

Mendel in a Box – Anleitung Lehrkräfte

„Mendel in a Box“ ist eine Experimentierbox, mit der die Mendelschen Vererbungsregeln anschaulich erklärt werden. Die SuS ziehen *Arabidopsis thaliana*-Pflanzen im Unterricht an und beobachten die Phänotypen über mehrere Wochen hinweg. Ich hoffe, dass Sie viel Spaß mit dieser Box haben werden, und wünsche Ihnen gutes Gelingen!

Das Experiment ist in zwei Unterrichtsstunden aufgeteilt: Aussaat und Analyse, zusätzlich können sie zusätzliche Aufgaben oder Themen ansprechen, während die Pflanzen wachsen. Die Analyse kann ca. 8-14 Wochen nach der Aussaat beginnen, je nach Lichtverhältnissen und Temperatur.

Bestandteile von „Mendel in a Box“:

- 2 Anzuchtschalen und Hauben
- 30 Töpfe
- 30 Schilder
- Zahnstocher
- Unterrichtsmaterial
- Saatgut in Plastikgefäßen (Eppis)

Bestandteile, welche zusätzlich benötigt werden:

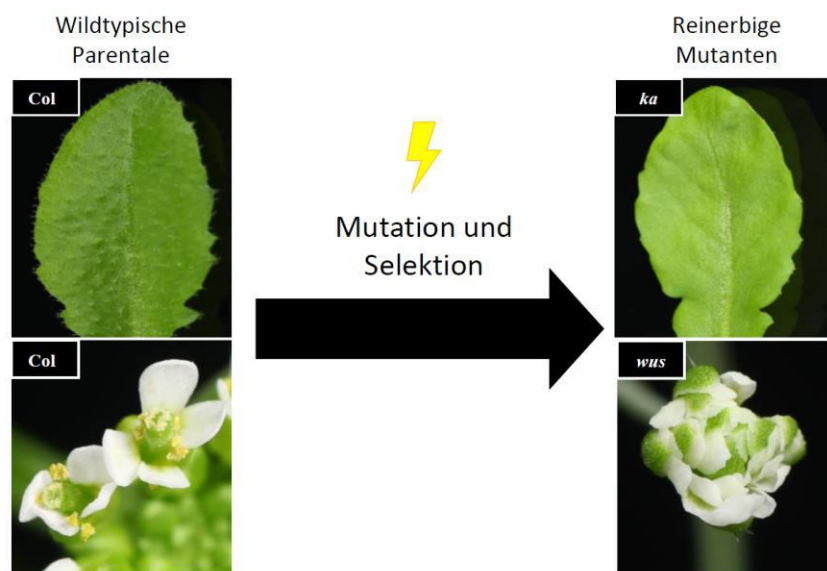
- Eimer und Wasser
- Zellstoffpapier (Taschentücher, Papierhandtücher o.Ä.)
- ca. 8-10 Liter Blumenerde

Wichtige Informationen vorab!

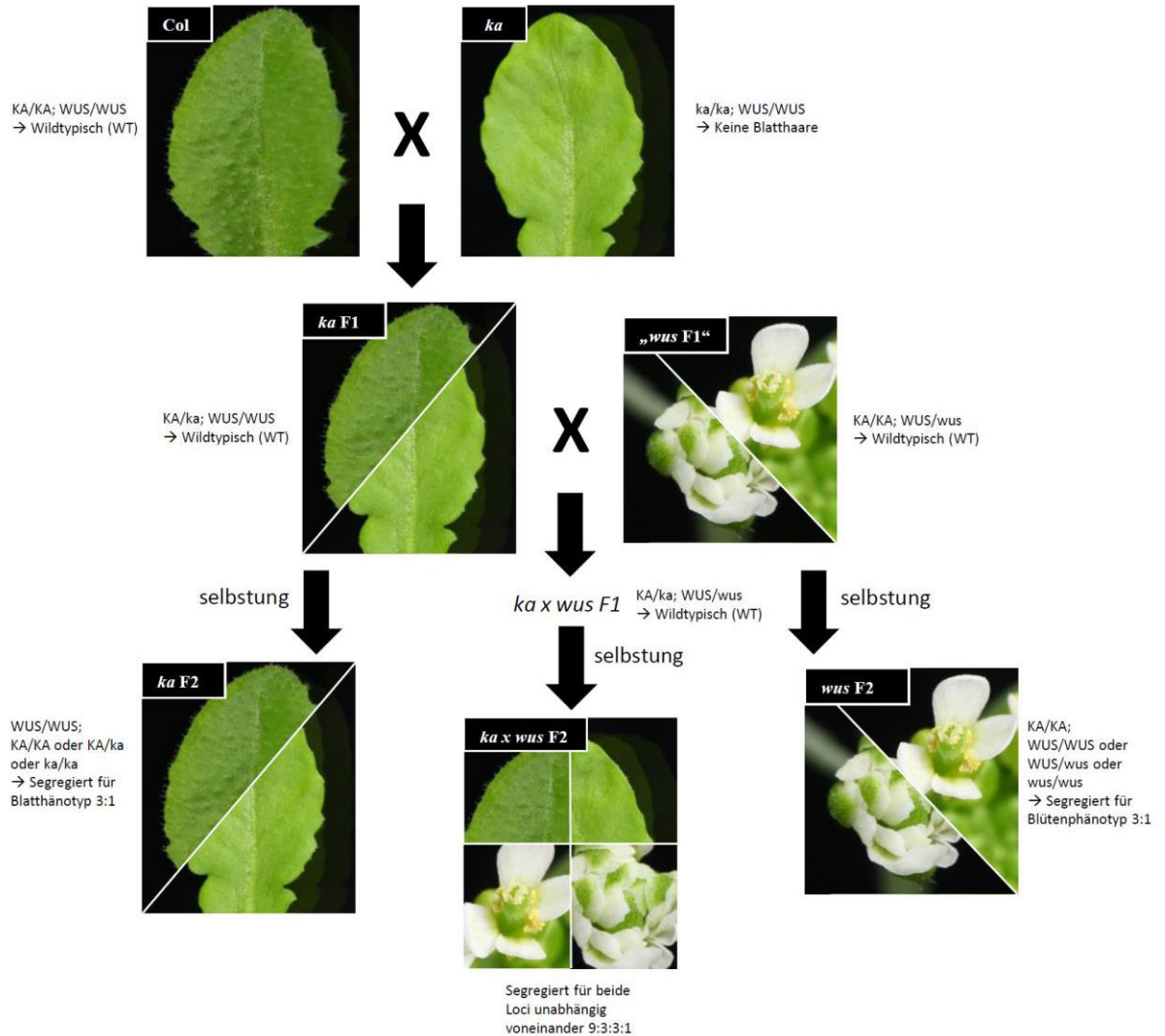
1. Mit „Mendel in a Box“ arbeiten die Schüler mit echten Lebewesen. Dadurch kann nicht garantiert werden, dass alles immer nach Plan verläuft. Seien Sie darauf gefasst, flexibel sein zu müssen! Achten Sie darauf, das Saatgut nicht zu lange zu lagern, da das die Keimungsrate negativ beeinflussen kann.
2. Die Samen müssen vor der ersten Unterrichtsstunde stratifiziert werden. Das heißt, sie müssen die Eppis mit dem Saatgut mit Wasser füllen und kaltstellen. Die Kälte sorgt für eine einheitlichere und schnellere Keimung. Es wird empfohlen, die Samen im Kühlschrank für mindestens drei bis fünf Tage vor dem Versuch zu lagern.
3. Sollten Sie unter Zeitdruck stehen, kann die erste Auswertung von Ergebnissen bereits nach ca. 2-3 Wochen erfolgen, da *ka/ka* Pflanzen keine Pflanzenhaare auf den echten Blättern, also auf den ersten Blättern nach den zwei Keimblättern, haben. Für die *wus* Pflanzen müssen Sie jedoch warten, bis sich die ersten Blüten öffnen.

Folgendes Saatgut ist in „Mendel in a Box“ enthalten:

- Col (Wildtypische Parentale)
 - *ka/ka* (Mutante Parentale)
 - *KA/ka* (F1)
 - *ka* segregierend (F2)
 - *wus* segregierend („F2“, nicht homozygot propagierbar)
 - *KA/ka WUS/wus* segregierend (3. Mendelsche Regel)
- ➔ eine Übersicht mit den Geno- und Phänotypen finden sie auf der nächsten Seite



Kreuzungsschema



Stundenübersicht

1. Stunde (45-60 min.): Aussaat

- ggf. Einführung Mendel und klassische Genetik
- Durchlesen des Arbeitsblattes
- Einteilung in Gruppen, Gruppe 1: Vorbereitung der Töpfe

Während der Vorbereitung der Töpfe für die anderen Gruppen:

- Zuteilung des Saatguts (beachten sie die Anzahl der Töpfe!), Beschriften der Schilder und des Papiers
- ggf. beantworten der Aufgaben

Sobald die Töpfe verteilt sind:

- Gruppe 1: aufräumen, sauber machen, Aufgaben beantworten
- andere Gruppen: Aussaat und Aufgaben beantworten
- zum Ende ggf. Auswertung der Aufgaben

generelle Hinweise:

- Gruppe 1 sollte als erstes zugeteilt werden, damit die Töpfe schnell verfügbar sind
- Gruppengröße max. 2-3 Schüler
- Schilder sollten gut lesbar beschriftet werden (Edding oder Fineliner), um die Auswertung zu erleichtern
- bei der Aussaat: darauf achten, dass die Samen nicht zerdrückt werden, nur **auf** die Erde gelegt werden und sich aufgeschrieben wird, welche Topfecken bereits befüllt sind

Nach der Aussaat:

- die Haube kann nicht bündig mit der Schale auf platziert werden, sondern liegt auf den Töpfen, Lüftungsschieber auf!
- Pflanzenlampe anstellen (dringend empfohlen! **Arabidopsis ist lichtkeimend**), Timerfunktion nicht vergessen
- Vermeiden Sie zugige Fenster und variierende Temperaturen, besonders während der Keimung. Arabidopsis braucht idealerweise konstant warme Bedingungen (Fenster abdichten, Heizung eingeschaltet lassen, ggf. Anzucht in etwas Abstand zu Fenstern)

Während die Pflanzen wachsen

- Regelmäßig überprüfen, ob die Erde weiterhin feucht ist. **Besonders zu Beginn des Experiments dürfen die Samen/Keimlinge nicht austrocknen!**
- wenn Töpfe mehr als vier Pflanzen enthalten, mit Pinzette oder Fingern rausnehmen und ggf. in Töpfe mit zu wenig Pflanzen einsetzen (nach 1-2 Wochen)

- regelmäßig gemeinsam mit den Schülern das Pflanzenwachstum beobachten (siehe Arbeitsblatt für Beispielfragen)

Parallel durchführbare Experimente

Mit „Mendel in a Box“ können Sie nicht nur die Vererbungsregeln greifbarer erklären, sondern parallel in anderen Klassenstufen frisches Material für andere Unterrichtseinheiten erhalten. Folgende Versuchsreihen sind zusätzlich denkbar mit „Mendel in a Box“ (schreiben Sie uns gerne, wenn sie zusätzliche Ideen haben!):

- Blattmorphologie mit dem Binokularmikroskop; Unterschiede Blattober- und unterseite, Blatthaare
- Blattanatomie mit dem Mikroskop; Blattquerschnitt, Gewebeschichten in Blättern von zweikeimblättrigen Landpflanzen
- Blütenaufbau der Angiospermen; Vergleich *wuschelig* und wildtypische Blüte

2. Stunde (45-90 min.): Analyse

- Wiederholung der Prämissen aus Stunde 1, Hypothesen und ggf. Anwendung von bisher gelerntem Stoff
- Auszählung der Phänotypen (z. Bsp. mit Tabelle an Tafel)
- Beantworten der Aufgaben vom Arbeitsblatt gemeinsam oder in Kleingruppen

Exkurs: Statistische Analyse

Es kann spannend sein, einen Exkurs in die statistische Analyse solcher Daten zu machen, um Aussagen darüber treffen zu können, ob die Nullhypothese als falsifiziert angesehen werden kann oder nicht. Hier wird ein Chi-Quadrat Test benutzt, welcher sehr einfach und nachvollziehbar an der Tafel durchgerechnet werden kann (siehe Anhang für ein Rechenbeispiel).

Zusätzliche Hintergrundinformationen

Das Saatgut von „Mendel in a Box“ besteht aus verschiedenen Generationen und Kreuzungen von drei Linien (einer parentalen, zwei mutanten) von *Arabidopsis thaliana*, auch bekannt als Acker-Schmalwand oder Gänserauke. *A. thaliana* ist die wichtigste, zweikeimblättrige Modellpflanze in der Pflanzenforschung und ihr Genom wurde deswegen schon im Jahr 2000 komplett sequenziert.

Die mutanten Linien in dieser Box sind *kahl* (*ka*) und *wuschelig* (*wus*), die Parentale Columbia (Col). Die Mutanten wurden jeweils durch Mutagenese mittels Ethylmethansulfonat (EMS) gefunden. EMS reagiert mit Nukleotiden und verursacht dadurch G/C -> A/T Mutationen, eine Methode welche ausgiebig in der landwirtschaftlichen Züchtung, sowie in der Forschung verwendet wird („forward genetics“). Pflanzen, welche homozygot mutant sind für *ka* (*ka/ka*), entwickeln keine Blatthaare (Trichome) auf ihren echten Blättern. *wus/wus* Pflanzen zeigen eine defekte Blütenstruktur. Hierbei handelt es sich um eine homöotische Mutation, bei welcher die Identität für die Stamina und das Karpell verloren geht, die Blüte ist „gefüllt“ und weist ausschließlich Petalen und Sepalen auf. In der Zierpflanzenzucht ist dies ein sehr begehrter Phänotyp, zu sehen in diversen Begonien oder Chrysanthemen, jedoch sind hier oft nur die Stamina mutiert. Da *wus/wus* Pflanzen keine Gameten produzieren, kann die Linie nicht homozygot aufrechterhalten werden.

Die Mutanten wurden durch Mutagenese von unterschiedlichen Ökotypen von *Arabidopsis thaliana* gefunden. Streng genommen ist die Parentale von *wus* nicht Col, sondern Landsberg erecta (Ler). Deswegen unterscheiden sich die Mutanten auch in ihrem generellen Aussehen teilweise. Um es einfacher für die Schüler zu machen, wurde jedoch nur Col als Parentale angegeben.

Anhang

Beispiel Chi-Quadrat Test

Beim Chi-Quadrat Test wird überprüft, ob eine beobachtete Verteilung von Klassen (hier Phänotypen) der erwarteten Verteilung anhand der vorher aufgestellten Hypothese entspricht. Mögliche Hypothesen wären in diesem Fall zum Beispiel:

Nullhypothese H_0 : Die *wus* und *ka*-Allele werden rezessiv/nicht mendelisch vererbt.

Alternativhypothese H_1 : Die *wus* und *ka*-Allele werden nicht rezessiv/mendelisch vererbt.

Hierbei wird χ^2 berechnet, welches dann mit Werten in einer Tabelle verglichen wird, um auf den p-Wert für unseren statistischen Test zu kommen.

$$\chi^2_c = \sum \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

χ^2 berechnet sich aus der Summe der quadratischen Differenz zwischen beobachteter (O, observed) und erwarteter (E, expected) Anzahl der Phänotypen, geteilt durch die erwartete Anzahl für jede Phänotypklasse. Man vergleicht also für jeden Phänotyp in der Population, wie sehr die

Anzahl der Pflanzen von der erwartbaren Verteilung basierend auf Mendel (Nullhypothese) abweicht. Ist die Abweichung groß, wird auch χ^2 groß sein, und damit der p-Wert (siehe unten).

Nehmen wir als Beispiel eine segregierende F2 Population für *wus* und *ka* mit 64 beobachteten Individuen. Zur Berechnung kann man folgende Tabelle gemeinsam mit den Schülern von links nach rechts ausfüllen:

Phänotyp	O (beobachtete Verteilung in Töpfen)	E (erwartete Verteilung basierend auf Mendel 9:3:3:1)	O-E	(O-E) ²	(O-E) ² /E
haarig, normale Blüten	38	36	2	4	0,11
kahl, normal	14	12	2	4	0,33
haarig, wuschelig	9	12	3	9	0,75
kahl, wuschelig	3	4	1	1	0,25
				Summe = χ^2	1,44

Nun konsultiert man eine Tabelle, um den p-Wert zu ermitteln:

<i>n</i>	<i>p</i>						<i>n</i>
	0,5 %	1 %	2,5 %	5 %	10 %	50 %	
1	0,0000	0,0002	0,0010	0,0039	0,0158	0,4549	1
2	0,0100	0,0201	0,0506	0,1026	0,2107	1,3863	2
3	0,0717	0,1148	0,2158	0,3518	0,5844	2,3660	3
4	0,2070	0,2971	0,4844	0,7107	1,0636	3,3567	4
5	0,4117	0,5543	0,8312	1,1455	1,6103	4,3515	5

n ist hierbei die Anzahl der Freiheitsgrade, welche immer die Anzahl der Klassen minus 1 ist (also 3 für die dritte Mendelsche Regel, 1 für die zweite Regel). Man sucht in der entsprechenden Zeile daraufhin den berechneten χ^2 -Wert (im Beispiel: 1,44) und schaut, in welcher Spalte man landet,

was einem den p-Wert gibt. In diesem Fall liegt der p-Wert zwischen 10% und 50% und damit über dem klassischen Signifikanzniveau von 5%.

Der p-Wert gibt die Wahrscheinlichkeit an, erneut solch eine beobachtete Verteilung zu erhalten, wenn die Nullhypothese stimmt, also eine mendelsche Vererbung vorliegt. Ist $p < 5\%$, kann H_0 als falsifiziert angesehen werden. Es gäbe also den Grund anzunehmen, dass keine mendelsche Vererbung vorliegt, weil die Verteilung weit genug von den mendelschen Erwartungen entfernt ist.

Es sollte sehr schwierig sein, ein signifikantes Ergebnis zu erhalten mit $p < 5\%$, weil die getestete Population hier vergleichsweise klein ist und genetisch immer eine mendelsche Vererbung zugrunde liegt. Trotzdem kann es Basis für einen spannenden Exkurs sein, um über wissenschaftliche Studien, Reproduzierbarkeit und statistische Tests zu sprechen.

Lösungsblätter

Aussaat – Lösungen

1. Macht euch in euren Gruppen Gedanken zu folgenden Aufgaben und notiert eure Lösungsvorschläge in eurem Hefter:
 - a. Nennt Eigenschaften, die *Arabidopsis thaliana* zu einer geeigneten Modellpflanze machen könnten.
 - klein
 - wächst schnell
 - kleines Genom
 - robust/anspruchlos
 - obligat selbstbestäubend (kann also auch gekreuzt werden), erlaubt Kreuzung und einfache Vermehrung
 - einfach transformierbar (genetisch modifizierbar)
 - b. Stellt Hypothesen bezüglich der Merkmale auf, die die unterschiedlichen Pflanzenlinien in den Töpfen haben werden.
 - reinerbige Parentalen für Col und *ka* → **wie auf Seite 2**
 - *ka* F1: die Nachkommen einer Kreuzung von Col und *ka* → **wie Col**

- *ka* F2: die Nachkommen einer *ka* F1 Pflanze → **3:1; behaart : ohne Haare**
- *wus* F2: die Nachkommen einer Pflanze („*wus* F1“), welche das mutante und das wilde *wus* Gen enthält → **3:1; normale Blüten : wuschelige Blüten**
- *ka* x *wus* F2: die Nachkommen einer Kreuzung von einer *ka* F1 und „*wus* F1“ Pflanze → **9:3:3:1; Col : ohne Haare, normale Blüten : behaart, wuschelig : ohne Haare, wuschelig**

Während die Pflanzen wachsen – Lösungen

1. Seht ihr einen Unterschied zwischen den ersten beiden Blättern (Keimblätter) und den darauffolgenden? Woran kann das liegen?
 - die ersten zwei Blätter sind die Keimblätter und weisen eine deutlich einfachere Morphologie auf (kleine, kreisrunde Blätter und wenig Vaskularisierung)
 - Die Anlagen für die Keimblätter sind bereits im Embryo im Samen angelegt, sie dienen der schnellen Energieaufnahme durch die Sonne
 - eine komplexe Blattstruktur wäre energieintensiver und würde länger dauern, was einen Konkurrenznachteil bedeuten würde
2. Warum brauchen ältere Pflanzen mehr Wasser als junge?
 - ältere Pflanzen sind größer und brauchen deshalb für ihr Wachstum mehr Wasser
 - zudem verfügen sie über mehr Wurzeln und können das Wasser dadurch auch schneller aufnehmen
3. Seht ihr Unterschiede in der Wachstumsgeschwindigkeit zwischen den verschiedenen Töpfen? Welche Faktoren könnten eine Rolle spielen?
 - oft wachsen Pflanzen an den Rändern der Schalen, sowie an der dem Fenster zugewandten Seite besser, da sie mehr Licht bekommen
 - zusätzlich sind *wus*-Mutanten meistens kleiner, blühen aber oft früher (siehe auch Analyse – Lösungen, Aufgabe 5)

Analyse – Lösungen

- Schaut euch die Populationen an. Entsprechen die Phänotypverteilungen euren Erwartungen? Fertigt ein Punnett-Quadrat an, und vergleicht die erwarteten Verteilungen mit den vorher aufgestellten Hypothesen.

- reinerbige Parentalen für Col und *ka* → **wie auf Seite 2**
- ka* F1: die Nachkommen einer Kreuzung von Col und *ka* → **wie Col**
- ka* F2: die Nachkommen einer *ka* F1 Pflanze → **3:1; behaart : ohne Haare**

	KA	ka
KA	KA/KA	KA/ka
ka	KA/ka	ka/ka

- wus* F2: die Nachkommen einer Pflanze („*wus* F1“), welche das mutante und das wilde *wus* Gen enthält → **3:1; normale Blüten : wuschelige Blüten**

	WUS	wus
WUS	WUS/WUS	WUS/wus
wus	WUS/wus	wus/wus

- ka* x *wus* F2: die Nachkommen einer Kreuzung von einer *ka* F1 und „*wus* F1“ Pflanze → **9:3:3:1; Col : ohne Haare, normale Blüten : behaart, wuschelig : ohne Haare, wuschelig**

	KA WUS	ka WUS	KA wus	ka wus
KA WUS	KA/KA; WUS/WUS	KA/ka; WUS/WUS	KA/KA; WUS/wus	KA/ka; WUS/wus
ka WUS	KA/ka; WUS/WUS	ka/ka; WUS/WUS	KA/ka; WUS/wus	ka/ka; WUS/wus
KA wus	KA/KA; WUS/wus	KA/ka; WUS/wus	KA/KA; wus/wus	KA/ka; wus/wus
ka wus	KA/ka; WUS/wus	ka/ka; WUS/wus	KA/ka; wus/wus	ka/ka; wus/wus

- Basierend auf euren Ergebnissen, welchen Phänotyp sollten die Pflanzen „*wus* F1“ und *ka* x *wus* F1 haben? Warum?
 - beide Wildtypisch, da sie heterozygot für die jeweiligen Loci sind
- Warum ist es nicht möglich, Saatgut mit ausschließlich *wus*^{-/-} Genotyp zu erhalten? Fällt euch eine Möglichkeit ein, wie man diese Linien trotzdem erhalten könnte?

- *wus*^{-/-} ist steril
 - Propagierung durch asexuelle Vermehrung/Klonen (z. Bsp. durch Pfropfung oder hormonelle Induktion neuer Pflanzen aus vegetativem Material)
4. Gregor Mendel hat die verschiedenen Erbsenlinien vor Beginn seiner Experimente mit sich selbst gekreuzt, um reinerbige Linien zu erhalten. Stellt Vermutungen auf, warum das wichtig für den Erfolg seiner Experimente war!
- reinerbige Linien sind homozygot für alle Loci (obwohl er das natürlich nicht explizit wusste)
 - nur so konnte er sicherstellen, dass seine Kreuzungen funktionieren würden, weil er damit sicher sein konnte, wie der „Genotyp“ seiner Pflanzen zusammengesetzt war
5. Wenn man *wus* und *ka* Pflanzen miteinander kreuzt, entsprechen die Phänotypverteilungen perfekt der 3. Mendelschen Regel. Was sagt das über die Position der beiden Gene auf dem Genom von *Arabidopsis thaliana* aus?
- es liegt keine Kopplung vor, die Gene liegen auf unterschiedlichen Chromosomen
6. Vergleiche das allgemeine Aussehen der *wus* F2 und *ka* F2. Fallen euch Unterschiede auf? Wie sieht es mit der *ka* x *wus* F2 Kreuzung aus? Woran könnten die Unterschiede liegen?

wus – Pflanzen haben tendenziell folgende Phänotypen:

- kleinere Pflanzen
- stumpfe, kürzere und breitere Früchte
- dichtere, apikal gebündelte Blütenstände mit kürzeren Blütenstielen
- weniger Seitensprosse
- tendenziell eher aufrechtes Wachstum
- rundere Blätter

Die *ka* x *wus* F2 Pflanzen werden auch für die allgemeinen Phänotypen segregieren. Das liegt daran, dass die Col-Mutterpflanzen, die genutzt wurden, um die Mutanten zu generieren nicht genetisch identisch waren. Dadurch segregieren diese zusätzlichen Merkmale parallel zu den beschriebenen. Die Mutanten sind also reinerbig für ihre jeweiligen Mutationen, aber nicht im gesamten Genom. Dafür müsste man die Pflanzen mindestens 5 Generationen selbst.