

Phototaktische Reaktion von *Asplanchna priodonta* bei monochromatischem Reizlicht

Phototactic Reactions of *Asplanchna priodonta* to Monochromatic Light

Horst Hertel *

Fachbereich Biologie, Zoologie, Technische Hochschule Darmstadt

Z. Naturforsch. **34 c**, 148–152 (1979) ; eingegangen am 16. August/20. Oktober 1978

Rotifer, Phototactic Reaction, Spectral Sensitivity, Swimming Track and Speed

1. The spectral sensitivity curve of the positive phototactic reaction of the rotifer *Asplanchna priodonta* has a triple peak. The maxima lie at 363 nm, 453 nm and 552 nm.
2. In the shortest wavelength tested and in the area of 453 to 594 nm was the precision of the phototactic orientation found to be high. In between lies a minimum at 395 nm, above 594 nm occurs a rapid decrease in phototactic orientation.
3. No wavelength specific differences in the way of orientation were found when using different monochromatic test light stimuli. This leads to the concept that all 3 ocelles consists of the same mixture of photopigments.

Einleitung

Untersuchungen der phototaktischen Reaktion, die Viaud [1–3] mit Turbellarien (*Planaria*), Rotatorien (*Brachionus calyciflorus*, *Asplanchna girodi*) und Crustaceen (*Daphnia pulex*) durchführte, führten zu seiner Vorstellung, daß die Lichtperzeption bei Tieren grundsätzlich über zwei unterschiedliche Mechanismen erfolge: zum einen über einen dermalen Lichtsinn mit einem spektralen Empfindlichkeitsmaximum bei 360 nm, zum anderen über Photorezeptoren, die im sichtbaren Spektrum arbeiten sollen. Hierbei bewirke der Hautlichtsinn eine photokinetische Bewegung zum Licht, während über Photorezeptoren eine präzise Steuerung möglich wäre. Mittlerweile wurden bei Arthropoden spezielle Photorezeptoren für den UV-Bereich nachgewiesen (ref. [4]), so daß die Hypothese Viauds [3] zumindest für diesen Tierstamm nicht zutreffend ist.

Besonders geeignet zur Überprüfung dieser Thesen bei strengeren Versuchsbedingungen und zur Beantwortung weiterer verwandter Fragen erscheint *Asplanchna priodonta*. Dieses Tier besitzt zwei morphologisch verschiedenartige Augentypen (Hertel, in Präp.): Zwei Ocellen im Cingulum bilden das System der paarigen Lateraläugen; als unpaares System befindet sich eine Ocelle auf der Ventralseite des Gehirns. Über die spektrale Empfindlichkeit der phototaktischen Reaktion dieses Tieres haben Menzel und Roth [5] eine erste Analyse durchgeführt. Die Mehrgipfeligkeit der dort erstellten spektralen

Empfindlichkeitskurve läßt vermuten, daß ihr mehrere unterschiedliche Photopigmente zugrunde liegen. Sollte sich der Verlauf dieser Kurve bestätigen, so wäre es eventuell möglich, durch eine Analyse der Schwimmbahnen bei monochromatischem Reizlicht auf die spektralen Absorptionseigenschaften der Rezeptoren zu schließen. Enthält nämlich das paarige System der Lateraläugen ein anderes Photopigment als das Zentralauge, so könnte bei entsprechender monochromatischer Beleuchtung mit parallelen Lichtstrahlen zum einen eine tropotaktische, zum anderen eine klinotaktische Ansteuerung des Reizlichtes erfolgen. Zudem wäre möglicherweise an der Art der Schwimmbewegung zu erkennen, ob die phototaktische Reaktion bei UV-Licht entsprechend Viauds Vermutung tatsächlich über einen unspezifischen Hautlichtsinn hervorgerufen wird und somit zu einer photokinetischen Reaktion führt. Diese Überlegungen setzen jedoch voraus, daß die jeweiligen Lichtreize in Schwellennähe gegeben werden, um ein Überlappen der Empfindlichkeitsverteilungen in den verschiedenen Lichtperzeptionssystemen möglichst zu vermeiden.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, auf diesen Gedanken aufbauend, durch Analyse der phototaktischen Reaktion von *Asplanchna priodonta* bei monochromatischem Reizlicht Anhaltspunkte über die Absorptionseigenschaften der Photopigmente in den Ocellen zu erhalten.

Material und Methoden

Weibliche Tiere der Spezies *Asplanchna priodonta* wurden 2 Tage vor einem Experiment aus

* Ich danke Herrn Prof. Dr. R. Menzel für wertvolle Unterstützung.

Sonderdruckanforderungen an Horst Hertel, FU Berlin, Gg., FB 23 WE 5, Grunewaldstraße 34, 1000 Berlin 41.



Seen in der Umgebung von Darmstadt geholt. Die Versuche zur Phototaxis wurden in einem verdunkelten Raum durchgeführt; alle Apparaturen waren lichtdicht verkleidet. Als Reizlicht diente eine Xenonlampe (XBO 450). Die Lichtintensität konnte mit Quarz-Graufiltern und einem Regeltrafo variiert werden. Hierbei änderte sich die spektrale Verteilung des emittierten Lichtes nicht. Die Lichtintensität wurde mit einem geeichten Senelement gemessen. Monochromatisches Licht wurde erzeugt im sichtbaren Spektrum durch einen Schott-Verlauffilter, im UV-Bereich durch Interferenzfilter (342, 363, 395 nm). Aus dem Lichtstrahl wurde ein Strahlenbündel von 3,8 mm Höhe (10 nm auf dem Verlauffilter) ausgeblendet.

Die Untersuchungen zur spektralen Empfindlichkeit der phototaktischen Reaktion wurden in einem Y-Rohr durchgeführt. Die jeweils 5,5 cm langen Schenkel bildeten einen Winkel von 90° zueinander. Die linke Frontscheibe bestand aus UV-durchlässigem Plexiglas, das restliche Y-Rohr war schwarz gestrichen. Ein Schieber trennte sowohl die beiden Schenkel, als auch eine 1 cm große Startkammer voneinander ab. Pro Versuch wurden 40 Tiere in die Startkammer eingesetzt, die für eine Stunde dunkeladaptiert waren. Das Reizlicht wurde geboten und unmittelbar danach der Schieber entfernt. Die Versuchsdauer betrug 10 min. Anschließend wurden die Tiere in den beiden Schenkeln und in der Startkammer ausgezählt.

Die Aufzeichnungen der Schwimmbahnen geschah in einem Plexiglasfünfeck (Kantenlänge 7 cm, Höhe 2 cm). 4 Kanten bestanden aus schwarzem, eine aus UV-durchlässigem Plexiglas. Durch deren Mitte fiel der Lichtstrahl mit einer Breite von 0,8 cm zentral durch die Schwimmarena. Auf dem durchsichtigen Boden befand sich ein Polarkoordinatensystem zur genauen Bestimmung der Schwimmbahn. Beobachtet wurde durch ein Binokular bei Beleuchtung mit schwachem diffusen Rotlicht (695 nm) von unten. Mittels einer Kühlkammer wurde die Wassertemperatur in der Schwimmarena auf $+15^\circ\text{C}$ eingestellt. Die Asplanchnen waren mindestens 12 h dunkeladaptiert. Sie wurden bei Versuchsbeginn einzeln in die Arenamitte eingesetzt und nur für eine Aufzeichnung verwendet. Die überschwommenen Koordinatenpunkte wurden auf ein Diktiergerät gesprochen, hierbei wurde eine Zeitmarke im Abstand von jeweils 15 sec mitregistriert. Für jede Schwimmbahn wurde ein Zeitlimit von 8 min gesetzt. Die Tiere, die

in dieser Zeit nicht den Arenenrand erreicht hatten, waren statistisch gleichverteilt. Die Versuche wurden statistisch über den Tag verteilt durchgeführt. Zur Auswertung der Schwimmbahnen wurde für die verschiedenen Überschreitungskreise der Winkel zum Lichtstrahl für die erstmalige Überschreitung gemessen. Hieraus wurde der mittlere Schwimmwinkel zum Licht, der Vektor dieses Winkels und die Streuung um diesen Winkel berechnet. Die Berechnung geschah nach den von Batchelet [6] vorgeschlagenen Methoden.

Ergebnisse

1. Versuche mit dem Y-Rohr:

Spektrale Empfindlichkeit

a) $R/\log I$ -Kurve

Es wurden 11 verschiedene Lichtintensitäten bei 491 nm in 8 bis 14 Durchgängen in statistischer Verteilung getestet. Zur Auswertung wurden nur solche Tiere herangezogen, die während des Experimentes die Startkammer verlassen hatten. Trägt man den Prozentsatz der Tiere, die in den beleuchteten Schenkel geschwommen sind, in Abhängigkeit der Lichtintensität (in relativen Quanten) auf, so erhält man im halblogarithmischen System den für $R/\log I$ -Kurven typischen sigmoiden Verlauf (Abb. 1). Zwischen dem unteren und oberen Sättigungsbereich wird der lineare Anstieg durch eine Regressionsgerade beschrieben. Ihr Steigungsmaß beträgt 0,48. Mit dem X^2 -Test konnte der Anstieg der Kennlinie statistisch abgesichert werden.

b) Spektrale Empfindlichkeit

Hier wurde die Intensität des Reizlichtes bei den getesteten Wellenlängen so gewählt, daß ca. 80%

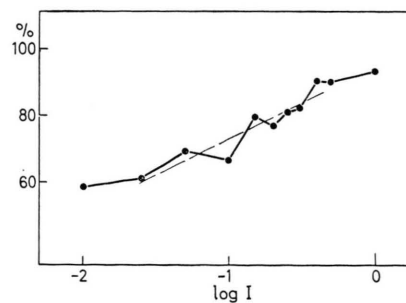


Abb. 1. Der Prozentsatz positiv phototaktischer Tiere als Funktion der relativen Intensität des Reizlichtes. Die Steigung des linearen Anstieges wird durch eine Regressionsgerade bestimmt.

der Tiere, die die Startkammer verlassen, in den beleuchteten Schenkel des Y-Rohres schwimmen. Zur Berechnung der Empfindlichkeit wurde durch diese Meßergebnisse eine Gerade mit der Steigung der zuvor ermittelten $R/\log I$ -Kurve gelegt. Der Schnittpunkt dieser Geraden mit der angestrebten 80%-Reaktion lieferte die für diese Reaktion bei jeder getesteten Wellenlänge notwendige Reizlichtintensität. Ihre Kehrwerte stellen nun ein Maß für die spektrale Empfindlichkeit dar.

Die spektrale Empfindlichkeit für die positive phototaktische Reaktion wird durch eine dreigipflige Kurve wiedergegeben (Abb. 2). Auf der kurzwelligen Seite weist sie einen Gipfel bei 363 nm auf. Auf ein Minimum bei 395 nm folgt ein Zwischenmaximum bei 453 nm. Ein dritter Gipfel befindet sich im Gelbgrünen mit einem Maximum bei 552 nm. Die Empfindlichkeit nimmt zum langwelligen Bereich hin schnell ab.

2. Versuche mit der Schwimmarrena

a) Beschreibung der Schwimmbahnen

Vergleicht man viele einzelne Schwimmbahnen von *Asplanchna* in einem schmalen parallelen Strahlenbündel, dann findet man eine große Variabilität. Ein Beispiel für die Unterschiede im Schwimmverhalten bei gleichartigem Lichtreiz ist in der Abb. 3 dargestellt. Es handelt sich um eine Originalaufzeichnung der Wege positiv phototaktisch reagierender Tiere bei monochromatischem Reizlicht (552 nm mittlerer Intensität).

Tier Nr. 1 bewegte sich außerhalb des Lichtstrahls im Streulicht mit einer mittleren Geschwindigkeit von 3,5 mm/min recht ungerichtet auf die Lichtquelle zu. Tier Nr. 2 schwamm mit einer mittleren Geschwindigkeit von ebenfalls 3,5 mm/min am Rande

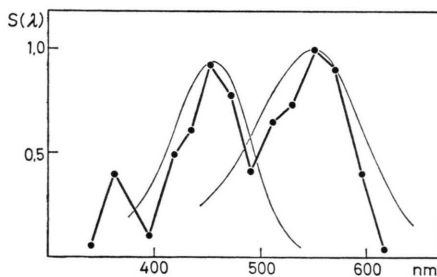


Abb. 2. Spektrale Empfindlichkeitskurve für die positiv phototaktische Reaktion. Durchgezogene Linien: spektrale Absorptionskurven für Photopigmente mit λ_{\max} 453 nm und λ_{\max} 552 nm nach Dartnall [6].

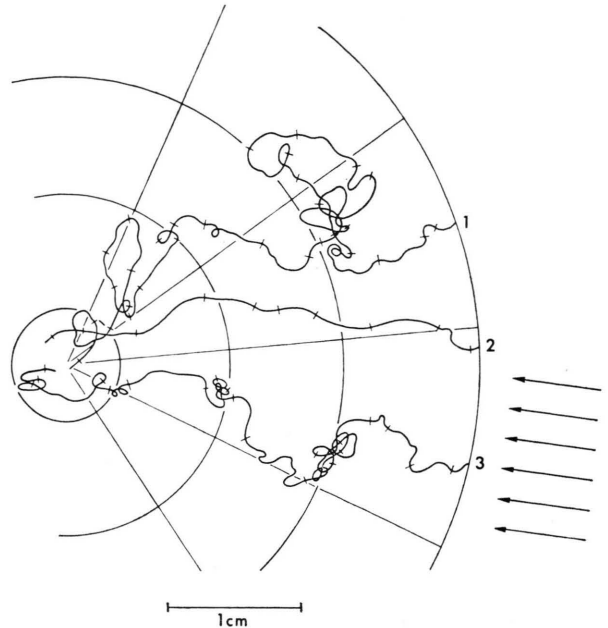


Abb. 3. Phototaktisch gesteuerte Schwimmbahnen bei 552 nm. Die Pfeile symbolisieren den einfallenden Lichtstrahl. Tier Nr. 1 orientierte sich im Streulicht, Nr. 2 bewegte sich am Rande des Strahlenbündels und Nr. 3 schwamm in der Mitte des Lichtstrahls. Die Markierungen geben Zeitabstände von jeweils 15 Sekunden an.

des Strahlenbündels sehr gut orientiert zum Licht. Tier Nr. 3 gelangte mit einer mittleren Geschwindigkeit von 4,2 mm/min mitten im Lichtbündel auf einer sehr kurvenreichen Bahn zum Licht.

Die Formen der hier ausgewählten Schwimmbahnen, die alle auf phototaktischer Steuerung beruhen dürften, erkennt man auch bei Tieren, die im Dunkeln oder bei gering wirksamem Reizlicht schwimmen. Meist jedoch sind deren Bahnen bei etwa gleicher Schwimmgeschwindigkeit viel kurvenreicher und im Dunkeln natürlich nicht auf das gleiche Ziel ausgerichtet.

b) $R/\log I$ -Kurven bei Weißlicht

Als Maß für die positive phototaktische Schwimmbewegung wurde die „Gerichtetheit“ der Schwimmbahn betrachtet, mit der sich die Tiere auf die jeweils überschwelligen monochromatischen Lichtreize zubewegten. Die Auswertung (nach Batchelet [6]) liefert für alle Schwimmbahnen innerhalb einer Versuchsreihe einen Vektor, dessen Richtung den mittleren Schwimmwinkel zum Licht darstellt und dessen Länge ein Maß für die Gerichtetheit aller Schwimmbahnen innerhalb dieser Meßreihe ist.

Die mittleren Schwimmwinkel der Tiere weichen bei geringen Strahldichten des Reizlichtes mehr, bei höheren weniger von der Mitte des in die Schwimmarena einfallenden Lichtstrahls ab. Zur Auswertung wurden daher die Vektoren der ermittelten Winkel auf den mittleren Lichteinfall projiziert. So erhält man für jede Reizlichtstärke einen Vektor für die mittlere Schwimmbahn zum Licht. Für jede Lichtintensität wurden mindestens 20 Schwimmbahnen aufgezeichnet.

In Abb. 4 sind die Vektoren für die mittlere Schwimmbahn in Abhängigkeit der relativen Lichtintensitäten (RQZ) aufgetragen. Die Kennlinie hat bei logarithmischer Auftragung der Intensität in RQZ den bekannten sigmoiden Verlauf. Ihr linearer Anstieg erstreckt sich über ca. 2 log Einheiten.

c) Gerichtetheit der Schwimmbahnen bei Spektrallicht

Da hier mit quantengleichem, monochromatischem Reizlicht gearbeitet wurde, erhält man eine spektrale

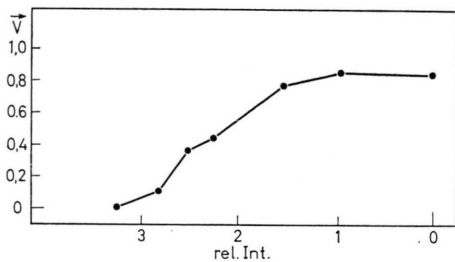


Abb. 4. Intensitätsabhängigkeit der Schwimmbahn bei ungefiltertem Xenonlicht. Die Vektorlängen der mittleren Schwimmbahn sind als Funktion des Logarithmus der relativen Lichtintensitäten aufgetragen.

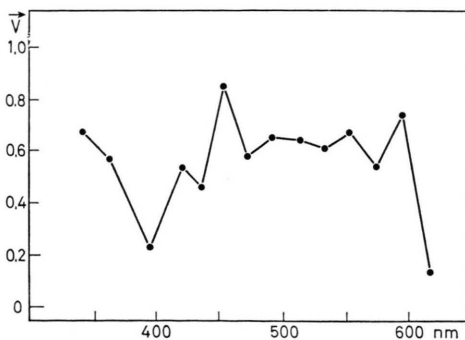


Abb. 5. Spektrale Wirksamkeitskurve für die Gerichtetheit der positiv phototaktischen Reaktion. Hierbei ist die Vektorlänge ein Maß für die Gerichtetheit der mittleren Schwimmbahn zum Licht.

Wirksamkeitskurve für die Gerichtetheit der positiven phototaktischen Reaktion (Abb. 5). Man erkennt ein hohes Maß an positiver phototaktischer Einstellung im UV-Bereich, eine starke Unorientiertheit an der Grenze zum sichtbaren Spektrum und anschließend wiederum eine gute Steuerung vom blauen bis zum orangefarbenen Reizlicht. Zum langwelligeren Spektrum hin nimmt die phototaktische Orientierung der *Asplanchnen* sehr schnell ab.

Diese Unterschiede in der Gerichtetheit des Schwimmverhaltens sind nicht verknüpft mit einer wellenlängenspezifischen Änderung der Schwimmgeschwindigkeit. Sie beträgt im Mittel $4,01 \pm 0,97$ mm/min.

Diskussion

Die spektrale Empfindlichkeitskurve für die positive phototaktische Reaktion zeigt in ihrem Verlauf um die beiden Maxima im sichtbaren Spektrum eine gute Anpassung an zwei nach Dartnall [7] berechnete spektrale Absorptionskurven für retinalhaltige Photopigmente mit $\lambda_{\max} = 460$ nm und $\lambda_{\max} = 552$ nm. Da sich das Dartnall-Nomogramm nicht auf den UV-Bereich erstreckt, man aber bei vielen verschiedenen Invertebraten für diese Wellenlängen spezielle Photopigmente nachgewiesen hat (Hamdorf und Schwemer [8]), erscheint es durchaus möglich, daß auch dem UV-Gipfel dieser Kurve ein eigenes Photopigment zugrunde liegt.

Ein Vergleich der hier wiedergegebenen Kurve mit derjenigen, die von Menzel und Roth [5] ebenfalls an *Asplanchna priodonta* mit relativ wenigen Meßpunkten erstellt wurde, zeigt in der Lage der Maxima und Minima eine recht gute Übereinstimmung, auch bestätigt sich hier das dort bereits vermutete UV-Maximum. Eine starke und zunächst unerklärliche Diskrepanz ergab sich jedoch in der Höhe der Empfindlichkeit im langwelligeren Bereich. Eine Überprüfung der Originaldaten von Menzel und Roth [5] ergab, daß auch dort der steile Abfall der Empfindlichkeit zu Langwelligeren bereits bei 580 nm beginnt und somit meinen Ergebnissen entspricht.

Schwimmbahnen einzelner *Asplanchnen* wurden aufgezeichnet in der Hoffnung, aus der Form dieser Bahnen auf die Verteilung der Photopigmente auf das paarige und das unpaare Photorezeptorsystem zu schließen. Unsere Beobachtungen ergaben aber, daß sich aus der Form der Schwimmbahnen nicht auf die Verteilung der Photopigmente auf die ver-

schiedenen Ocellen schließen läßt. Im Gegensatz zu der sehr viel stärkeren phototaktischen Einstellung anderer Rotatorien, wie z. B. von *Keratella*, reagiert nämlich *Asplanchna priodonta* viel schwächer positiv phototaktisch. Hieraus resultiert eine aus fortwährenden Suchbewegungen bestehende Schwimmbahn, in deren Verlauf lediglich ein langsamer drift zum Licht erfolgt. Damit ist die Phototaxis von einem beträchtlichen „Rauschen“ überlagert, in dem möglicherweise wellenlängenspezifisch unterschiedliche Steuerungen durch die beiden Augentypen untergehen. Andererseits wurden derart viele individuelle Schwimmbahnen aufgenommen (ca. 300) und sorgfältig ausgewertet, daß sich eine wellenlängenspezifische Reaktion hätte erkennen lassen. Aus den Beobachtungen ist daher zu schließen, daß mit großer Wahrscheinlichkeit alle drei Augen über die gleichen Photopigmente verfügen. Da jeder Ocellus nur aus einer Photorezeptorzelle besteht (Eakin und Westfall [9]; Hertel, in Präp.), liegt also offensichtlich ein Gemisch aus verschiedenen Photopigmenten (mit λ_{\max} bei 363, 453 und 552 nm) in den einzelnen Sehzellen vor. Unterstützt wird diese Interpretation durch erste Beobachtungen an *Asplanchna brightwelli*. Diese Spezies verfügt über nur einen zentralen Ocellus, die lateralen Ocellen fehlen. Die $S(\lambda)$ -Kurve und auch die Schwimmbahnen bei verschiede-

nen Wellenlängen scheinen sich nicht von den Befunden an *Asplanchna priodonta* zu unterscheiden.

Viaud [3] konnte sowohl bei den geradlinig schwimmenden Rotatorien *Hydatina senta* und *Asplanchna brightwelli* als auch bei dem spiralig schwimmenden *Brachionus calyciflorus* eine Abnahme der Schwimmggeschwindigkeit vom kurzwelligen zum langwelligen Licht hin beobachten. Clément [10] hingegen machte bei dem von ihm untersuchten *Brachionus calyciflorus* die entgegengesetzte Feststellung: die Geschwindigkeit nahm hier zum langwelligen Licht hin zu. Die Ursache für die bei *Brachionus* gegenläufigen Resultate sind wohl darauf zurückzuführen, daß Viaud [1, 2] im Unterschied zu Clément [10] nicht mit energiegleichem Reizlicht arbeitete; die Beobachtungen von Viaud könnten daher möglicherweise keine große Aussagekraft besitzen. Die Experimente mit *Asplanchna priodonta* wurden bei quantengleichem Reizlicht mittlerer Intensität, konstanter Wassertemperatur und häufigem Wasserwechsel durchgeführt. Es konnte hierbei keine signifikante Änderung der Schwimmggeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Wellenlänge des Reizlichtes festgestellt werden. Vielmehr unterscheidet sich die Geschwindigkeit phototaktisch reagierender Tiere nicht von der im Dunkeln schwimmender Tiere.

[1] G. Viaud, Bull. Biol. **74**, 68 (1940).

[2] G. Viaud, Bull. Biol. **77**, 224 (1943).

[3] G. Viaud, Experientia **4**, 81 (1948).

[4] R. Menzel, Handbook Sensory Physiology (H. Autrum, Ed.), Vol. VII/6B, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, in press.

[5] R. Menzel u. F. Roth, Experientia **28**, 356 (1972).

[6] E. Batchelet, Amer. Inst. Biol. Sci. Washington 1965.

[7] H. J. A. Dartnall, Biochemistry **56**, 493 (1954).

[8] K. Hamdorf u. J. Schwemer, Photoreceptor Optics (A. W. Snyder u. R. Menzel, Eds.), p. 263, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1975.

[9] R. M. Eakin u. J. Westfall, Z. Zellforsch. **68**, 278 (1965).

[10] P. Clément, Arch. Hydrobiol. Beih., Ergebn. Limnol. **8**, 47 (1977).