. 15: Gyrotaxis in einer großen Flachküvette. Höhe etwa 11 cm, Küvettenweite 2 mm. In der Nachbarschaft der hochkonzentrierten Schlieren ist die Kulturkonzentration besonders niedrig.**

 © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

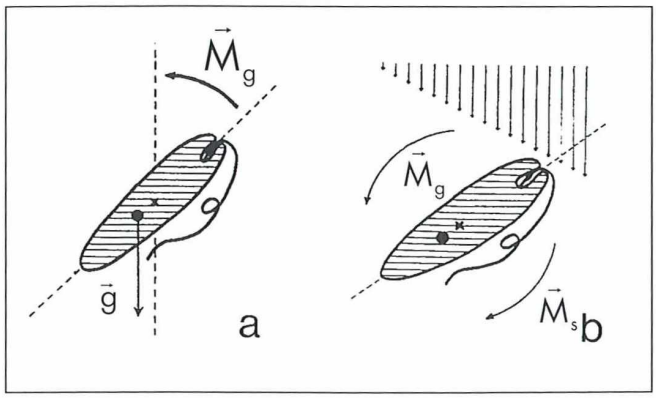



**Abb. 16: Physikalische Ausrichtung der Zellachse. – a) Liegt das Massezentrum (Punkt) hinter dem geometrischen Zellmittelpunkt (Kreuz), so bewirkt die Gravitation g ein Drehmoment $M_g$, das die Zelle allmählich aufrichtet. – b) In einem Strömungsgradienten tritt ein zweites Drehmoment $M_s$ hinzu, das – je nach Orientierung der Zelle – eine Stabilisierung der Ausrichtung (Drehmomente gegensinnig) oder eine Rotation der Zelle (Drehmomente gleichsinnig) bewirkt.**

phototaktischen Euglenen zustreben. So erklärt sich z. B. das Leopardenfell-Muster (Abb. 12): Ein Punktmuster wird von unten angestrahlt; die Euglenen wenden sich dem Licht zu, verlassen die Oberflächenschicht. Die Trägheit der Flüssigkeitsbewegung sorgt dafür, daß die Konvektionszellen dennoch weiter umgewälzt werden. Also gerät nun nicht mehr zellreiche, sondern zellarme Flüssigkeit aus der Oberflächenschicht in die Schlieren: die Punkte werden ausgehöhlt. Nach einiger Zeit löst sich die Struktur auf, weil immer mehr Zellen nach unten schwimmen und die Strömung allmählich ausklingt.

Nachdem nun die wesentlichen Ursachen für die Strukturbildung in dichten Kulturen negativ geotaktischer Einzeller genannt wurden, greifen wir die Frage wieder auf, warum uns zu jedem Muster ein anderes einfällt. Zweifellos hat Mustererkennung einen hohen Selektionswert: Wer Muster in der Welt erkennt, kann planvoll handeln. Es gibt wohl tatsächlich allgemeine „Gesetze" der Musterbildung, wie sie schon Wager suchte: Struktur entsteht, wenn mindestens zwei Prinzipien zugleich, gegenläufig und mit unterschiedlicher Reichweite wirken. Im Falle der hier gezeigten Muster: Aufwärtsschwimmen versus Abwärtsströmung, gerichtete Bewegung versus Diffusion, Schwerkraft versus Oberflächenspannung, negative Geotaxis versus positive Phototaxis. Wer sich auf das Spiel mit den Biokonvektionsmustern einläßt, wird unschwer weitere Aspekte finden.

### *Literaturhinweise*

Brinkmann, K.: An Phasengrenzen induzierte ein- und zweidimensionale Kristallmuster in Kulturen von *Euglena gracilis*. Z. Pflanzenphysiol. *59*, 364–376 (1968).

Deutsch, A. (Hrsg.): Muster des Lebendigen. Faszination ihrer Entstehung und Simulation. Vieweg, Wiesbaden 1994.

Kessler, J. O.: Hydrodynamic focusing of motile algal cells. Nature *313*, 218–220 (1985).

Meinhardt, H.: Models of Biological Pattern Formation. Academic Press, London 1982.

Nultsch, W., Hoff, E.: Neuere Untersuchungen zur Musterbildung bei Euglenen. Arch. Protistenk. *155*, 336–352 (1973).

Pedley, T. J., Kessler, J. O.: Hydrodynamic phenomena in suspensions of swimming microorganisms. Annu. Rev. Fluid Mech. *212*, 155–182 (1992).

Platt, J. R.: „Bioconvection patterns" in cultures of free-swimming organisms. Science *133*, 1766–1767 (1961).

Thiele, R.: Über Lichtadaption und Musterbildung bei *Euglena gracilis*. Arch. Mikrobiol. *37*, 379–398 (1960).

Wager, H.: On the effect of gravity upon the movements and aggregation of *Euglena viridis* Ehrb., and other microorganisms. Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B *201*, 333–390 (1911).

*Verfasserin*: Andrea Kamphuis, Abteilung für theoretische Biologie, Botanisches Institut der Universität Bonn, Kirschallee 1, D-53115 Bonn

DIE KÄFER MITTELEUROPAS

**Larven.** Von Prof. Dr. B. Klausnitzer
Band L 3: **Polyphaga**/Teil 2
1996. Etwa 340 S., 1400 Abb., geb. etwa DM 190,-

**Weitere lieferbare Bände:**
**Systematik**, Band 1 - Band 15
**Faunistik**, Band K und Band K 2
**Ökologie**, Band E 1 - Band E 9
**Larven**, Band L 1 und Band L 2

Nähere Informationen erhalten Sie auf Anfrage.

SEMPER BONIS ARTIBUS GUSTAV FISCHER