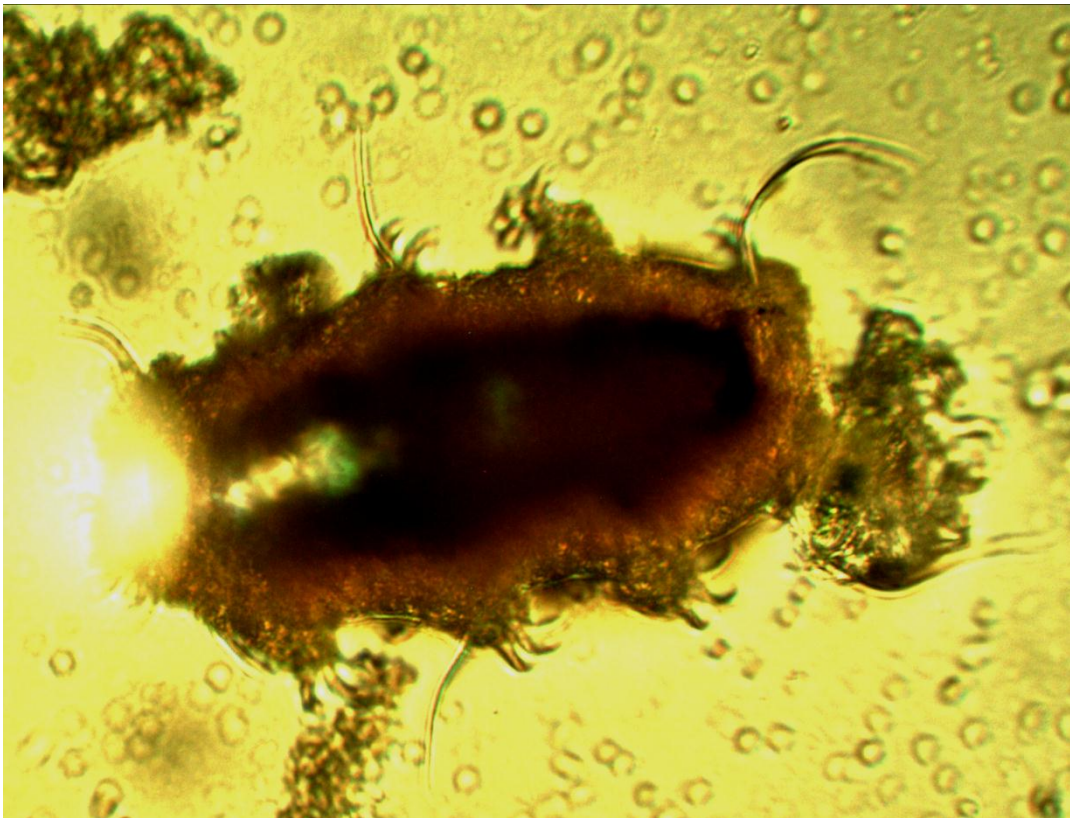


Simulation von Stratosphärebedingungen und Untersuchung ihrer Auswirkungen auf Tardigraden



Wettbewerb „Jugend Forscht“ 2013

Pia Lübke (18 Jahre)

**Arbeitsgemeinschaft "Jugend Forscht"
des Christian- Gymnasiums Hermannsburg**

Leitung: StD Thomas Biedermann

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	-1-
2	GRUNDLAGEN	-1-
2.1	Die Stratosphäre	-2-
2.1.1	Verhalten von Zellen beim Gefrieren	-2-
2.1.2	Verhalten von Lebewesen im Vakuum	-3-
2.1.3	Wirkung kosmischer Strahlung auf Lebewesen	-3-
2.2	Tardigraden	-4-
2.2.1	Lebensraum und Lebensweise	-4-
2.2.2	Aufbau und Systematik	-4-
2.2.3	Kryptobiologie	-5-
2.3	Ergebnisse aus den Vorjahren	-6-
3	MATERIAL UND METHODEN	-7-
3.1	Isolation und Präparation	-7-
3.2	Beobachtungseinrichtung	-7-
3.3	Stratosphärenballon	-7-
3.4	Simulation von Stratosphärenbedingungen	-8-
3.4.1	Erzeugen des Unterdrucks	-9-
3.4.2	Erzeugen der Kälte	-9-
4	VERSUCH IN DER STRATOSPHERE	-10-
5	VERSUCHE MIT EISSPRAY	-10-
6	VERSUCHE IM VAKUUM	-10-
7	BEOBACHTUNGEN UND AUSWERTUNG	-10-
7.1	Stratosphäre	-10-
7.2	Eisspray	-11-
7.3	Vakuumkammer	-11-
8	FAZIT UND AUSBLICK	-13-
9	QUELLENANGABEN	-13-
10	DANKSAGUNG	-15-

1 Einleitung

Leben im Weltraum, ohne jeglichen Schutz gegen Strahlung, Vakuum oder Kälte- Es scheint unmöglich, dass Lebewesen dazu in der Lage sein könnten. Selbst ab gewissen Höhen der Erdatmosphäre herrschen Temperaturen weit unter dem Gefrierpunkt, sehr niedrige Luftdrücke und hohe kosmische Strahlung. Auch dort ist es für die meisten Arten nahezu unmöglich, zu überdauern.^{[5][6]}

Mittlerweile sind aber tatsächlich Lebewesen bekannt, die diese Bedingungen überleben können. Zu ihnen gehören auch Tardigraden (Bärtierchen). In den letzten beiden Jugend Forscht - Arbeiten habe ich mich bereits mit dem Verhalten der Tiere unter Wassermangel und der Artenvielfalt bei verschiedenen klimatischen Bedingungen beschäftigt.^[1]

Durch eine Kooperation der Jugend Forscht AG des Christian Gymnasiums Hermannsburg und dem Deutschen Amateur- Radio Clubs Celle erhielt ich in diesem Jahr die Möglichkeit, eine Probe mit Tardigraden als Nutzlast eines Stratosphärenballons zu transportieren. Die Tardigraden überlebten, wie der Literatur nach zu erwarten, das Experiment.^[7] Da ich aber in den letzten Jahren Unterschiede bezüglich der Toleranz verschiedener Bärtierchenarten gegenüber Umweltfaktoren feststellte^{[11][12]}, setzte ich mir das Ziel, Bedingungen der Stratosphäre zu simulieren und die Auswirkungen auf verschiedene Tardigraden im Vergleich zu untersuchen.

2 Grundlagen

2.1 Die Stratosphäre

Die Stratosphäre gehört zu der Erdatmosphäre, diese beschreibt den gasgefüllten Raum, der die Erde aufgrund der Schwerkraft umgibt.^[8] Ihre Hauptbestandteile sind Stickstoff (78%) und Sauerstoff (21%). Zudem sind ein geringer Anteil Edelgase (z.B. Argon und Neon) und Spurengase (z.B. Wasserdampf, Kohlenstoffdioxid und Ozon) vorhanden. Der Anteil an Spurengasen kann variieren. Die einzelnen Bereiche der Erdatmosphäre lassen sich aufgrund chemischer, physikalischer oder elektrischer Kriterien einteilen, die häufigste Einteilung ist allerdings die thermische. Die Atmosphäre weist unterschiedliche Heizschichten auf, die Temperaturmaxima- und minima besitzen. Die Temperatur nimmt somit zu, nach einem Maximum nimmt sie bis zu einer bestimmten Höhe ab, in der sie ein Minimum erreicht hat und ab dort wieder zunimmt (siehe Abb. 1). Diese Schichten zwischen Minimum und Maximum werden Troposphäre, Stratosphäre, Mesosphäre, Thermosphäre, Homosphäre und Heterosphäre genannt. Die Grenzen zur jeweils nächsten Schicht werden Tropopause, Stratopause, Mesopause usw. bezeichnet.^[4]

Bis zur Tropopause in 12 Kilometern Höhe nimmt die Temperatur linear bis auf ungefähr 205 Kelvin, also fast $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ab. Bis zu 20 Kilometern Höhe nimmt die Temperatur in der Stratosphäre nicht zu, bis zur Stratopause bei einer Höhe von ungefähr 48 Kilometern steigt die Temperatur bis auf 270 Kelvin an. Dies entspricht einer Maximaltemperatur von knapp unter $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. In der Stratosphäre wird

Ozon durch kurzwellige UV- Strahlung abgebaut und aufgebaut. Durch die Absorption der Strahlung ist die Temperaturzunahme ab 20 Kilometern Höhe zu erklären.^[6]

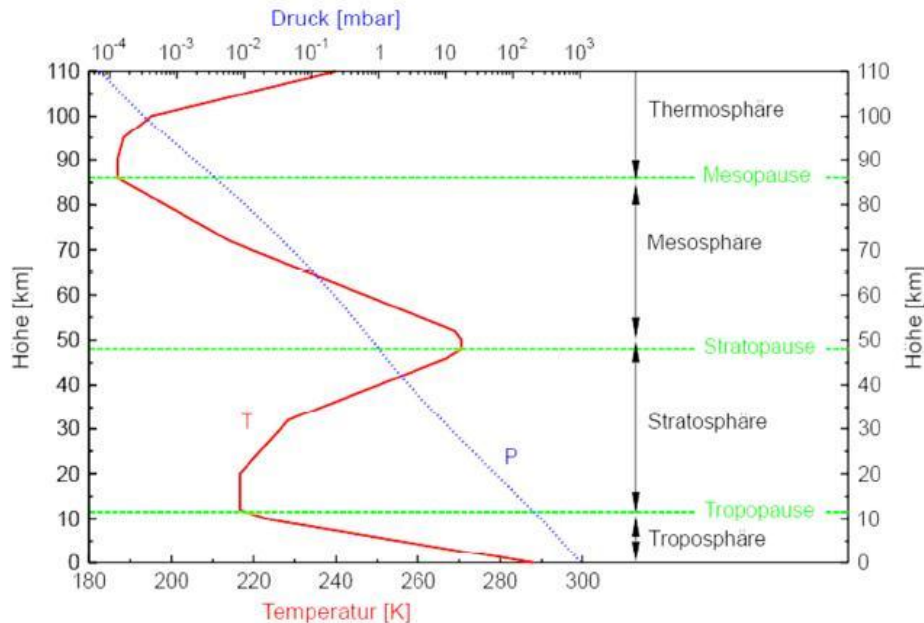


Abb. 1: Temperatur und Druck in der Erdatmosphäre^[8]

Nicht nur die Temperatur verändert sich in Abhängigkeit von der Höhe. Ein weiterer Faktor ist auch die nahezu lineare Abnahme des Gasdrucks mit zunehmender Höhe. Der minimale Gasdruck in der Stratosphäre beträgt unter 1 mbar (siehe Abb. 1).^[8] Dieser Druck entspricht dem Feinvakuum. Das Feinvakuum liegt im Bereich von 10^{-10} - 10^{-3} mbar. Zum Vergleich liegt der Druck im Weltraum bei unter 10^{-12} mbar, dieser entspricht dem Ultrahochvakuum.^[9]

Zudem ist in der Stratosphäre nur ein geringer Wasserdampfanteil vorhanden. Durch die sehr niedrige Temperatur in der Tropopause ist der Transport an Wasserdampf aus der Troposphäre in die Stratosphäre erschwert.^[6]

Auch die kosmische Strahlung ist ein variabler Faktor in der Atmosphäre. Diese ist von der natürlichen Strahlung zu unterscheiden, da kosmische Strahlung beispielsweise nicht über die Nahrung aufgenommen werden kann und wesentlich energiereicher ist. Primäre kosmische Strahlung, also Strahlung aus dem Weltraum, trifft dabei auf Moleküle wie Sauerstoff und es entstehen durch komplexe Prozesse Sekundärteilchen wie Neutronen und Protonen, die letztlich bis in die Troposphäre gelangen. Grundsätzlich nimmt der Einfluss kosmischer Strahlung mit der Höhe zu. Allerdings findet die Bildung der Sekundärteilchen zumeist in einer Höhe von etwa 20 Kilometern statt, die Strahlungsintensität ist somit in der Stratosphäre am höchsten.^[5]

2.1.1 Verhalten von Zellen beim Gefrieren

Zellen von Organismen bestehen zu einem großen Teil aus Wasser, in dem Stoffe gelöst sind. Beim Gefrieren der Zellen ist es zunächst notwendig die Vorgänge beim Gefrieren von wässrigen Lösungen

zu betrachten. Ein Teil des Wassers in der Lösung gefriert bei 0 °C unter Normaldruck (ca. 1013 hPa) und bildet ein Kristallgitter aus. Die Stoffe sind nun in dem noch flüssigen Wasser gelöst. Die Konzentration erhöht sich und der Gefrierpunkt der Lösung wird herabgesetzt. Es kommt damit zur Unterkühlung, die Lösung gefriert also auch unter 0 °C nicht. Das Vorhandensein von Kristallisationskeimen, die als Katalysatoren wirken, oder das zufällige Aufeinandertreffen von mindestens 25 Wassermolekülen führen letztlich auch bei Unterkühlung zur Nukleation und Kristallbildung.

Zellen werden durch diesen Vorgang geschädigt. Durch die Kristalle können Membranen und ihre Bestandteile mechanisch beschädigt werden. Die erhöhte Konzentration der Lösung beim Beginn des Gefrierens führt zu einem hohen osmotischen Druck, welcher zum Flüssigkeitsverlust der Zellen führt. Zudem können durch die Verfestigung der Bestandteile Diffusionsvorgänge nur noch verlangsamt stattfinden, es kann zur Änderung des pH- Werts führen. Proteine werden dadurch zum Teil denaturiert.^[3]

2.1.2 Verhalten von Lebewesen im Vakuum

Werden Organismen einem Vakuum ausgesetzt, dehnen sich gelöste Gase in den Geweben stark aus. Bei Menschen würden Embolien in den Gefäßen entstehen und feine Gewebe, sowie abgeschlossene, gashaltige Räume platzen.

Durch den niedrigen Luftdruck erwärmen sich Flüssigkeiten stark und beginnen schnell zu siedeln. Für den Menschen würde dies eine mangelnde Versorgung mit Sauerstoff von überlebenswichtigen Organen bedeuten und nach wenigen Sekunden zur Bewusstlosigkeit bzw. Tod führen. Bei den meisten Lebewesen würden Zellen durch die siedende Zellflüssigkeit und die starke Ausdehnung der Gase sofort platzen. Zum Vergleich nimmt die Siedetemperatur von Wasser in der Stratosphäre schon bei 19 km Höhe auf unter 37 °C ab. In diesen Bereichen ist lediglich das Feinvakuum erreicht. Zudem schädigen die extrem niedrigen Temperaturen (-270 ° C im Ultrahochvakuum) die Zellen von Organismen (siehe 2.1.1).^[9]

2.1.3 Wirkung kosmischer Strahlung auf Lebewesen

Lebewesen auf der Erde sind z.B. durch natürlich radioaktive Zerfälle permanent einer gewissen Strahlung ausgesetzt, welche nicht unmittelbar schädlich ist. Je energiereicher aber Strahlung ist, desto mehr Schäden können in Lebewesen hervorgerufen werden. Zudem spielt auch die Strahlendosis über einen längeren Zeitraum eine Rolle, so kann weniger energiereiche Strahlung über längere Zeit große Schäden verursachen. Atome bzw. Moleküle können ionisiert werden. Es finden Reaktionen statt, die Zellen oder ganze Organe schädigen. Auch kann das Erbgut in den betreffenden Zellen verändert werden, es kann zudem zum Verlust von Erbinformationen kommen. Diese Schäden können sofortige Auswirkungen haben oder erst nach Jahren erkennbar werden, beispielsweise entstehen Tumore oder Mutationen treten bei der Fortpflanzungen auf.^[5]

Da es mir nicht möglich ist, diese Form von Strahlung im Labor zu simulieren, werde ich hier und in den folgenden Versuchen nicht genauer auf die Wirkung von kosmischer Strahlung eingehen.

2.2 Tardigraden

Tardigraden, oder auch Bärtierchen sind eines der weltweit verbreitetsten Mikroorganismen mit einer sehr hohen Toleranz bezüglich vieler Umweltbedingungen.

2.2.1 Lebensraum und Lebensweise

Bärtierchen besiedeln marine und terrestrische Lebensräume, wobei ich mich in dieser Arbeit mit terrestrischen Arten beschäftige. Tardigraden sind in der Lage, bei extremen Umweltbedingungen wie Wassermangel, Hitze bzw. Kälte oder erhöhtem osmotischem Druck ein Tönnchenstadium einzunehmen, in dem sie jegliche Flüssigkeit aus ihren Zellen pressen und ihrem Stoffwechsel soweit



Abb.2: Tönnchen eines Eutardigradum

herabsetzten, dass eine Stoffwechselaktivität kaum mehr nachweisbar ist. Bärtierchen benötigen eine

feuchte Umgebung. Moose, die viel Wasser aufnehmen können, sind ein optimaler Lebensraum. In

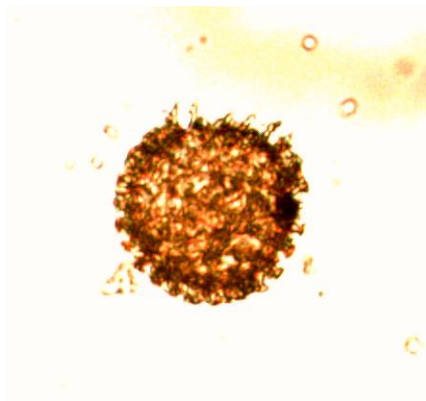


Abb.3: Tardigradenei

Moosen sind zumeist auch Algen, Nematoden und Fadenwürmer enthalten, die den Tardigraden als Nahrungsquelle dienen. Bärtierchen haben kaum natürliche Fressfeinde. Der Befall von Pilzen und Bakterien sind allerdings häufige Todesursache. Sie können in den Herbstmonaten eine Population bis auf die Hälfte reduzieren. Bärtierchen pflanzen sich meistens sexuell fort, Männchen und Weibchen kommen also im Verhältnis 1:1 vor. Bei einigen Arten ist eine parthenogenetische Fortpflanzung möglich, dabei reifen unbefruchtete Eizellen zu Weibchen heran. In jedem Fall findet eine Eiablage statt [1][12]

2.2.2 Aufbau und Systematik

Der Körper der Tardigraden kann je nach Art zwischen 0,2 und 1,4 cm groß werden. Er ist in Segmente unterteilt, dem Kopfsegment und weitere vier Rumpfsegmente. An jedem der Rumpfsegmente befinden sich Beinpaare mit Krallen. Sie können sich dadurch auf Moos fortbewegen. Die Cuticula ist teilweise verdickt und kann unterschiedlich, je nach

aufgenommenener Nahrung, gefärbt sein. Zumeist ist die Cuticulafärbung der Tiere farblos bis dunkelbraun. Außerdem sind im Körper frei bewegliche Speicherzellen vorhanden, die zur Färbung beitragen. Beginnt eine vorher gefärbte Cuticula farblos zu werden, deutet dies auf Nährstoffmangel hin.

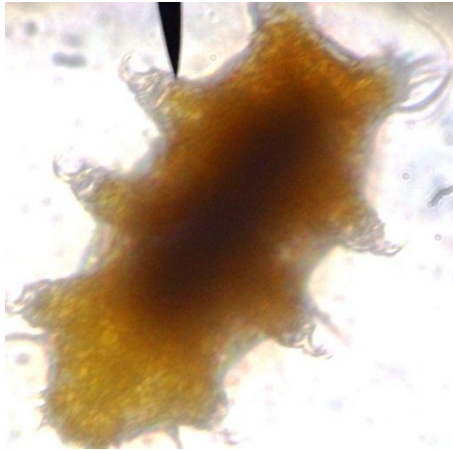


Abb.4: Heterotardigradum

Bärtierchen besitzen ein Strickleiternnervensystem, daher kann man Sie den Articulaten (Gliedertiere) zuordnen, wobei ihnen der eigene Stamm der Tardigraden zugeordnet wurde. Es sind über 750 verschiedene Tardigradenarten bekannt. Da die Unterscheidung sehr schwer vorzunehmen ist, wird auch in der Literatur nur bis in die Untergattungen unterschieden. Ohne Schwierigkeiten lassen sich die Tiere in die Klassen der Eu- und Heterotardigraden unterteilen. Heterotardigraden besitzen im Vergleich zu den Eutardigraden Körperanhänge und ihre Cuticula ist häufig dunkler gefärbt.^{[1][12]} Da ich bei meinen Versuchen lediglich zwischen Eu- und Heterotardigraden differenzieren möchte, gehe ich hier nicht vertiefter auf die Systematik ein.

2.2.3 Kryptobiose

Wie bereits erwähnt wird die Fähigkeit von Lebewesen, extreme Umweltbedingungen zu tolerieren, Kryptobiose genannt. Es handelt sich dabei um einen reversiblen Zustand, bei dem die Stoffwechselaktivität bis auf ein Minimum reduziert ist. Es gibt unterschiedliche Formen der Kryptobiose. Tardigraden sind zur Anoxybiose (unter Sauerstoffmangel), Anhydrobiose (bei Trockenheit), Osmobiose (bei zu hohem osmotischen Druck des Mediums) und Kryobiose (bei sehr niedrigen Temperaturen) fähig. Wobei die Anoxybiose in Wasser nur bedingt möglich ist. Unter Sauerstoffmangel nehmen sie den Zustand der Asphyxie ein. Dabei Strecken sich die Tiere und es gelangt Wasser in den Körper. Die Tiere sterben ohne Sauerstoff

In dieser Arbeit möchte ich mich vor allem mit der Kryobiose bei Tardigraden auseinandersetzen. Es sind bisher einige wenige Strategien der Kryobiose bekannt, unter anderem die Gefriertoleranz und die Gefriervermeidung. Man geht davon aus, dass Tardigraden zu beidem fähig sind, wobei die Gefriervermeidung noch nicht bewiesen ist. Bei der Gefriervermeidung wird der Gefrierpunkt der Körperflüssigkeit durch Proteine und andere Schutzstoffe herabgesetzt. Die Gefriertoleranz

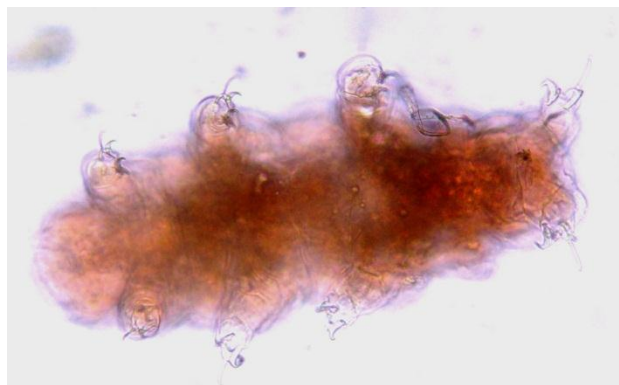


Abb.5: asphykisches Tardigradum

beschreibt die Fähigkeit, durch Anhäufung von Polyolen Membranen und Proteine vor Phasentransition (Aggregatzustandswechsel) zu schützen. Zudem sind Proteine vorhanden, die als Kristallisationinhibitoren dienen, um die Eisbildung der Körperflüssigkeit zu reduzieren. [2]

2.3 Ergebnisse aus den Vorjahren

In den letzten beiden Jahren habe ich mich bereits mit Tardigraden beschäftigt. Im ersten Jahr beobachtete ich das Verhalten von Tardigraden unter Wassermangel, im zweiten Jahr habe ich Tardigraden aus Moosproben aus verschiedenen Gebieten der Erde untersucht. Einige dieser Ergebnisse sind Grundlage meiner diesjährigen Arbeit. Zum einen stellte ich fest, dass die Zeit, die Tardigraden benötigen, um aus dem Tönnchenstadium in den aktiven Zustand zurückzukehren, stark variieren kann. Eutardigraden wurden zumeist schneller aktiv als Heterotardigraden.[11] Zum anderen beobachtete ich, dass in tardigradenarmen Proben Eutardigraden vermehrt anwesend waren und insgesamt mehr Eutardigraden zu finden waren als Heterotardigraden. Alle diese Proben stammten aus Bereichen gemäßigten Klimas. Des Weiteren waren in einer Probe vom Vesuv lediglich Heterotardigraden zu finden.[12] Aufgrund dieser Beobachtungen nahm ich an, dass die Artenvielfalt auf das Klima zurückzuführen ist und Eutardigraden eine höhere Toleranz bezüglich einiger Umweltfaktoren aufzeigen. Ich vermutete, dass die höhere Toleranz der Eutardigraden auch unter Vakuum und beim Gefrieren zu beobachten ist und möchte dies in dieser Arbeit untersuchen.

Darüber hinaus stellte ich einige Probleme bezüglich der Präparation und Kultivierung fest. Es war mir weder möglich, Tardigraden in einer Lösung mit Algen und Mineralstoffen zu kultivieren, noch auf Agar-Platten mit Algen und Mineralstoffen.[12] Nach einem Gespräch mit einem Wissenschaftler aus dem Bereich der Tardigraden-Forschung erfuhr ich, dass Tardigraden nur zum geringen Teil Herbivoren seien und Mineralstofflösungen auch kontraproduktiv sein können. Zum anderen kann ich festhalten, dass

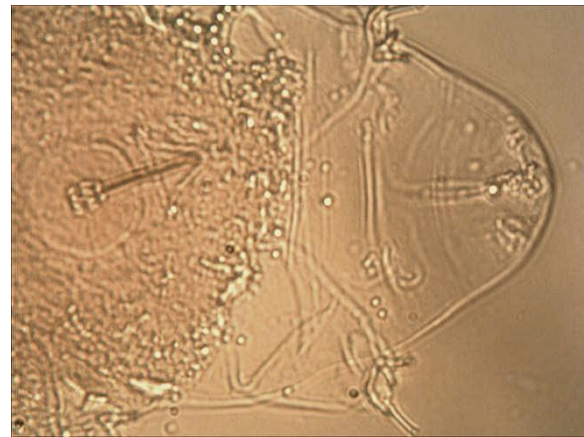


Abb.6: Mikroorganismen zersetzten Bärtierchen

tote Tardigraden nach dem Einbetten in Kunstharz durch Mikroorganismen zersetzt wurden, da der Wasseranteil zu hoch war. Auch das Entwässern über die aufsteigende Alkoholreihe erwies sich als schwierig und nicht zufriedenstellend, Präparate wurden häufig trotzdem zersetzt. [12] Aus diesem Grund werde ich in dieser Arbeit auf Dauerpräparate verzichten und meine Beobachtungen durch Bildaufnahmen festhalten.

3 Material und Methoden

3.1 Isolation und Präparation

Für die folgenden Versuche müssen zunächst Bärtierchen aus Moos isoliert werden. Besonders viele Individuen sind in sehr dichten Moosen, die z.B. auf dem Dach, in Dachrinnen oder an Steinmauern wachsen, vorhanden. In einer sehr guten Moosprobe können pro Gramm Trockenmasse bis zu 50 Individuen enthalten sein.

Um die Tiere zu extrahieren, wird ein Stück getrocknetes Moos (ca. 1g) in eine Petrischale gegeben. Darauf wird mithilfe einer Pipette etwa 5ml Wasser geträufelt. Nach wenigen Minuten wird das vollgesogene Moos in einer weiteren Petrischale ausgepresst. Die Probe kann nun unter dem Mikroskop beobachtet werden. Um die Tiere einzeln zu betrachten, werden sie mit einer Eppendorfpipette aus der Probe isoliert und in eine weitere Petrischale oder mit einem Tropfen Wasser auf einen Objektträger gegeben und ein Deckgläschen aufgelegt.

Nach der Isolation aus dem Moos befinden sich die Tiere im Tönnchenstadium und werden einige Minuten nach der Wasserzugabe aktiv. Da ich in dieser Arbeit vor allem das Verhalten der Tiere untersuchen möchte, dürfen sie weder asphykisch (siehe 2.2.3) werden, noch das Tönnchenstadium einnehmen. Daher muss für genug Wasser, sowie eine ausreichende Sauerstoffzufuhr (Petrischalen nicht abdecken) gesorgt werden. Die Tiere unter Asphyxie zu betrachten ist lediglich sinnvoll, um Details in der Anatomie zu erkennen.

3.2 Beobachtungseinrichtung

In meinen Versuchen arbeite ich mit einem Trinokular- Durchlichtmikroskop bei 100- bis 400facher Vergrößerung. Auf dem dritten Okular befindet sich eine USB- Kamera zur Dokumentation meiner Beobachtungen. Um besser die Strukturen der Tiere erkennen zu können, verwende ich eine LED um zusätzliches Auflicht zu erzeugen.

3.3 Stratosphäreballon

Wie bereits erwähnt, ließ ich Moosproben als Nutzlast eines heliumgefüllten Latexballons in die Stratosphäre transportieren. Der Durchmesser betrug über einen Meter. Als Nutzlast befand sich neben den Proben eine Radiosonde bzw. eine GPS- Empfänger, um Daten zur Position des Ballons erhalten zu können. Der Ballon stieg nach dem Start in weniger als 20 Minuten bis zur maximalen Höhe von ca. 30 Kilometern auf. Durch den niedrigen Luftdruck in dieser Höhe dehnt sich



Abb.7: Nutzlast

das Gas in solchen Ballons stark aus und diese platzen. Danach sinken sie mit einem Fallschirm langsam zum Boden zurück. Der Ballon mit meinen Proben erreichte nach 3 Stunden den Boden. Die Probe war somit einem minimalen Druck von 10 mbar und einer minimalen Temperatur von -70°C ausgesetzt. Die Moosproben gab ich in ein Eppendorfröhrchen, welches sich wiederum in einen mit Luftpolsterfolie gefüllten Briefumschlag befand.



Abb.8: Stratosphäreballon beim Start

Für die Festigkeit wurde der Umschlag mit Klebeband umwickelt und zum Schutz gegen

Wasser in eine Kunststofftüte gegeben. Um ein Platzen der Verpackung im Vakuum zu vermeiden, stach ich in jede Komponente der Verpackung kleine Löcher.



Abb.9: Eppendorfröhrchen mit einer Moosprobe

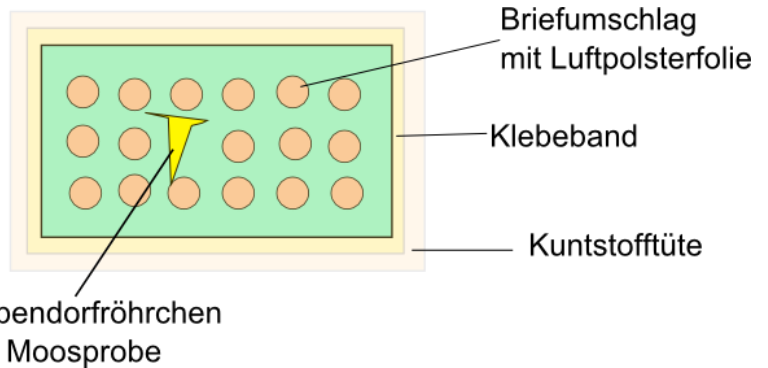


Abb.10: Verpackung der Probe

3.4 Simulation von Stratosphärebedingungen

In der Stratosphäre sind ausgenommen von der Strahlung alle für Lebewesen schädliche Bedingungen auf den niedrigen Luftdruck zurückzuführen. Vor allem sind dies die Ausdehnung der Gase in den Zellen, die extrem niedrigen Temperaturen und damit verbundene Eisbildung in der Zell- und Umgebungsflüssigkeit. Zudem herrscht dadurch ferner ein Sauerstoff- und Flüssigkeitsmangel. Da es mir nicht möglich ist mit Strahlung zu arbeiten, lassen sich die übrigen Bedingungen durch das Erzeugen eines Vakuums in einer Vakuumkammer simulieren. In der Stratosphäre

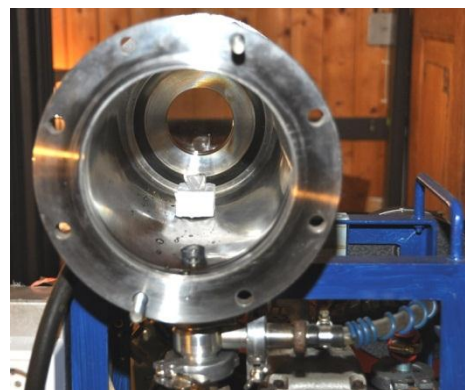


Abb.11: Eiswürfel in der Vakuumkammer

werden Drücke von 1 mbar, also ein Feinvakuum erreicht. Annähernd ist dies auch mit der Vakuumkammer möglich, die ich für die folgenden Versuche verwende.

3.4.1 Erzeugen des Unterdrucks

Nach dem Einschalten der Vakuumkammer ist in ca. 2-3 Minuten ein Vakuum erreicht. Gibt man eine Probe mit Tardigraden hinein, ist das Wasser auf dem Objektträger unmittelbar nach Erreichen des Vakuums gefroren. Die Temperatur dieser geringen Menge Eis innerhalb der Vakuumkammer zu messen ist mir bisher nicht gelungen.

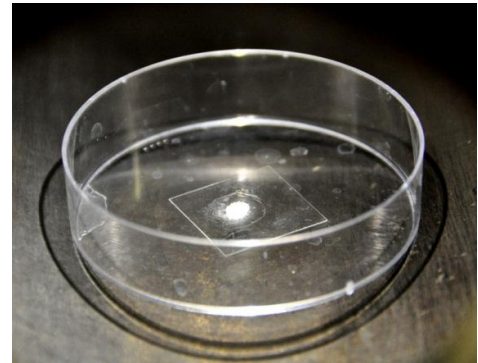


Abb. 12: gefrorener Wassertropfen im Vakuum

3.4.2 Erzeugen der Kälte

Da das Wasser der Proben alleine durch den geringen Luftdruck in der Kammer gefriert, reicht dies grundsätzlich aus, um sehr niedrige Temperaturen und Vakuum zugleich zu erzeugen. Um noch kältere Temperaturen erzeugen zu können, wird ein Objektträger mit einer Probe auf einen Eiswürfel mit der Kerntemperatur von -20°C gegeben. Zum besseren Transport in die Kammer wird der Würfel mit der Probe auf ein Stück Styropor gelegt. Angetautes Wasser gefriert direkt nach dem Einschalten der Kammer wieder, da die Temperatur durch die Sublimation des Wassers innerhalb der Kammer stark sinkt. Da ich nur mit einem unkalibrierten Messfühler arbeiten konnte und sich auch nicht die Kerntemperatur des Eiswürfels feststellen lies, konnte ich ein ungefähre Temperatur von -30°C im Eiswürfel vermuten.

Um unabhängig vom Vakuum sehr kalte Temperaturen zu erzeugen, eignen sich Warzenvereisungssprays. Ich habe zwei verschiedene Sprays verwendet, deren Funktionsprinzip das gleiche ist. Unter Druck wird ein Dimethylether- Propan- Gemisch in Flaschen verflüssigt. Dieses wird auf einen Applikator gegeben und nimmt schlagartig einen gasförmigen Zustand ein. Der Umgebung wird dabei Wärme entzogen. Es entstehen Temperaturen von bis zu -50°C . [10]



Abb. 13: Eissprays zur Warzenentfernung

Zum Gefrieren der Proben wird der Applikator mit dem Gemisch auf die Unterseite der Objektträger gegeben. Durch Messungen stellte ich fest, dass die Probe bei Raumtemperatur für wenige Sekunden lediglich eine Temperatur von -20°C annimmt.

4 Versuch in der Stratosphäre

In die Stratosphäre ließ ich 2 verschiedene Moosarten in jeweils zwei Eppendorf- Röhrchen mit gleicher Moosmenge aufsteigen. Das Moos wurde zuvor getrocknet, die Tiere lagen somit im Tönnchenstadium vor. Darauf verglich ich die Individuen in den Moosen unter dem Mikroskop.

5 Versuche mit Eisspray

Zunächst führte ich mit der ersten Sorte Eisspray drei Versuchsreihen durch. Ich pipettierte je fünf Eu- sowie Heterotardigraden mit Wasser auf einen Objektträger und ließ das Medium gefrieren und untersuchte die Tiere 24 Stunden nach dem einnehmen des Tönnchenstadiums erneut. Zur Kontrolle führte ich mit dem zweiten Eisspray eine weitere Versuchsreihe durch, bei der ich je 2 Hetero- sowie Eutardigraden zweimal im geringen Abstand voneinander einfrore. Vor Versuchsbeginn waren die Tiere aktiv.

6 Versuche im Vakuum

Im Vakuum führte ich zwei Versuchsreihen durch. Ich gab einen Objektträger mit einem Eu- sowie einem Heterotardigradum für 15 Minuten in die Vakuumkammer. In einer Reihe führte ich den Versuch mit einem Eiswürfel, in der anderen ohne durch. Auch hier waren die Individuen aktiv.

7 Beobachtungen und Auswertung

7.1 Stratosphäre

Alle Hetero- sowie Eutardigraden, die ich in den Proben fand, nahmen nach einiger Zeit einen aktiven Stoffwechsel auf, wobei die Heterotardigraden eine längere Zeit dafür benötigten. Das Überleben der Tiere stimmt mit Aussagen in der Literatur überein.

7.2 Eisspray

In den Versuchsreihen mit dem ersten Eisspray überlebten alle Eutardigraden. Auch nach der Einnahme des Tönnchenstadiums, direkt nach dem Einfrieren, wurde sie nach erneuter Wasserzugabe wieder schnell aktiv. Die Heterotardigraden verhielten sich unterschiedlich. Ungefähr ein Drittel der Individuen wurden nach dem Gefrieren asphykisch. Bei zwei von ihnen war auch unmittelbar Zellinhalt im Umgebungsmedium erkennbar (siehe Abb. 14), welcher auf den Tod hinweist. Ein weiteres Drittel war zwar nicht asphykisch, wurde aber auch nicht aktiv, dieses Ergebnis ist somit nicht klar zu deuten. Die Übrigen Individuen wurden direkt und nach 24 Stunden wieder aktiv. Keines der Individuen lag nach dem Einfrieren im Tönnchenstadium vor. Auch hier benötigen Eutardigraden wesentlich weniger Zeit um aktiv zu werden, dies deutet nach den Ergebnissen von 7.1 darauf hin, dass Eutardigraden grundsätzlich bei gleichen Umgebungsbedingungen schneller nach dem Tönnchenstadium aktiv werden, als Heterotardigraden.



Abb. 14: totes Heterotardigradum

Bei dem Versuch mit dem anderen Eisspray ergab sich, dass beide Individuen zweifaches Einfrieren hintereinander überlebt haben, allerdings das Heterotardigradum inaktiv war. Das Eutardigradum bewegte sich, zeigte aber farblose Stellen, welche auf Nahrungsmangel hinweisen. Dieser steht vermutlich nicht unmittelbar im Zusammenhang mit dem Gefrieren.

Die Ergebnisse zeigen, dass Heterotardigraden scheinbar sehr unterschiedlich auf Kälte reagieren können, es lässt sich daraus schließen, dass verschiedene Arten der Tiere anwesend gewesen sein können mit unterschiedlicher Toleranz gegenüber Kälte.

7.3 Vakuumkammer

In beiden Versuchen sind physiologische Veränderungen an Eutardigraden erkennbar. Im Versuch mit Eis überlebt das Eutardigradum, wobei auch hier farblose Ränder in der Cuticula zu sehen sind (siehe Abb. 15). Eventuell kann ein Zusammenhang zwischen dem Einfrieren (siehe auch 7.2) bzw. Vakuum und Nahrungsmangel bestehen, die ist aber auf dieser Grundlage nicht nachweisbar. Auch im Versuch ohne Eis überlebt das Eutardigradum, wobei es asphykisch (siehe Abb. 17) wurde. Ob dieses sich bei ausreichender Sauerstoffzufuhr wieder erholen kann habe ich hier nicht weiter untersucht. Das



Abb. 15: Eutardigradum bei Nährstoffmangel

Heterotardigradum überlebte den Versuch mit Eis nicht. Ungefähr 10 Minuten nach dem Experiment trat der Zellinhalt des Tieres aus. (siehe Abb. 18) Im Versuch ohne Eis wurde das Heterotardigradum asphykisch(siehe Abb. 16). Auch hier lagen keine Tiere im Tönnchenstadium vor. Es lässt sich somit vermuten, dass Eutardigraden auch Schaden durch das Vakuum nehmen können, wobei die beobachteten Veränderungen nicht irreversibel sein müssen. Da in der Stratosphäre ähnliche Bedingungen und zusätzlich Strahlung vorhanden sind, ist es denkbar, dass die Verpackung der Proben thermischen Schutz geboten hat und dass Tardigraden, die sich noch nicht im Tönnchenstadium befinden eine wesentlich geringere Toleranz gegenüber dem Vakuum bzw. Kälte besitzen, da sie den Versuchen nach nicht fähig sind bei schnell wechselnden Bedingungen das Tönnchenstadium einzunehmen.

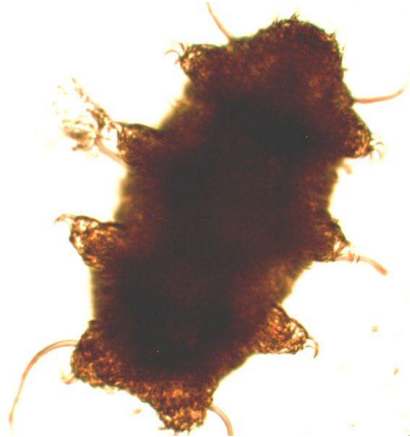


Abb. 16: asphykisches Heterotardigradum



Abb. 17: asphykisches Eutardigradum

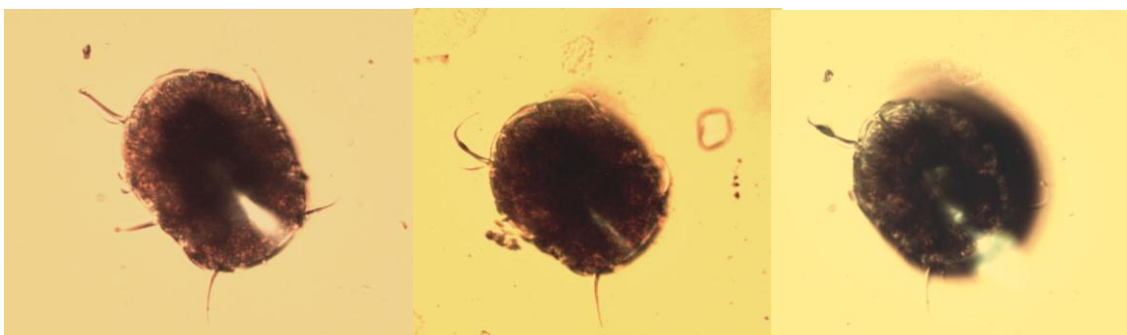


Abb. 18: Heterotardigradum nach dem Aufenthalt im Vakuum

8 Fazit und Ausblick

In meiner Arbeit war es mir möglich, mithilfe einer Vakuumkammer Stratosphärebedingungen zu simulieren. Mein weiteres Ziel, Unterschiede zwischen Eu- und Heterotardigraden bezüglich ihrer Toleranz gegenüber dem Vakuum bzw. Kälte festzustellen, ist mir auch gelungen. Zudem konnte ich feststellen, dass Tardigraden bei extrem schnell eintretendem Vakuum nicht in der Lage sind, das Tönnchenstadium einzunehmen. Um meine Ergebnisse ausreichend valide belegen zu können, möchte ich bis zum Wettbewerb noch weitere Versuchsreihen durchführen und überprüfen, ob die Tiere die Asphyxie überleben können. Auch die Auswirkung der Kombination von Eis und Vakuum möchte ich genauer betrachten und auch Temperaturmessungen im Eis in der Vakuumkammer durchführen. Darüber hinaus wäre ein langfristiges Ziel, die Tiere mithilfe meiner Ergebnisse aus den letzten Jahren zu kultivieren und zu überprüfen, ob Tardigraden nach dem Aufenthalt im Vakuum noch in der Lage sind, sich fortzupflanzen.

9 Quellenangaben

Literatur:

- [1] Greven, H.: Die Bärtierchen. Westarp Wissenschaften Hohenwarsleben 1980, S. 8-10, 57-59
- [2] Hengherr, S.: Trehalose, Vitrifikation und Gefriertoleranz: biochemische und biophysikalische Mechanismen der Kryptobiose in Tardigraden (Bärtierchen). Dissertation, Universität Stuttgart 2009, S. 5-6, 13-14, 20, 27
- [3] Ihmig, F. R. :Zur Funktion, Integration und Zuverlässigkeit elektronischer Bauelemente und Baugruppen in kryobiologischen Systemen. Dissertation, Universität des Saarlandes Saarbrücken 2007, S. 35-38

Quellen aus dem Internet:

- [4] Freie Universität Berlin: Die Erdatmosphäre. abrufbar unter: <http://www.geo.fu-berlin.de/fb/elearning/pgnet/themenbereiche/klimageographie/erdatmosferaere/index.htm?TOC=..%2F..%2Findex.html>. letzter Abruf: 03.01.2013. zit. nach: Häckel, H.: Metereologie. Ulmer Verlag Stuttgart 1999, S. 13-32 und Schönewiese, Ch.-D.: Klimatologie. Ulmer Verlag Stuttgart 2003, S. 20-25
- [5] Ganse, B. und Spanier, F.: Einfluss der kosmischen Strahlung auf den Menschen. abrufbar unter:<http://www.weltderphysik.de/gebiet/leben/schutz-und-reparatur-deslebens/kosmische-strahlung/>. letzter Abruf: 03.01.2013

- [6] Köhne, Dr. A. und Wößner, Dr. M.: Die Erdatmosphäre. abrufbar unter: <http://www.kowoma.de/gps/zusatzerklaerungen/atmosphaere.htm>. letzter Abruf: 03.01.2013
- [7] Reinberger, S. : Das unterschätzte Tier- Tapsige Bärchen und scheinotote Tönchen. abrufbar unter: <http://www.zeit.de/wissen/umwelt/2012-01/unterschaetztes-tier-baertierchen>. letzter Abruf: 11.01.2013
- [8] Tuckermann, Dr. R.: Die Atmosphäre. abrufbar unter: http://www.pci.tu-bs.de/aggericke/PC5-Atmos/Struktur_der_Atmosphaere.pdf. letzter Abruf: 03.01.2013
- [9] Resch- Esser, Dr. U.: Was würde passieren, wenn man in einem Raumschiff ein Fenster öffnete ?. abrufbar unter: <http://www.wissenschaft-im-dialog.de/aus-der-forschung/wieso/detail/browse/1/article/was-wuerde-passieren-wenn-man-in-einem-raumschiff-ein-fenster-oeffnete.html> letzter Abruf: 15.01.2013. zit. nach: Gunga, Prof Dr. H.-C.. Zentrum für Weltraummedizin Berlin
- [10] Schuck, C.: Chemie für Mediziner. abrufbar unter: <http://books.google.de/>. letzter Abruf: 15.10.2013

vorherige Jugend Forscht- Arbeiten:

- [11] Lübke, P.: Anpassung von Tardigraden an extreme Umweltbedingungen, Jugend Forscht Hermannsburg, 2011
- [12] Lübke, P.: Untersuchung und Kultivierung von Tardigraden verschiedener Herkunft, Jugend Forscht Hermannsburg, 2012

Bilder aus dem Internet:

- [13] Abbildung 1. Erdatmosphäre. abrufbar unter: http://www.pci.tu-bs.de/aggericke/PC5-Atmos/Struktur_der_Atmosphaere.pdf. letzter Abruf: 03.01.2013

10 Danksagung

Ein ganz besonderer Dank gilt meinem Betreuungslehrer Thomas Biedermann für die viele Unterstützung und seine Geduld während der gesamten Zeit. Ein großes Dankschön auch an Frau Biedermann, die immer für unser leibliches Wohl und ein tolles Arbeitsklima sorgt. Zudem möchte ich mich bei Herrn Günther und seinem Team des DARC Celle für das große Engagement und bei Herrn Dr. Hengherr für die fachliche Unterstützung bedanken.

