

II 90372/91,5

als/mikrokosmos

F 20582

MIKROKOSMOS



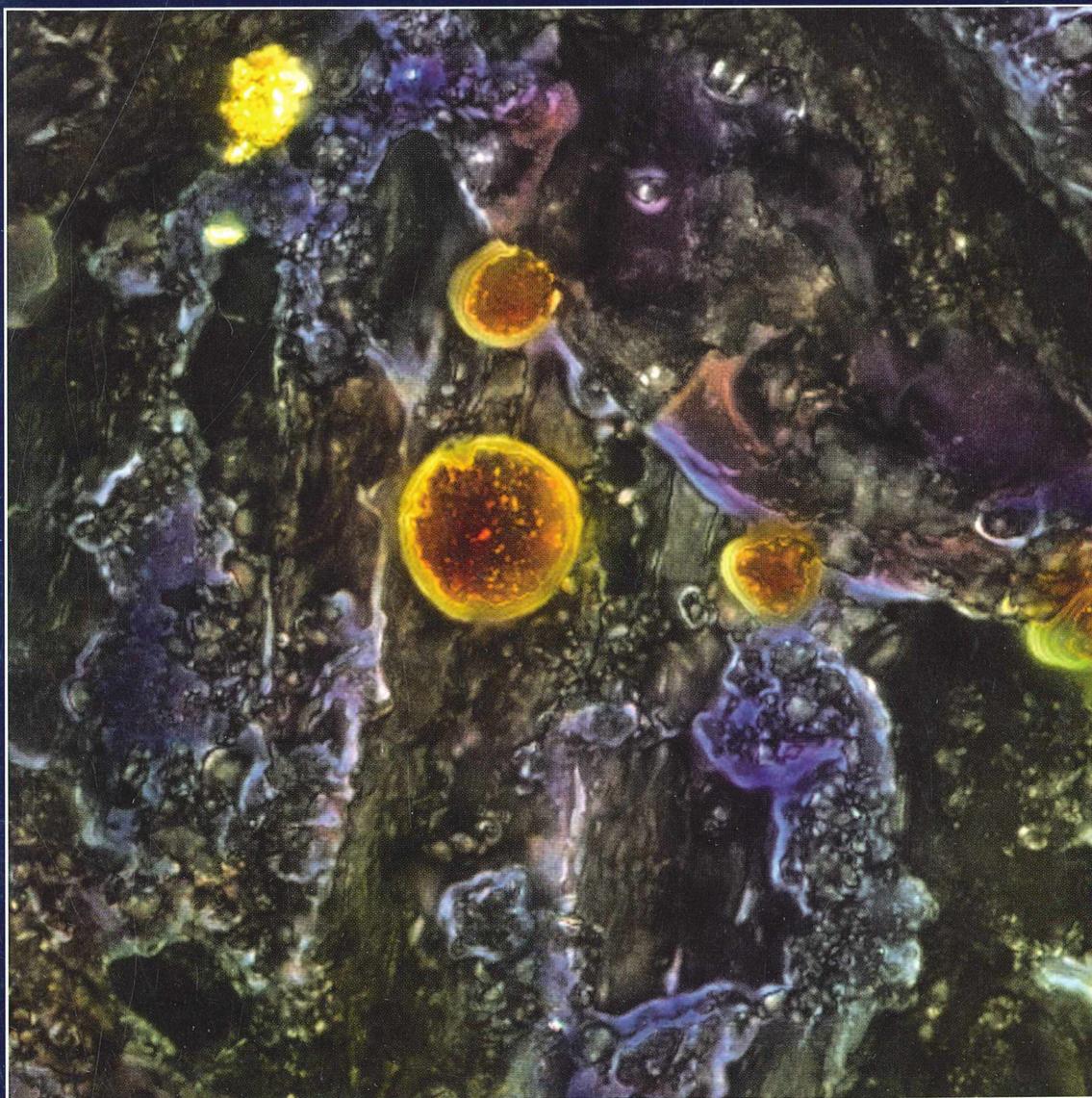
URBAN & FISCHER

September 2002

91. Jahrgang

Heft 5

ISSN 0026-3680



MIKROKOSMOS

Zeitschrift für Mikroskopie

Herausgegeben von Klaus Hausmann (Berlin) v.i.S.d.P.
Redaktionsassistentin: Renate Radek (Berlin)

Mitteilungsorgan für den Arbeitskreis Mikroskopie im Freundeskreis Botanischer Garten Köln, Arbeitskreis Mikroskopie im Naturwissenschaftlichen Verein zu Bremen, Berliner Mikroskopische Gesellschaft e.V., Deutsche Mikrobiologische Gesellschaft Stuttgart, Mikrobiologische Vereinigung im Naturwissenschaftlichen Verein zu Hamburg, Mikrobiologische Vereinigung München, Mikroskopische Gesellschaft Wien, Mikroskopische Arbeitsgemeinschaft der Naturwissenschaftlichen Vereinigung Hagen e.V., Mikroskopische Arbeitsgemeinschaft Hannover, Mikroskopische Arbeitsgemeinschaft Mainfranken, Mikroskopische Arbeitsgemeinschaft Stuttgart, Mikroskopische Gesellschaft Zürich.

Inhalt

Artikel

- 257** *Leptophrys vorax* – Eine Cysten bildende Amöbe
Karl Brantner
- 261** Das digitaloptische Mikroskop – Wichtige Innovation zur dreidimensionalen Mikroskopie
Veit Schubert, Michael Schwertner, Dietmar Schwertner
- 269** Das Auge als letztes Glied der mikroskopischen Abbildungskette
Gerhard Göke
- 281** Farbeffekte bei farblosen Stärkekörnern
Siegfried Hoc
- 285** Transferzellen und ihre Darstellung in Septalnektarien
Eberhard Schnepf
- 291** Der Schulp der Sepia – Ein Bionik-Objekt
Wolfgang Hasenpusch und Torsten Zaiß
- 297** Gläschen im Schlauch
Norbert Gregor Ginkel
- 299** Beobachtungen zur Biologie des Süßwasserpolypen *Hydra viridissima*.
2.Teil: Praktische Anleitungen, Verhalten und Beutefang
Matthias Haas
- 307** Einsatz neuer Leuchtdioden (LEDs) in der Mikroskopie
Gerhard Göke
- 316** Simultanfärbung von Pflanzenschnitten mit Fuchsin, Chrysoidin und Astrablau
Helmut Etzold

Rubriken

- 260**
Mikro-Lyrik
- 266, 267, 280, 289, 311, 312**
Kurze Mitteilungen
- 268, 296, 305**
Neue Medien
- 284**
Makro-Quiz
- 306**
Mikro-Korrigendum
- 313**
Mikro-Einsteiger

Im elektronischen MIKROKOSMOS-ARCHIV (<http://urbanfischer.de/journals/mikrokosmos/archiv/htm>) wird mit dem Erscheinen dieses Heftes ein Artikel aus dem Jahrgang 38 (1958/49) über Küvetten-Mikroskopie wiedergegeben.

Das jeweils neueste Inhaltsverzeichnis können Sie jetzt auch kostenlos per e-mail (ToC Alert Service) erhalten.
Melden Sie sich an: <http://www.urbanfischer.de/journals/mikrokosmos>

Indexed in: Bibliography and Index of Geology (also known as GeoRef)/Biological Abstracts/Chemical Abstracts/Excerpta Medica/Zoological Records

Mehr Informationen zum MIKROKOSMOS und anderen Zeitschriften finden Sie im Internet:
<http://www.urbanfischer.de>

Umschlagabbildung: Kugelschreiberpaste und kugelförmige Partikel eines Tintenstrahldruckers im Auflicht. Siehe Artikel V. Schubert *et al.*, S. 261–265

Leptophrys vorax – Eine Cysten bildende Amöbe

Karl Brantner

Bei meinen vielfachen Durchmusterungen jüngerer und älterer Proben waren mir immer wieder kleinere Ansammlungen von Kieselalgen aufgefallen. Eine Anzahl von meist drei, vier oder fünf Kieselalgen dicht gepackt, von verschiedener Größe, abgestorben mit braunen Resten der Chloroplasten und eng umgeben von einer dünnen, anscheinend starren farblosen Haut oder Schale (Abb. 1).

Mir kam das sehr merkwürdig vor, und ich überlegte alles Mögliche, fand aber keine Erklärung für diese Erscheinungsform. Die Lösung dieser Frage fand sich später.

Kieselalgen fressende Amöbe

Bei der Durchmusterung einer Wasserprobe aus einem kleinen Gartenteich fiel mir eine mehrfach vorkommende, kleine filose Amöbe auf, Größe und Form erinnerten etwas an die Gattung *Nuclearia*, doch einiges war anders. Die Filopodien waren zahlreich, und die Amöben bewegten sich relativ rasch weiter (Abb. 2). Ich habe dann ein Exemplar längere Zeit beobachtet, und die kleine Amöbe wanderte zwischen Fadenalgen und Detritus weiter und erreichte schließlich sozusagen eine Lichtung, in der eine größere Kieselalge frei lag. Die kleine Amöbe bewegte sich gerade auf sie zu. Und da geschah es: Kaum hatte die Amöbe die Kieselalge berührt, begann sie rasch über deren Oberfläche zu kriechen und sich auszubreiten. Schließlich war die Amöbe nur mehr als dünner Überzug der Kieselalge zu erkennen. Die zunächst noch sichtbaren Filopodien wurden allmählich eingezogen und zwischen der äußeren Begrenzung der Amöbe und der Beute war das Cytoplasma als schmales Band erkennbar (Abb. 3). Eine weitere Verlaufsbeobachtung war damals aus verschiedenen Gründen leider nicht möglich. Nun war ja einiges klar, es handelte sich offenbar um eine Fresscyste der Amöbe. Die Amöbe konnte auch nicht mittels der Monographie von Page (1991) bestimmt werden.

Amöbencysten

Mehr Klärung brachte eine spätere Untersuchung einer Wasserprobe aus einem Gartenteich einer Gärtnerei in Eisenstadt. Beim Durchstreifen der Probe fiel eine größere Anzahl der vorher beschriebenen Cysten auf, man konnte deutlich den schmalen Protoplasmasaum erkennen; auch leere Cysten fanden sich darunter, also Cysten ohne einen Protoplasmaanteil. Ich begann nun vier oder fünf dieser Cysten laufend zu kontrollieren, und zwar solche, die an Hand typischer beziehungsweise auffälliger Objekte der Umgebung rasch und leicht zu finden waren. Das ging lange so hin. Zwischendurch zeigte sich, dass die eine oder andere Cyste inzwischen schon wieder leer war – ich hatte die Excystierung eben verpasst. Schließlich aber fand ich eine Cyste, bei der in unmittelbarer Nähe zwei kleine Amöben zu



Abb. 1: Cyste nach Excystierung mit Resten von Diatomeen.

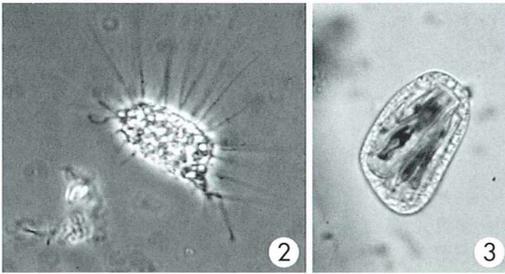


Abb. 2: Amöbe kurz nach der Excystierung. – Abb. 3: Cyste. Man kann deutlich den körnigen Cystoplasmasaum zwischen Außenhaut und den Diatomeen beziehungsweise deren Resten erkennen.

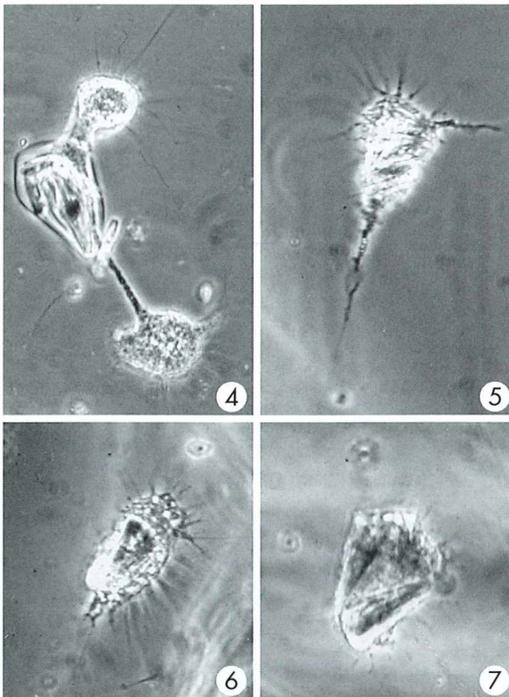


Abb. 4: Die Amöben treten immer an den entgegengesetzten Enden der Cyste sehr schnell aus. – Abb. 5: Die weiterziehende Amöbe hat bereits einige kleine Kieselalgen aufgenommen. – Abb. 6: Die Amöbe ist schon weitgehend mit Kieselalgen aufgefüllt. – Abb. 7: Amöbe unmittelbar vor der Encystierung, Filopodien sind noch erkennbar.

sehen waren, und dann endlich gelang es mir mehrmals, das Auskriechen der Amöben – es waren immer zwei – unmittelbar zu beobachten. Man konnte schon vorher leichte Bewegungen in den Cysten sehen. Dann ging es aber immer äußerst schnell. Die beiden Jungamöben fuhren, muss man sagen, nahezu blitzartig aus den Cysten heraus, und zwar an den entgegengesetzten Enden (Abb. 4). Begehrlich, dass dieses kurze Geschehen leicht verpasst werden konnte. Da immer zwei Amöben ausschlüpfen, handelte es sich also um so genannte Fress- und Teilungscysten. Die kleinen, flachen Amöben (Abb. 5) begannen meist rasch abzuwandern, und sobald sie auf kleine Kieselalgen trafen, solche waren ja reichlich in der Probe, wurde diese sofort aufgenommen (Abb. 6). Schon kurze Zeit später begann, vollgestopft mit diesen Algen, die Encystierung (Abb. 7).

Freie Lebensweise

Die freie Lebensweise einzelner Amöben war in dieser Probe oft nur sehr kurz. Zu erwähnen wäre noch eine Beobachtung. Nach dem Ausreten einer Amöbe aus der Cyste kam es zu einer Verschmelzung mit einer eben vorbeiziehenden anderen Amöbe, die bereits eine kleine Kieselalge aufgenommen hatte. Das Resultat war ein entsprechend großes Tierchen. Dieser Vorgang wurde nur einmal beobachtet. Bei einer Kontrolle der in feuchter Kammer aufbewahrten Probe am nächsten Tag fanden sich nur mehr leere Cysten; die der Größe nach in Frage kommenden Diatomeen waren alle verzehrt, von den Amöben keine Spur mehr, auch keine Dauercysten. Es ist übrigens bemerkenswert, dass die Amöben dieser Probe nur kleine Diatomeen aufnahmen und große Exemplare ignorierten.

Systematische Stellung

Fraglich blieben zunächst Gattung und Art dieser Amöben. Da kam mir eine Arbeit von Hülsmann (1985) zu Hilfe. Mehrere Abbildungen zeigten eine Amöbe, die in mancher Hinsicht meiner fraglichen Art glich. Es handelte sich hier um die Art *Leptophrys vorax*. Eine Rückfrage bei dem Autor zwecks Beurteilung meiner Fotos ergab eine Bestätigung meiner Annahme.

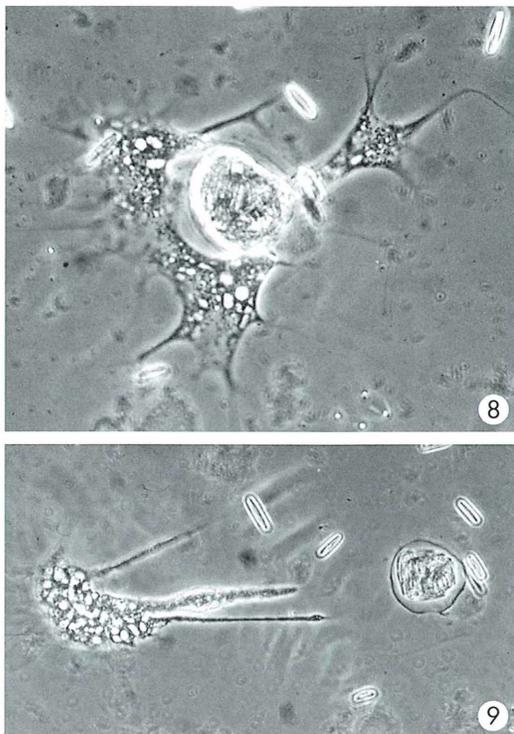


Abb. 8: Amöbe quillt an mehreren Stellen aus der Cyste heraus. – **Abb. 9:** Restcyste mit wegziehender Amöbe.

Weiter war zu entnehmen, dass es sich vermutlich um mehrere Arten oder Unterarten handeln dürfte, mit Bildung von Fresscysten, meist mit Diatomeen. Dauercysten wurden niemals beobachtet.

Weitere Suche nach Cysten bildenden Arten

Mit diesen Kenntnissen ausgerüstet wurde weiter gesucht. Es wurden mehrfach Cysten mit Diatomeen oder deren Resten gefunden. In einem Fall war stundenlanges Warten auf eine Excystierung erfolglos, am nächsten Tag aber war die Cyste leer. Genauere Zeitangaben sind nicht möglich; in den meisten Fällen dauert es sehr lange vom Beginn der Cystenbildung bis zum Auskriechen der Amöbe.

Sehr viel später hatte ich nochmals Gelegenheit solche Vorgänge zu beobachten. In einer Probe

aus älterem Teichwasser waren wieder mehrfach Cysten gefüllt mit Kieselalgen vorhanden. Zugleich waren mehrere kleinere, flache Amöben mit filiformen Pseudopodien zu sehen, die teilweise schon reichlich Diatomeen ingestiert hatten. Nach längerer Suche konnte in zwei Fällen die Bildung einer Cyste beobachtet werden und schließlich auch das Auskriechen der Amöben (Abb. 8). Das dauerte hier allerdings länger, in einem Fall genau zehn Minuten. Der Verlauf war auch völlig verschieden gegenüber der zuerst beschriebenen Art. Nur langsam quoll eine kleine Plasmamasse am Rand der Cyste hervor, bald darauf eine weitere an anderer Stelle, schließlich waren drei solche Ausbruchsstellen vorhanden. Bis zuletzt war unklar, ob dies mehrere Amöben waren, es schien jedenfalls so. Dann kroch jedoch die Amöbe, es war nur eine, aus einer Öffnung heraus und zog die übrigen Plasmateile nach sich (Abb. 9). Es handelte sich in diesem Falle nur um eine Fresscyste, die Amöben waren etwas größer und auch anders geformt. Dennoch könnte auch diese Amöbe in eine Sammelart, wie oben beschrieben, passen. Eine Bestätigung dieser Annahme war nicht zu erhalten.

Weitere Beobachtungen in dieser Sache wären wünschenswert.

Danksagung

Herrn Dr. N. Hülsmann, Freie Universität Berlin, sage ich für Bestimmungshilfe besten Dank.

Literaturhinweise

- Hausmann, K.: Protozoologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1985.
- Hülsmann, N.: Freilebende, nackte Amöben. In: Röttger, R. (Hrsg.) Praktikum der Protozoologie, S. 80–88. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1985.
- Mehlhorn, H., Ruthmann, A.: Allgemeine Protozoologie. Gustav Fischer Verlag, Jena 1992.
- Page, F.: Nackte Rhizopoda. In: Protozoofauna Band 2, erster Teil. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1991.
- Streble, H., Krauter, D.: Das Leben im Wassertropfen. Franckh'sche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1988.

Verfasser: Dr. Karl Brantner, Baumeistergasse 47/20/3, A-1160 Wien

Die zwei Amöben

Im Internet fanden wir folgende, redaktionell leicht geänderte, nette Einzellergeschichte von Michaela Gauderer (www.zoo.chemie.tu-muenchen.de/2amoeben.html).

Eines schönen warmen Sommertages saßen zwei gebildete Amöben auf einem untergetauchten Seerosenblatt und räkelten sich träge in der Sonne herum. *Oh, das tut gut, das bisschen Wärme*, sagte die eine zur anderen, *da kommt das alte Cytoplasma wieder in Schwung*.

Oh ja, bestätigte die andere geschäftig, *da wollte man doch gleich autotroph sein und das Endoplasma mit Chloroplasten füllen lassen*.

Die erste verzog gequält die Gestalt: *Du meinst doch nicht etwa Photosynthese? Also ich habe nie etwas gegen ein kleines Paramecium einzuwenden. So ein leckeres Paramecium tetraurelia, mmmh, das würde ich schon sehr vermissen!*

Tetraurelia? Bist du mutiert? rief ihr Gegenüber entsetzt, Tetraurelia kann ich nicht ausstehen! Sie schmecken so ... nach gar nichts. Meine Lysosomen weigern sich jedes Mal, ihre Enzyme daran zu verschwenden, wenn ich solch einen Pantoffel phagocytiere. Da ziehe ich doch ein Paramecium caudatum vor. Ach, und überhaupt, diese Ciliaten sind doch immer so haarig. Und dann setzen diese Biester immer noch eins drauf mit ihren Trichocysten, die an meiner zarten Membran kleben bleiben. Ekelhaft! Die Amöbe kugelte sich angeekelt ab und wurde kurzzeitig halb so groß wie die andere.

Also ich habe diese Probleme überhaupt nicht, versetzte die andere ungeduldig und ihr Ektoplasma schwabbelte indigniert. Das einzige, was mich an ihnen stört, sind ihre kontraktile Vakuolen. Die sind so groß mit ihren Ampullen, es stößt mir jedes Mal unangenehm auf.

Die andere Amöbe zitterte vor Lachen: *Du Heterotrophe. Solange das alles ist, was deinen Nucleus beschäftigt.*

A propos Nucleus – dieser Kerndimorphismus; ihre Micronuclei und Macronuclei liegen immer so schwer im Endoplasma. Man kommt kaum vorwärts.

Die andere Amöbe entleerte bedächtig mit einem Blubb ihre kontraktile Vakuole. *Jaja.*

Eine Weile schwiegen sie, ließen ihre Pseudopodien schlaff am Rand des Blattes herabbaumeln. Ein Sauerstoffmolekül presste sich aus einer Schließöffnung des Blattes und kitzelte die eine am Uroid.

Photosynthese wäre da schon bequem, murmelte die eine schließlich und glitt gemächlich in verschiedene Richtungen. *Keine Hetze mehr, keine leeren Nahrungsvakuolen, bloß ein paar Chloroplasten und die Stärkekörner kommen von selbst.*

Nanu, die Heterotrophe wird zur Autotrophen, spötelte die andere, doch die erste korrigierte sie ernst: *Nicht autotroph, amphitroph wäre praktisch, oder zumindest mixotroph. Vielleicht sollten wir ein paar Flagellaten phagocytieren und uns ihre Chloroplasten einverleiben.* Die andere lachte pflichtbewusst und schlängelte ihr Pseudopodium um die erste. Zwei Paramecien schwammen vorbei. Sie schienen ziemlich glücklich zu sein. *Ach ja, die Ciliaten sind doch im Grunde zu beneiden.*

Wegen ihrer Konjugation? Die zweite Amöbe schwieg viel sagend.

Schließlich rutschte die Erste von der Blattkante herunter und waberte etwas unsicher im freien Wasser herum. *Mann, ich fühle mich schon wie in einer Pellicula. Komm, lass uns etwas die Pseudopodien vertreten und dann lad ich dich auf eine Phagocytose ein. Ich habe da letzstens eine ganze Kolonie von Paramecium caudatum herumpaddeln gespürt.*

Die andere glitt neben sie und dehnte ihre wenigen Myosin-Fibrillen. *Wenn's dir nichts ausmacht – ich habe eigentlich bloß Lust auf etwas Pinocytose oder Permeation.*

Meine Osmoseregulierung funktioniert gleich nicht mehr vor Wut, lachte die Erste, nahm die andere bei einem Pseudopodium, und so warteten sie davon, während Sonnenflecken auf dem Seeboden umhertanzen.

Redaktion MIKROKOSMOS

Das digitaloptische Mikroskop – Wichtige Innovation zur dreidimensionalen Mikroskopie

Veit Schubert, Michael Schwertner, Dietmar Schwertner

3D-Mikroskopie – wen fasziniert sie nicht? Bei Anwendung von konventionellen Stereomikroskopen war sie lange Zeit auf niedrige Vergrößerungsbereiche beschränkt. Später entwickelte Systeme für hoch auflösende lichtmikroskopische Anwendungen erforderten vor allem den Einsatz von Fluoreszenzverfahren. Das digitaloptische Mikroskop (DOM) setzt nunmehr neue Maßstäbe. Dieses Gerätesystem ermöglicht die Erzeugung hoch aufgelöster räumlicher Abbildungen nicht nur im Auflicht, sondern nunmehr auch im Durchlichtverfahren und in Kombination mit den klassischen optischen Kontrasttechniken wie differentieller Interferenzkontrast und Polarisation. Dadurch können erstmals optisch transparente Phasenobjekte auch ohne die Anwendung von Fluoreszenztechniken räumlich dargestellt werden. Dies führt zu einer neuen Qualität der stereoskopischen Abbildung. Es entsteht ein vollständiges räumliches Bild in Echtfarbe. Die universelle Anwendbarkeit des DOM wird zu Fortschritten im Bereich der aktuellen biologischen Forschung, aber auch zur Verbesserung von Strukturanalysen in der Materialforschung beitragen.

Die räumliche Struktur unbekannter mikroskopischer Objekte kann nicht immer ausreichend durch die Darstellung in zweidimensionalen Bildern verstanden werden. Anstelle einer objektiven Raumwahrnehmung, wie sie durch die Betrachtung eines echten Stereobildes realisiert wird, liefert das zweidimensionale Bild nur die Voraussetzung für eine subjektive Raumvorstellung, die durchaus auch mit Fehlern behaftet sein kann. Folglich wurde bereits vor mehr als 100 Jahren begonnen, Stereomikroskope für den niederen Vergrößerungsbereich (bis 200fach) zu entwickeln. In den vergangenen Jahrzehnten folgten Gerätesysteme, die auch bei höherer Auflösung 3D-Abbildungen liefern. Wichtige Entwicklungen waren dabei das Konfokalmikroskop, das Restaurationsmikroskop und das Raumbildmikroskop. Diese Systeme zeigen neben Vorteilen bezüglich einiger Eigenschaften jedoch auch Nachteile und Einschränkungen (Schubert *et al.*, 2001). In dieser Hinsicht erweitert das seit 1997 auf dem Markt befindliche digitaloptische Mikroskop der Firma Schwertner GbR, Jena, deutlich die Möglichkeiten zur Untersuchung räumlicher Strukturen.

Das Funktionsprinzip

Die optische Basis des DOM ist ein PC-gesteuertes Lichtmikroskop. Der Computer führt die Bildverarbeitungsoperationen aus und übernimmt die Steuerung von Mikroskop, Kamera und 3D-Display-Technik (Abb. 1). Die Erzeugung stereoskopischer Raumbilder wird durch einen automatischen Prozessablauf realisiert. Die begrenzte Schärfentiefe optischer Mikroskopanordnungen bedingt die Notwendigkeit zur Aufnahme einer Serie von Abbildungen entlang der optischen Achse (so genannter primärer Z-Bildstapel). Die Abbildungen dieser Fokusserie enthalten neben der Strukturinformation (scharfe Bereiche der Abbildung) auch leere Bildinformation (*out-of-focus* Bildinformation), die als unscharfe Abbildung aus benachbarten Fokusebenen erscheint und die Strukturbildinformation der fokussierten Bildebene überlagert. Daher ist der primäre Z-Bildstapel selbst nicht projektionsfähig. Die Trennung der *out-of-focus* Information von der Strukturbildinformation erfolgt durch so genannte Schärfekriterien. Dabei werden nicht-lineare Bildverarbeitungsoperationen in

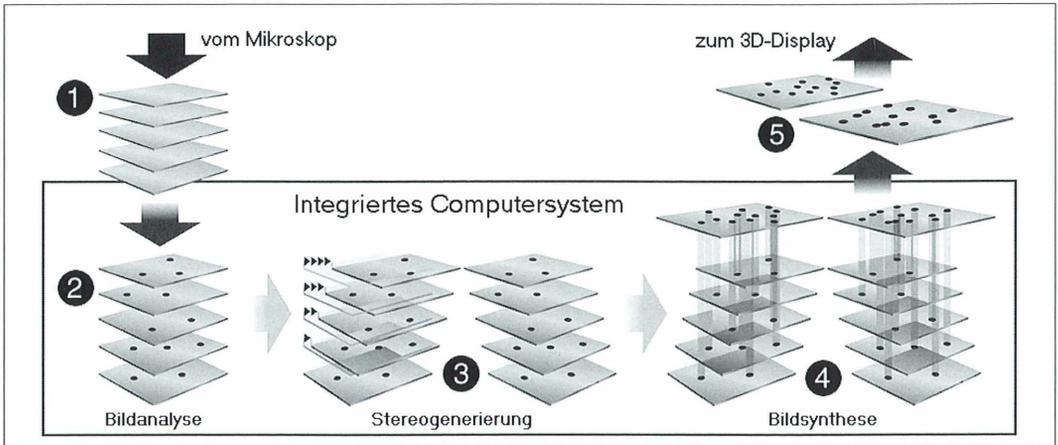


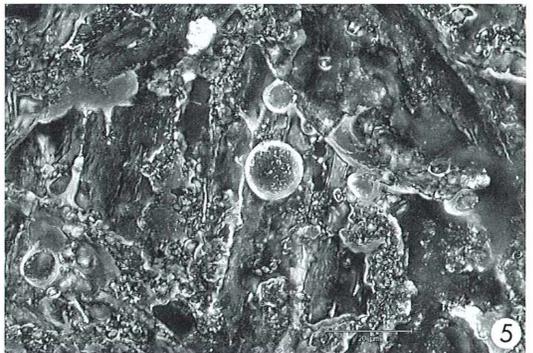
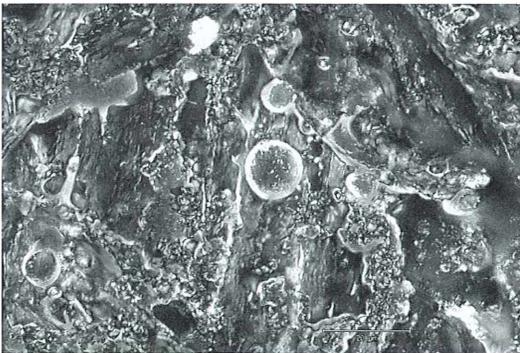
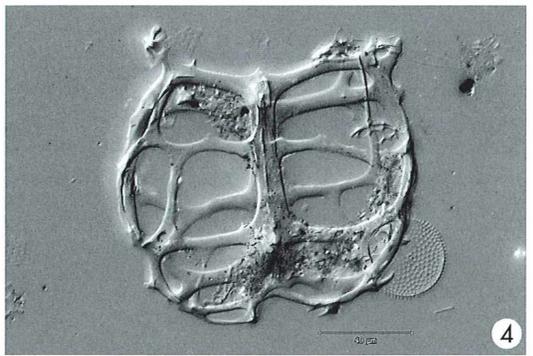
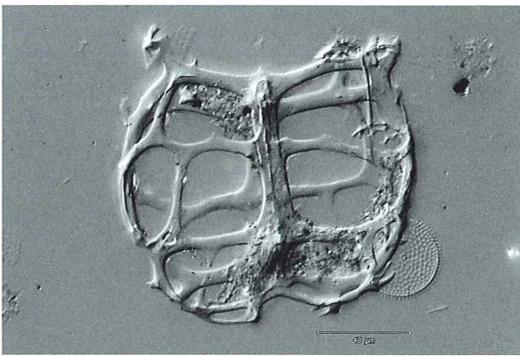
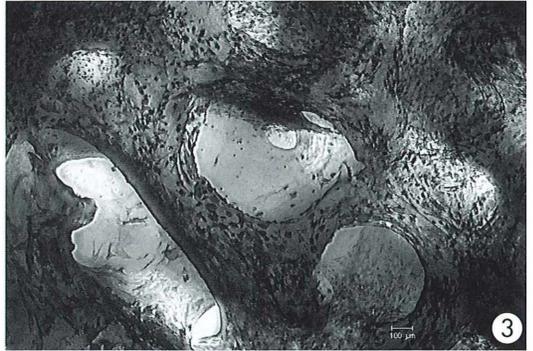
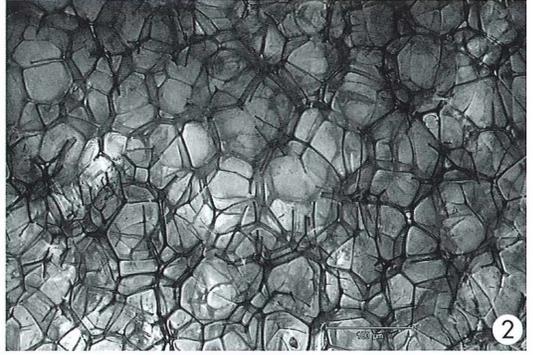
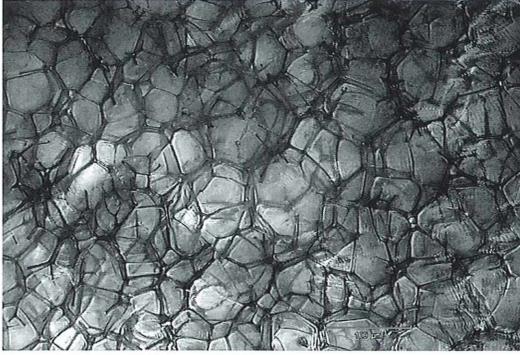
Abb. 1: Prozessschritte zur Erzeugung eines 3D-Bildes durch das DOM. 1 Eine Serie optischer Schnitte wird vom Mikroskop zum Computer übertragen und digitalisiert. 2 Ein Bildstapel wird gebildet und durch automatische Bildanalyse werden Orte lokaler Schärfe auf der Basis von Schärfekriterien identifiziert. 3 Zur Erzeugung der stereoskopischen Projektionen werden zwei parallaktische Bildstapel gebildet. 4 Durch die selektive Projektion der Orte lokaler Schärfe wird ein Stereobildpaar erzeugt. 5 Übertragung des Stereobildpaares zum 3D-Display in Form von zwei parallaktischen Bildern mit erweiterter Schärfentiefe (*extended focus*).

nicht-iterativen Algorithmen angewendet, so dass eine hohe Prozessgeschwindigkeit des Systems erreicht wird. Dieser Selektionsprozess führt zur Erzeugung des projektionsfähigen sekundären Z-Bildstapels (Schwertner *et al.*, 2002).

Die Präsentation der räumlichen Struktur des mikroskopischen Objektes erfolgt durch die Darstellung eines Raumbildes. Dieses Raumbild wird durch die Wiedergabe eines Stereo-

bildpaares erzeugt, dessen Teilbilder durch Projektion aus dem sekundären Z-Bildstapel entstehen, wobei sich die Richtungen der Projektionen durch den Blickwinkel für stereoskopisches Sehen unterscheiden. Die Teilbilder des Stereobildpaares bestehen aus zwei so genannten parallaktischen *extended focus* Abbildungen. Das Raumbild lässt die räumliche Struktur des mikroskopischen Objektes auf direktem Wege erkennen.

Abb. 2–5: 3D-Abbildungen, die mit einem DOM-System basierend auf einem Zeiss Axioskop 2mot erzeugt wurden. Jedes Teilbild des Stereobildpaares ist eine 2D-Abbildung mit erweiterter Schärfentiefe. Die Stereobildpaare können idealer Weise mit einer Prismenbrille oder auch ohne Brille bei etwas Übung mit leichtem Schielblick aus circa 30 cm Entfernung betrachtet werden. – **Abb. 2:** Polymerschaum-Querschnitt (DIK-Hellfeld). Präparat von M. Schossig-Tiedemann (GKSS Forschungszentrum, Institut für Chemie, Geesthacht). – **Abb. 3:** Knochengewebe, entstanden nach der Besiedelung eines Kollagenträgers mit Osteoblasten (DIK-Hellfeld). Präparat von Dr. K. Würzler (Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie der Bayrischen Julius-Maximilian-Universität Würzburg). – **Abb. 4:** Radiolar (DIC-Hellfeld). Das Bild zeigt ein Objekt aus der Radiolarien-Kollektion von Ernst Haeckel (Rad. Coll. Nr. 33, Tiefseeschlamm, Radiol. Ooze. Egeria. V. 1887, Ind. Oc. 2779 Fd.). Das historische Originalpräparat wurde freundlicherweise durch Prof. O. Breidbach (Ernst-Haeckel-Haus der Universität Jena) zur Verfügung gestellt. Es wurde im Verlauf der englischen Tiefsee-Expedition Challenger (1872–1876) durch Sir John Murray angefertigt. – **Abb. 5:** Schriftstück (Aufflicht, Dunkelfeldsimulation). Präparat von Dr. T. Andermann (Bundeskriminalamt Wiesbaden). Eindeutig kann die zum Nachweis von Urkundenfälschungen entscheidende Frage geklärt werden: Was war zuerst da, Unterschrift oder Gedrucktes? Auf dem Papieruntergrund befindet sich die Kugelschreiberpaste. Erst danach wurden die kugelförmigen Partikel des Tintenstrahldruckers aufgebracht.



Der Gesamtprozess dauert etwa 20 Sekunden und wird mit der Ausgabe des Raumbildes abgeschlossen, das mit einer Stereo-Shutterbrille direkt am Monitor betrachtet wird. Außerdem ist es möglich, die 3D-Bilder nach Doppelprojektion mit passiven Polarisationsbrillen zu beobachten, die Rot-Grün-Anaglyphentechnik einzusetzen oder ausgedruckte Stereobildpaare mit einer Prismenbrille zu betrachten (Abb. 2–5).

In das DOM-System können moderne Forschungsmikroskope mit PC-Schnittstelle von Herstellern wie Leitz, Nikon, Olympus oder Zeiss integriert werden. Die Nachrüstung bereits vorhandener Mikroskope älterer Baureihen durch PC-gesteuerte, piezoelektrische Hubtische ist ebenfalls möglich.

Neue Eigenschaften und Anwendungsmöglichkeiten

Das DOM kombiniert die Vorteile der klassischen optischen Lichtmikroskopie mit modernen digitalen Bildverarbeitungstechniken und ermöglicht dadurch die stereoskopische Darstellung bei hoher optischer Auflösung. Der Begriff digitaloptisch wurde gewählt, da das System eine Synthese aus konventioneller optischer Mikroskopie und digitaler Bildverarbeitung darstellt, die zu einer neuen Qualität der Abbildung führt, welche mit rein optischen Mitteln nicht erreichbar wäre. Das Verstehen komplexer räumlicher Strukturen ist nun auch im Durchlicht und in Echtfarbe und bei Nutzung optischer Kontrasttechniken möglich, so dass die 3D-Struktur transparenter Objekte ohne weitere Hilfsmittel darstellbar ist (Abb. 2–4). Echtfarbdarstellungen kommen dem Bedürfnis nach objektiven naturgetreuen Abbildungen in der naturwissenschaftlichen Forschung weitgehend entgegen. Durch die selektive, am DOM interaktiv steuerbare Aufnahme von Schnittbildstapeln, ist außerdem das optische Öffnen transparenter Objekte realisierbar geworden (Schubert *et al.*, 2001).

Zusätzlich zur Analyse von transparenten Objekten im Durchlicht können optisch intransparente Präparate, wie man sie beispielsweise häufig in der Werkstoffforschung oder bei kriminalistischen Untersuchungen findet, im Auflichtverfahren räumlich untersucht werden. Mitunter können interessante Strukturen durch eine Dunkelfeldsimulation noch besonders kontrastreich hervorgehoben werden. DIK-

Hellfeld (DIK = Differentieller Interferenz Kontrast) auf optischer Seite wird dabei mit einer durch den Computer simulierten optischen Dunkelfeldbedingung kombiniert. Hinsichtlich der Dunkelfeldsimulation ist das DOM erstmals in der Lage, optische Kontraste mit computergenerierten Kontrasten zu verbinden. Abbildung 5 zeigt das 3D-Bild eines Schriftstückes, das im Auflichtverfahren und bei Dunkelfeldsimulation aufgenommen wurde.

Eine weitere wesentliche Eigenschaft des DOM ist die Erzeugung digitaler Simultankontraste. Durch die Erfassung des Objektes mit unterschiedlichen optischen Kontrasttechniken wird erstmals eine echte 3D/3D Kolokalisation von verschiedenen Details des Objektes möglich. So können zum Beispiel fluoreszierende Zellbestandteile innerhalb der ebenfalls in 3D dargestellten, aber in DIK-Hellfeld aufgenommenen Zelle, räumlich abgebildet und zugeordnet werden.

Die Funktionsweise des DOM erlaubt neben der Erzeugung stereoskopischer Abbildungen zusätzlich das Vermessen von räumlichen Strukturen, eine Voraussetzung, wie sie häufig im Bereich der biologischen und nicht-biologischen Forschung gefordert wird.

Neben dem Einsatz von Fluoreszenzfarbstoffen zur selektiven Markierung erlaubt das DOM durch seine Durchlichtfähigkeit auch die Anwendung von klassischen Farbstoffen bei der Erzeugung räumlicher Abbildungen. Derartige Diachrome sind häufig leicht zu handhaben und finden breite Anwendung in der biologischen Forschung.

Zunehmend wird an der Aufklärung komplexer Vorgänge in Zellen und Geweben gearbeitet. Es gilt, dynamische Prozesse räumlichen Strukturen zuzuordnen, sie über längere Zeiträume zu beobachten und zu dokumentieren. Neben den aktuellen Forschungsgebieten *Genomics* und *Proteomics* ist wachsendes Interesse an *life cell imaging* beziehungsweise *Cellomics* zu beobachten (Weiss *et al.*, 2001). Die hohe Prozessgeschwindigkeit und die neuen 3D-Eigenschaften des DOM eröffnen in diesem Zusammenhang neue Möglichkeiten. So können 3D-Zeitraffersequenzen in Echtfarbe und ohne präparationsbedingte Artefakte erzeugt werden, wobei die Zeitraffersequenz unmittelbar nach Abschluss der mikroskopischen Beobachtung vorliegt. Damit setzt das DOM bei der Analyse von *in vivo* Vorgängen neue Maßstäbe.

Tabelle 1: Mikroskopische Systeme mit räumlicher Darstellung im Vergleich.

| Eigenschaften | Stereo- mikroskop | Raubild- mikroskop | Konfokales Mikroskop | Restaurations- mikroskop | Digitaloptisches Mikroskop |
|------------------------------|----------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| Vergrößerung über 200fach | – | + | + | + | + |
| Auflicht | + | + | + | + | + |
| Durchlicht | + | + | – | (+) | + |
| Optische Kontraste | (+) | – | – | (+) | + |
| Fluoreszenz | + | – | + | + | + |
| Echtfarbe | + | + | – | – | + |
| Raumtiefe nicht begrenzt | – | – | + | + | + |
| Echtzeit | + | + | – | – | – |

+ Eigenschaft vorhanden, – Eigenschaft nicht vorhanden, (+) Eigenschaft begrenzt vorhanden

Der Vergleich

Vielfältige innovative Entwicklungen der vergangenen Jahre führten zu einer elektronischen Revolution in der Lichtmikroskopie (Shotton, 1987; Weiss *et al.*, 2001). In diesem Zusammenhang wurden auch auf dem Gebiet der räumlichen Mikroskopie, zusätzlich zum rein optisch basierten Stereomikroskop, elektronisch gesteuerte Hybrid-Systeme entwickelt.

Tabelle 1 vergleicht das DOM mit weiteren auf dem Markt befindlichen 3D-Mikroskopsystemen. Dazu gehören neben konventionellen Stereomikroskopen das auf einer *Shutter*-Technik basierende Raumbildmikroskop der Firma Zeiss, konfokale Mikroskope und Restaurationsmikroskope, die Dekonvolutionsverfahren nutzen. Im Unterschied zu den anderen Systemen wird deutlich, dass die meisten für die Qualität der stereoskopischen Abbildung bedeutsamen Eigenschaften durch das DOM gegeben sind. Echtzeitfähigkeit, wie sie beim Stereo- und Raumbildmikroskop vorliegt, ist nicht vorhanden. Trotzdem können auf Grund der hohen Prozessgeschwindigkeit des DOM-Systems 3D-Zeitraffersequenzen von langsamen dynamischen Vorgängen aufgenommen werden. Die Weiterentwicklung der Geschwindigkeit von PC-Prozessoren wird hierbei zu weiteren Fortschritten führen.

Konfokale Mikroskope erlauben fluoreszenzmikroskopische Beobachtungen im Auflichtverfahren. Das Scannen mit einem Laser verursacht allerdings eine hohe Präparatebelastung. Im Gegensatz dazu kann durch die höhere Photonentransfereffektivität des Lichtmikroskops,

verbunden mit dem Einsatz hochempfindlicher CCD-Detektorsysteme mit hoher Quantenausbeute, die Intensität des Fluoreszenz-Anregungslichtes bei DOM-Systemen stark reduziert werden. Dadurch wird das Ausbleichen der Fluoreszenzfarbstoffe drastisch verringert. Das DOM ist ein vergleichsweise kostengünstiges Gerätesystem mit neuen Möglichkeiten zur räumlichen Strukturanalyse. Es markiert somit einen weiteren Meilenstein im Bereich der sich in den vergangenen Jahren rasant entwickelnden elektronischen Lichtmikroskopie.

Literaturhinweise

- Schubert, V., Schwertner, M., Schwertner, D.: Das Digitaloptische Mikroskop – Ein neues System zur Erzeugung räumlicher Abbildungen in der Lichtmikroskopie. *Naturw. Rdsch.* 54, 637–642 (2001).
- Schwertner, M., Schwertner, D., Schubert, V.: Digitaloptische Mikroskopie – Eine neue Entwicklung im Vergleich. *Transcript Laborwelt Nr. 1*, 15–18 (2002).
- Shotton, D.: The current renaissance in light microscopy. I. Dynamic studies of living cells by video enhanced contrast microscopy. *Proc. Roy. Microsc. Soc.* 22, 37–47 (1987).
- Weiss, D. G., Kuznetsov, S. A., Dörp, E., Menn, I., Krambeer, H., Michel, K., Grümmer, G., Budde, A., Kröger, W.: Analyse der zellulären Dynamik durch digitale Lichtmikroskopie. *Transcript Laborwelt Nr. II*, 6–12 (2001).

Verfasser: Priv.-Doz. Dr. habil. Veit Schubert, BioForschung Dr. Schubert (BFS), August-Bebel-Straße 1, D-06188 Scherz; Michael Schwertner und Dietmar Schwertner, Schwertner GbR, Closewitzer Str. 3, D-07743 Jena. Tel./Fax: 036 41/82 11 67, e-mail: info@digitaloptics.de, Internet: www.digitaloptics.de

Kurze Mitteilungen

Dauerpräparate mit Glyzeringelatine – Eine Variante der Deckglas-Schaumstoff-Methode ohne Eindeckgerät

Werner Jäntsch

In MIKROKOSMOS (Jäntsch, 2001) wurde bereits eine einfache Methode zur Herstellung von Dauerpräparaten mit Glyzeringelatine beschrieben. Es wird hierin die Benutzung eines Eindeckgerätes empfohlen. Wenn man nicht die Möglichkeit hat, zu einem Eindeckgerät zu kommen, kann man auch ohne Verwendung dieses Gerätes mit der Deckglas-Schaumstoff-Methode gute Resultate erzielen.

Die hierfür nötigen Schritte:

1. Auf die Mitte eines Objektträgers werden Deckglassplitter und auf die Enden circa 2 bis 3 mm starke Schaumstoffstücke mit Alteskleber geklebt (Abb 1).
2. Ein rundes Deckglas, 15 mm Ø, wird auf den so vorbereiteten Objektträger gelegt, wobei die Deckglassplitter das Deckglas zentrieren.
3. Bei Zimmertemperatur wird in einem auf das Deckglas übertragenen Tropfen verflüssigter Glyzeringelatine das Präparat ausgerichtet.
4. Der Behelfsobjektträger mit Deckglas und Präparat wird auf einem Kühlschrankakku (Tiefkühlfach) platziert und unter das Stereomikroskop geschoben.
5. Nach dem Erstarren des Tropfens wird auf diesen ein weiterer Tropfen verflüssigter Glyzeringelatine aufgetragen (dieser Passus ist im ersten MIKROKOSMOS-Artikel (Jäntsch, 2001, S. 341) an entsprechender Stelle zu ergänzen).
6. Ein Objektträger wird auf die Schaumstoffstücke des Behelfsobjektträgers aufgelegt. Bei geringer Schaumstoffdicke oder sehr hohem Tropfen bekommt dieser gleich Kontakt mit dem aufgelegten Objektträger, sonst schwebt er, gehalten durch die Schaumstoffstücke, über dem Tropfen.
7. Durch Druck auf den Objektträger berührt dieser den flüssigen Tropfen. Unter dauernder Mikroskopkontrolle wird der Druck manuell so gesteuert, dass sich der Tropfen gleichmäßig ausbreitet. Zwischen Deckglasrand und Tropfen mit Präparat bleibt ein Luftring erhalten. Nach etwa ein bis zwei Minuten ist der flüssige Tropfen so weit erstarrt, dass man den manuellen Druck erniedrigen kann. Wenn sich hierbei das Deckglas vom Behelfsobjektträger löst, kann der Objektträger mit dem Präparat umgedreht werden. Das Präparat selbst liegt so immer dem Deckglas an.
8. Der Luftring wird durch Caedax oder Ähnliches vollständig ausgefüllt.

Auch bei Anwendung dieser manuellen Methode ohne Verwendung des Eindeckgerätes kommt man zu einwandfreien Präparaten. Natürlich lässt sich die Ausbreitungsform des verflüssigten Tropfens durch Verwendung des Eindeckgerätes genauer beeinflussen. Auch entfällt hierbei die persönliche Wartezeit. Man kann sich die Arbeit erleichtern durch Verwendung einer mit zwei Bohrungen für die Tischklemmen des Stereomikroskopes versehenen Grundplatte aus Plexiglas (2 bis 4 mm). Auf diese werden zwecks Zentrierung des Behelfsobjektträgers kurze 4 mm, oder bei dicken Schaumstoffstücken $2 \times 4 = 8$ mm, starke Plexiglasstücke geklebt (Abb. 2). Die Tischklemmen werden bei Benutzung des Kühlschrankakkus durch mindestens 5 cm lange Kopfgewindeschrauben mit passendem Durchmesser ersetzt.

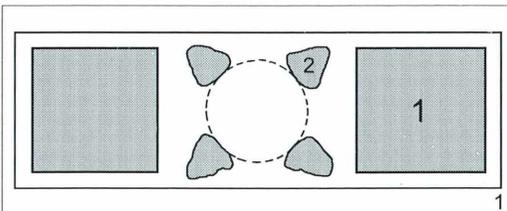


Abb. 1: Behelfsobjektträger. 1 aufgeklebte Schaumstoffstücke, 2 aufgeklebte Deckglassplitter.

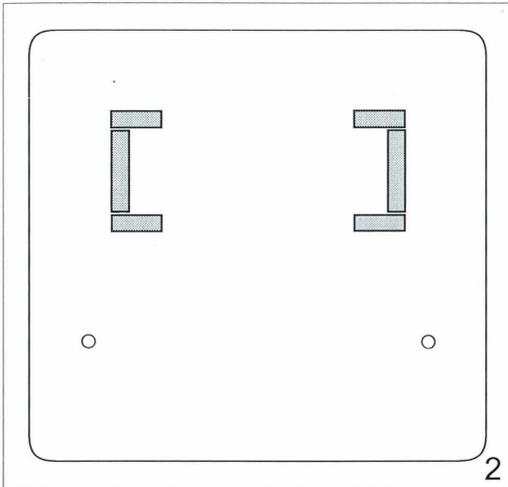


Abb. 2: Plexiglasgrundplatte mit aufgeklebten Plexiglasstücken für die Zentrierung der Objektträger und Löchern für die Kopfwindeschrauben.

Bei obigen Manipulationen ist die Verwendung von Kühlschranks aus dem Tiefkühlfach obligatorisch und verkürzt erheblich die einzelnen Schritte des Eindeckvorganges. Abbildung 3 zeigt den Behelfsobjektträger mit Grundplatte auf einem Kühlschranks.

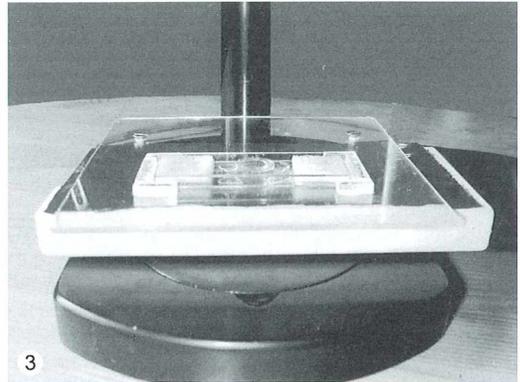


Abb. 3: Behelfsobjektträger und Objektträger mit Deckglas und erstarrtem Glyzeringelatinetropfen auf Grundplatte und Kühlschranks.

Literaturhinweis

Jäntsches, W.: Dauerpräparate mit Glyzeringelatine. *Mikrokosmos* 90, 341–343.

Verfasser: Werner Jäntsches, Vielauer Straße 2, 08112 Wilkau-Haßlau, Tel.: 03 75/6 06 75 66

Schutz vor Gefressenwerden oder induzierte Verteidigung

Wasserorganismen haben im Überlebenskampf Mechanismen entwickelt, die durch Infochemikalien wirken. Durch solche Stoffe werden Veränderungen hervorgerufen, die besser vor dem Gefressenwerden schützen; sie verändern Größe und Gestalt der bedrohten Wasserorganismen, so dass sie weniger geeignet sind als Futter für die Räuber. Ein solches Beispiel phänotypischer Plastizität wurde bereits bei den Wasserflöhen beschrieben (Linskens, 2000).

Ein weiteres Beispiel liefert eine Grünalge (*Scenedesmus subspicatus*), die sich durch Koloniebildung gegen Prädatoren verteidigt. Diese Grünalge ist im Allgemeinen einzellig. Sie kann aber auch größere Kolonien bilden, sobald sie in Wasser gelangt, in welchem in größerer Anzahl Wasserflöhe vorkommen, zu deren Nahrungsspektrum die Grünalge gehört. Die Kolonien werden dann so groß, dass diese für kleine Zooplanktonorganismen wie Wasserflöhe

nicht mehr aufnehmbar sind. Es handelt sich also um einen sehr effizienten Verteidigungsmechanismus. Über den Induktionsvorgang ist noch wenig bekannt. Man hat vermutet, dass ein erhöhter Gehalt an Harnstoff im Wasser die Koloniebildung induziert. Harnstoff wird unter anderem auch durch Zooplanktonorganismen ausgeschieden. Die chemische Natur der/des Stoffe(s) ist noch nicht sicher bekannt. Wohl aber ist bekannt, dass Phytoplanktonorganismen sich so massenhaft vermehren können, dass sie toxische Stoffe ausscheiden, die für Fische und Menschen giftig sind.

Literaturhinweise

van Donk, E.: *Netwerken in het water*. Nijmegen 2002

Linskens, H. F.: Abwehrbereite Wasserflöhe. *Mikrokosmos* 89, 371–372 (2000).

H. F. Linskens, Nijmegen

Neue Medien

Realität oder Illusion?

Wohl bekannt sind die Bilder mit optischen Täuschungen, beispielsweise die Werke von M. C. Escher oder Salvador Dalí oder die junge/alte Frau (Abb. 1). Bilder, die verschiedene Interpretationen zulassen, bringen unser Sehsystem in Schwierigkeiten. Das Gehirn filtert sozusagen die Information, die das Auge anliert und stellt eine Interpretation zur Verfügung. Dabei können Widersprüche auftreten und optische Täuschungen entstehen. Im Internet gibt es Entsprechendes sogar mit bewegten Bildern. In der Juli Ausgabe 2002 der Fachzeitschrift *Spektrum der Wissenschaft* stellt Christoph Pöppe einige Internetseiten mit solchen Wahrnehmungsverwirrspielchen vor: www.zauberbuch.de/trick6.htm (Abb. 2), <http://scherzbolt.no-ip.org/scherzbolt/illusion1.htm>, <http://home.arcor.de/stealb/witzig/optische/optische.htm#mandog> (Abb. 3), <http://deecce.onlinehome.de/Trick.html>. Auch auf der Seite www.kelsen.de/jovalli/jll.html kann man sich bis auf eine Seite mit optischen Täuschungen durchklicken.

Bewegte Trickbilder können beispielsweise heruntergeladen werden aus www.panoptikum.net/optische-taeuschungen/index.html, www.dogfeathers.com/java/ (z.B. Pulfrich-Täuschung, Necker-Würfel), www.kyb.tuebingen.mpg.de/bu/demo/index.html (rotierende Gesichtsmaske), www.cs.berkeley.edu/



Abb. 1: Was sehen Sie zuerst? Das Gesicht der jungen oder alten Frau?

[~yweiss/ellipse.html](#) (wackelnde und schwabbelnde Ellipsen). Ein Artikel zum Thema Wahrnehmungsillusion aus *Geo-Wissen* vom März 2002 mitsamt ergänzenden Hinweisen im Netz (www.geo.de/themen/medizin_psychologie/wahrnehmung/index.html?SDSID=2018020000-0011021285598) stellt weitere Phänomene dar. Eine der schönsten Illusionsseiten ist zweifelsohne www.sandlotscience.com von einer Firma für Illusionsspielzeuge.

Was lernen wir daraus? – Traue deinen Augen nicht!

Redaktion MIKROKOSMOS

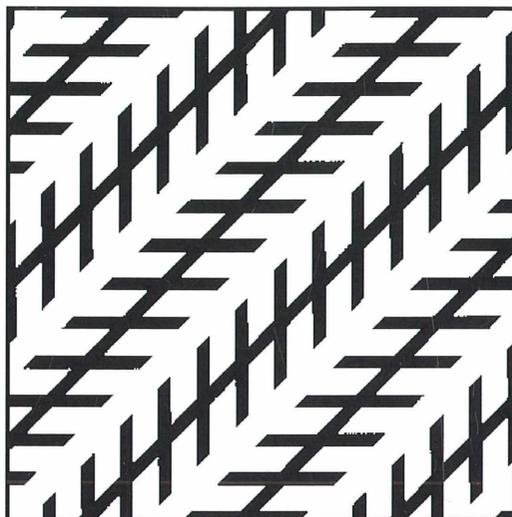


Abb. 2: Die Diagonalen sind wirklich exakt parallel und nicht schräg angeordnet.

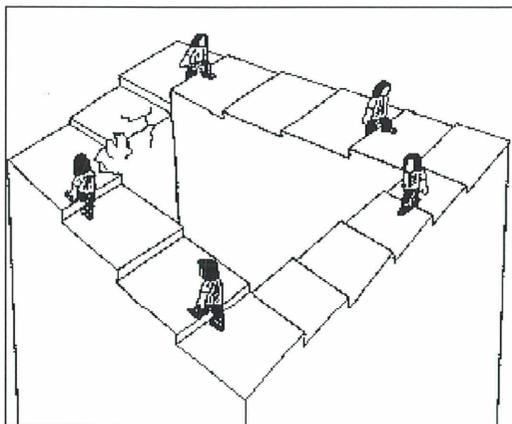


Abb. 3: Alle gehen aufwärts, doch niemand kommt höher.

Das Auge als letztes Glied der mikroskopischen Abbildungskette

Gerhard Göke

Der fotografische Film, der CCD-Chip einer Video- oder Digitalkamera, der Monitor und ganz zum Schluss das menschliche Auge sind die letzten Glieder einer Abbildungskette, von denen die Qualität des mikroskopischen Bildes in hohem Maße abhängig ist. Während ein Mikroskopiker die technischen Daten von Film, Kamera und Monitor sehr genau kennt, trifft das auf sein Auge meistens nicht zu. In diesem Beitrag betrachten wir das Auge als wesentlichen Teil des abbildenden Systems bei der mikroskopischen Wahrnehmung.

Aus optischer Sicht ist das Auge ein zusammengesetztes System, das oft mit einem Vario-Fotoobjektiv, also einem Objektiv mit variabler Brennweite an einer Kamera verglichen wird. Richtiger wäre es jedoch, das Auge mit einer Videokamera mit automatischer Nachführung zu vergleichen, also mit einem technischen Gerät, das sich von selbst scharf stellt und automatisch an die Lichtstärke anpasst, ein selbstreinigendes Objektiv besitzt und einen Computer speist (unser Gehirn), der so hoch entwickelte Parallelverarbeitungsmöglichkeiten aufweist, dass die Elektroniker damit begonnen haben, ähnliche Strategien zu entwickeln. Keine menschliche Erfindung, einschließlich computergestützter Kameras, kommt dem Auge auch nur annähernd gleich.

Die Optik des Auges und ihre Leistung

Damit ein Punkt im Unendlichen scharf auf der lichtempfindlichen Netzhaut des Auges abgebildet wird, ist eine Brechkraft (B) dieses optischen Systems erforderlich. Sie ist umgekehrt proportional der Brennweite (f) und wird in Dioptrien (dpt) ausgedrückt:

$$B = \frac{1}{f}; \text{ dpt} = \frac{1}{\text{m}}$$

Die Gesamtbrechkraft des Auges beträgt etwa 58 Dioptrien (dpt).

Der Augendurchmesser misst bei Normalsichtigen etwa 23,5 mm in vertikaler Richtung; nach hinten und im Querschnitt etwa 24 mm. Bei Weitsichtigen ist die Länge der Augennachse kür-

zer (bis 20 mm) und bei Kurzsichtigen länger (bis 29 mm). Die mittlere Brennweite des Auges kann mit 17 mm angenommen werden. Wenn man eine optimale Pupillengröße von 3 mm zugrunde legt, ergibt sich daraus eine numerische Apertur von 0,9 oder, auf ein Kameraobjektiv bezogen, eine relative Blendenzahl von 5,6. Eine Austrittspupille von 4 mm ergibt eine numerische Apertur von 0,12 und bei 8 mm sogar von 0,23. Wenn das Auge ein fehlerfreies optisches System sein würde, könnte man bei der konventionellen Sehweite von 250 mm Gitterauflösungen von 50, 35 und 18 mm erreichen. Tatsächlich ist das aber nicht der Fall, denn die numerische Apertur des Auges ist nicht der beschränkende Faktor für das Auflösungsvermögen. Sowohl unter als auch über dem kleinen optimalen Bereich von 3 bis 4 mm nimmt das Auflösungsvermögen schnell ab, was auf Abbildungsfehler und die Beugung am Pupillenrand zurückzuführen ist.

Akkommodation des Auges am Mikroskop

Es gibt zwei verschiedene Hypothesen über das Sehen durch das Mikroskop. Bei der einen ist das Auge auf Unendlich fokussiert und ganz entspannt. Zwischen Augenlinse des Okulars und Hornhaut laufen die Lichtstrahlen parallel. Das entspannte Auge ist aber nie auf Unendlich eingestellt, sondern sozusagen auf Naheinstellung auf Unendlich (Abb. 1). Es ist auf eine Hyperfokaldistanz akkommodiert. Wenn ein normales Auge ohne Akkommodation auf unendlich scharf sehen muss, benötigt es eine Vor-

Aufbau des Auges

Die Abbildungen 2 und 3 zeigen im schematischen Längsschnitt die wichtigsten Bestandteile des menschlichen Auges. Abbildung 4 demonstriert einen Schnitt durch die vordere Augenkammer eines Hundes.

Die Hornhaut (Cornea) des Auges ist eine sehr dünne konvex-konkave asphärische Linse mit einer Dicke von nur 0,5 bis 0,6 mm in der Mitte und etwa 1,2 mm am Rande. Ihr Beitrag zur gesamten Lichtbrechung des Auges beträgt etwa 12%. Die optische Hornhautzone hat nur einen Durchmesser von etwa 4 mm, weil die äußeren durchgelassenen Lichtstrahlen von der Iris abgeblendet werden.

Zirkulär angeordnete Fasern verengen die Iris (Pupille) bei grellem Licht und auch beim Nahsehen. Bei Dämmerung und beim Weitsehen erweitern die radiär angeordneten Fasern die Pupille, damit mehr Lichtstrahlen einfallen können. Auf die Mikroskopie bezogen bedeutet dieser Mechanismus, dass bei Durchlicht-Hellfeld die Pupille eng (oft enger als gut ist), bei Dunkelfeld, Polarisation und Fluoreszenz jedoch weit geöffnet ist. Die Lage der Pupille ist nicht exakt zentrisch, sondern ein wenig nach unten verschoben. Die Krümmungen sind in der horizontalen Richtung etwas weniger stark als in der vertikalen. Dieser Unterschied bewirkt Astigmatismus, der normalerweise von einem entgegengesetzten Astigmatismus der Augenlinse verringert wird. Es bleibt jedoch ein Restastigmatismus. Man kann diesen feststellen, wenn man im Dunkeln auf eine weit entfernte punktförmige Lichtquelle blickt, um die herum dann feine Strahlen zu sehen sind. Diese Artefakte können auch an leuchtenden Teilchen im Dunkelfeld- oder Fluoreszenzbild beobachtet werden (van Duijn, 1992). Wenn der Astigmatismus den physiologischen Normalwert überschreitet, benötigt man zylindrische Brillengläser zu seiner Kompensation. Diese Brillen müssen auch beim Mikroskopieren getragen werden und zwar mit Brillenträgerokularen, sonst wird das Bildfeld stark eingeschränkt.

Vordere Augenkammer und Augenlinse

Zwischen der Hornhaut und der Augenlinse befindet sich die mit Kammerwasser ($n_D = 1,336$) gefüllte vordere Augenkammer (Abb. 3

und 4). Die eigentliche Augenlinse (Lens crystallina) ist bikonvex. Sie besteht aus mehreren Schichten mit unterschiedlichen Brechzahlen, für die bei den meisten Berechnungen $n_D = 1,41$ als mittlere Brechzahl eingesetzt werden kann. Die hintere Fläche ist stärker gekrümmt, etwa wie die untere Linse eines Abbe-Kondensors. Wie dort verringert diese Form die sphärische Aberration im Vergleich zu einer Linse, bei der beide Krümmungen gleich sind. Bei jungen Menschen liefert die Augenlinse etwa 26% des Gesamtbrechungsvermögens des Auges. Bei älteren Menschen nur etwa 23%.

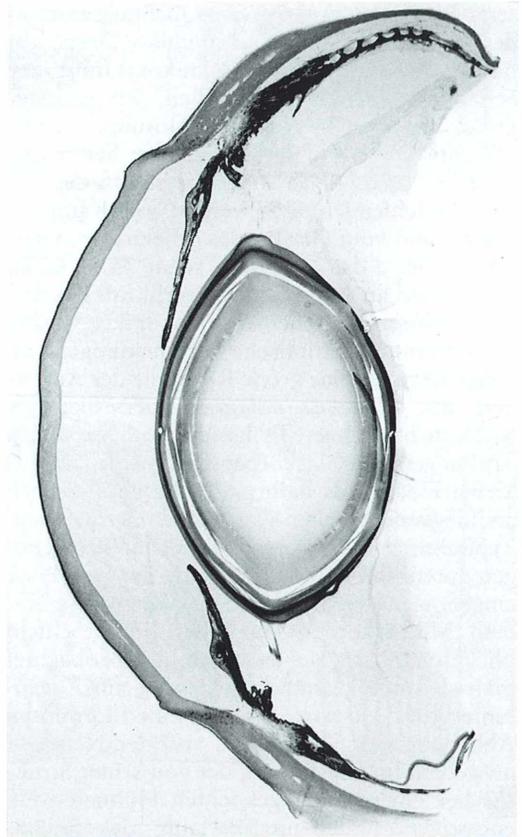


Abb. 4: Schnitt durch die vordere Augenkammer des Hundes, die prinzipiell der des Menschen gleicht. Färbung Hämatoxylin-Eosin. Die Aufnahme erfolgte mit dem Makroskop (siehe hierzu: Göke, G. (1997) Selbstbau eines Makroskops. *Mikroskosmos* 86, 365–369).

Der Glaskörper

Der Raum zwischen der Augenlinse und der Netzhaut wird vom Glaskörper (Corpus vitreum) mit der Brechzahl $n_D = 1,336$ gefüllt. Er hat eine gallertige Konsistenz und besteht zu 98 bis 99% aus Wasser, das in den Maschen eines feinen Gerüstwerkes von durchsichtigen Fäserchen liegt. Dieses Fasergerüst besteht nach Olson (1965) aus nur 10 bis 15 nm dicken Proteinfäden (Vitrosin), deren chemischer Aufbau dem des Tropokollagens ähnelt. Die flüssige Komponente des Glaskörpers, der Humor vitreus, enthält neben wenig Eiweiß Mukopolysaccharide, hauptsächlich in Form der Hyaluronsäure. Diese hochviskose Substanz ist für die Durchsichtigkeit des Glaskörpers von wesentlicher Bedeutung. Vom Quellungsgrad des Glaskörpers ist der intraokuläre Druck abhängig. Druckerhöhung (Glaukom) führt zur Schädigung der Netzhautzellen. Zu geringer Druck bewirkt eine Netzhautablösung.

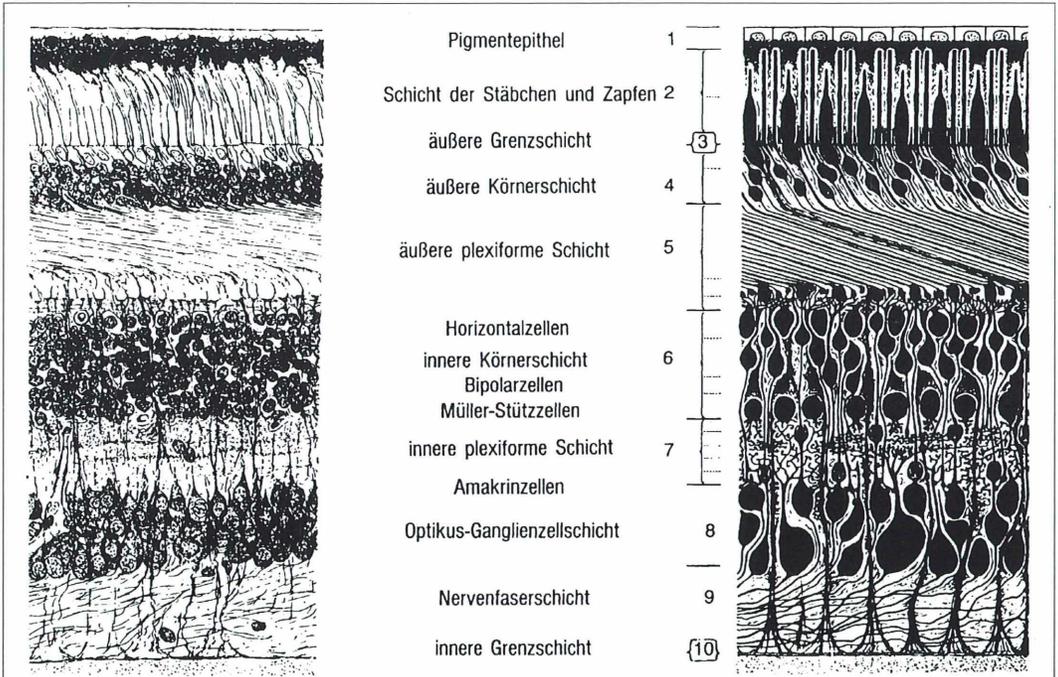
Die Hornhaut und die Augenlinse liefern bei jungen Leuten nur 38% der Brechkraft des Auges. Die fehlenden 62% werden vom Kammerwasser und vom Glaskörper geliefert. Im Greisenalter wird das Verhältnis sogar 35 zu 65%. Dabei wird auch die Gesamtbrechkraft des Auges verringert. Für den Mikroskopiker spielen so genannte entoptische Erscheinungen im Glaskörper oft eine große Rolle, die der Augenarzt als *Mouches volantes* oder fliegende Mücken bezeichnet. Es handelt sich dabei um Trübungen im Glaskörper des Auges, die als kleine Flocke, als halbrunder Kreis oder eben als fliegende Mücken wahrgenommen werden. Typisch ist, dass diese schwimmende Bewegungen durchführen und gleichzeitig mit dem Blick eingefangen werden können. Wenn man mit dem Mikroskop in ein helles leeres Sehfeld blickt, wandern sie darin umher. Beobachtet man sie ohne krankhaften Befund am Augenhintergrund, so darf man von einer harmlosen Abhebung des Glaskörpers von der Netzhaut ausgehen. Im Glaskörper, der von seiner Struktur her einem nicht gekochten Hühnereiweiß entspricht, finden im Verlaufe des Lebens Schrumpfungsvorgänge statt. Es kommt dann irgendwann, meist erst nach dem 50. Lebensjahr, zu einer hinteren Abhebung des Glaskörpers von der Netzhaut. Dieser Vorgang ist recht häufig zu beobachten. Man geht heute davon aus, dass etwa 80% der 80jährigen eine hintere Glaskörperabhebung haben, so dass man die-

sen Vorgang fast schon als Normalfall bezeichnen kann.

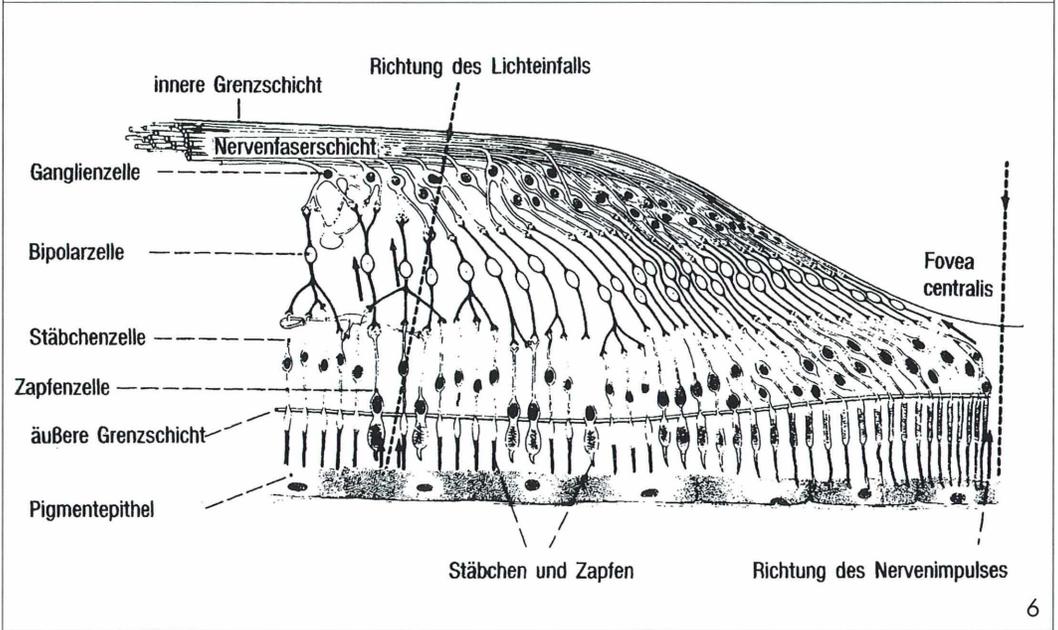
Die Netzhaut

Die menschliche Netzhaut (Retina) besteht aus acht Schichten verschiedener Struktur und Funktion (Abb. 5 und 6). Sie wandelt Licht in Nervensignale um, erlaubt uns bei Sonnenschein und Sternenlicht zu sehen, unterscheidet verschiedene Wellenlängen des Lichtes und arbeitet mit höchster Präzision. Die Netzhaut ist ein Teil des Gehirns. Sie hat sich zwar schon sehr früh in der Ontogenese von ihm abgesondert, bleibt jedoch durch ein Faserbündel, den Sehnerv (Nervus opticus) mit ihm verbunden. Wie viele andere Strukturen im Zentralnervensystem hat sie die Struktur einer geschichteten Platte, deren Dicke etwa 0,25 mm beträgt. Die äußerste Schicht der Netzhaut besitzt vier bis sechs Millionen eckiger Pigmentzellen. Diese absorbieren überflüssiges Licht, wodurch auch störende Reflexe unterdrückt werden. Darunter befindet sich die lichtempfindliche Rezeptorschicht mit den bekannten Stäbchen und Zapfen (Abb. 7), die mit zweipoligen Nervenschaltzellen in tieferer Ebene verbunden sind. Diese Schaltzellen sind nach innen hin wieder mit vierpoligen Ganglienzellen verknüpft, die mit den Nervenfasern gekoppelt sind und zum Sehnerv gebündelt werden. Der Sehnerv, ein beliebtes Mikropräparat, enthält etwa eine Million Nervenfasern, das sind etwa 40% von allen mit dem Gehirn verbundenen Nervenfasern des menschlichen Körpers.

Etwa in der Mitte der Retina, an der optischen Augennachse, befindet sich der Anfang des Sehnervs (Abb. 2). Hier gibt es keine lichtempfindlichen Zellen, weshalb man vom so genannten blinden Fleck (Punctum coecum) spricht. Daneben liegt der gelbe Fleck (Macula lutea). Mit einem Durchmesser von 1,5 bis 2 mm ist er der empfindlichste Teil der Retina. In der Mitte davon gibt es beim Menschen die Sehgrube (Fovea centralis) mit einem elliptischen Durchmesser von $0,2 \times 0,3$ mm. Nur hier bekommt man ein scharfes Bild der Umwelt. Das Bild wird von der Augenlinse direkt auf die Fovea fokussiert. Ihr empfindlichstes Zentrum (Foveola) kann man vielleicht als Einstellhilfe bezeichnen. Insgesamt enthält eine normale Retina etwa 125 Millionen Sinneszellen. Von ihrer Dichte hängt die Sehschärfe ab.



5



6

Abb. 5: Schichten der Netzhaut. Linke Zeichnung nach Routinepräparaten (z. B. mit Hämatoxylin/ Eosin gefärbt); rechte Zeichnung nach Golgi-Material (aus Geneser, 1990). –
 Abb. 6: Grundlegende Zusammenhänge zwischen den neuronalen Elementen der Retina (aus Geneser, 1990).

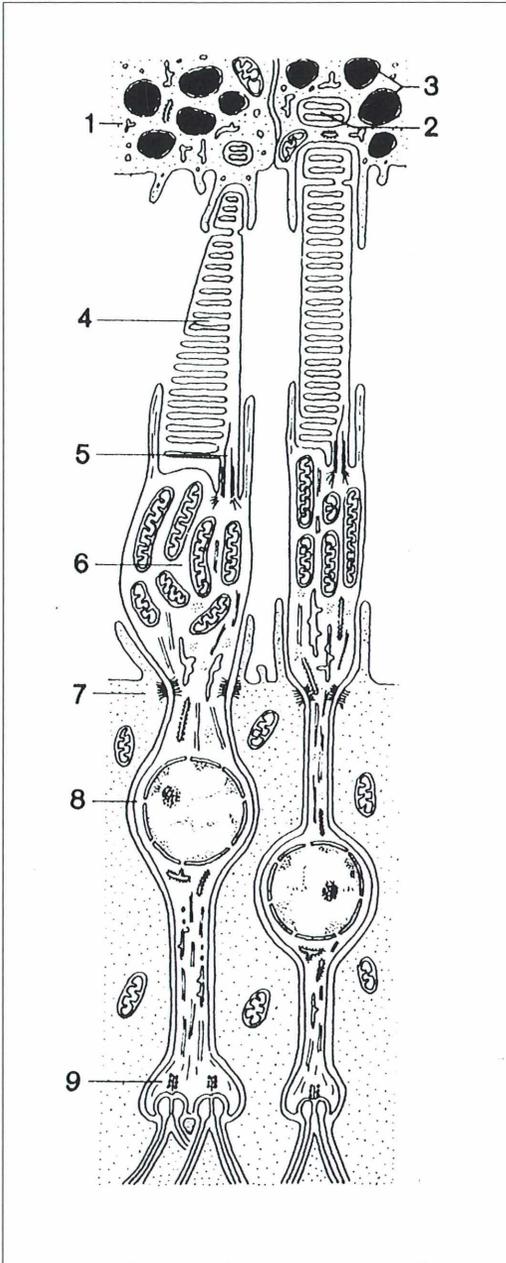


Abb. 7: Sinneszellen der Retina. Zapfen (links), Stäbchen (rechts). 1 Pigmentepithel, 2 phagocytisiertes Außengliedfragment, 3 Pigment, 4 Außenglied, 5 Cilie, 6 Innenglied, 7 Müller'sche Stützzellen (Glia), 8 Perikaryon (kernhaltiger Zellteil), Endkolben (Synapsen mit Neuron) (aus Geneser, 1990).

In der Fovea centralis gibt es nur Zapfen in der Dichte von etwa 166.000 pro mm. Sie sind hier etwa 85 μm lang und haben einen Durchmesser von etwa 2,0–2,5 μm . Außerhalb der Fovea ist jeder Zapfen von einem ganzen Kreis von Stäbchen umgeben. Die Gesamtzahl der Stäbchen in der Netzhaut beträgt etwa 125 bis 130 Millionen. Sie sind allgemein lichtempfindlich, mit Ausnahme von spektralem Orange und Rot. Es gibt drei Arten von Zapfen, die sich in ihrer Lichtempfindlichkeit für verschiedene Spektralbereiche unterscheiden.

Farbensehen

Diese drei Zapfentypen bilden die Grundlage des für das Farbensehen nach der Dreifarben-theorie, der Theorie des trichromatischen Farbensehens. Auf einen für blaues Licht empfindlichen Zapfen kommen neun grünempfindliche und neun rotempfindliche Zapfen. Die von den einzelnen Zapfen durchgegebenen Signale addieren sich mit den Signalen der Stäbchen zu einem integrierten Helligkeitseindruck. Rot- und Grünausgänge sind zweifach verknüpft, wobei sie sich das eine Mal zum Seheindruck Gelb addieren. Der *Output* der blauempfindlichen Zapfen wird in einer Zwischenstufe etwa 10fach verstärkt und dann zusammen mit dem Gelbsignal in ein höheres Zentrum weitergeleitet.

Die spektralen Empfindlichkeiten der drei Zapfenarten überschneiden sich sehr wesentlich. Dabei sind ihre absoluten Empfindlichkeiten verschieden. Aus dieser Eigenschaft erklären sich die falschen Farbeindrücke, die man von sehr kleinen Einzelheiten im mikroskopischen Bild bekommt.

Für einen richtigen Farbeindruck von Mischfarben muss eine ausreichende Anzahl der Zapfen zusammenarbeiten, sonst ist der Gesamteindruck statistisch zufallsabhängig. Es gibt einen Schwellenwert für die Netzhautoberfläche, die von einem Detailbild ausgefüllt werden muss. Dieser Schwellenwert wurde von Hartridge 1950 als ein Bildwinkel von zwei Bogenminuten ermittelt. Dieser Winkel entspricht bei der konventionellen Sehweite von 250 mm einem Kreis von 8,7 mm = 8700 μm . Auf der Netzhaut entspricht das einem Kreis von etwa 500 μm , der die ganze Fovea und einen Teil der Macula abdeckt. Daraus kann man die förderliche Vergrößerung (μF) für die richtige

Farbwahrnehmung eines Objekts mit dem Durchmesser D errechnen:

$$MF = \frac{8700}{D}$$

Bei einer Vergrößerung von 1500–1600 \times kann man Teilchen mit einem Durchmesser von weniger als 6 μm nicht mehr farblich erkennen. Bei einer 500fachen Vergrößerung übersteigt das schon 17 μm . Mit dem Auflösungsvermögen hat das nichts zu tun. Es ist einfach nur so, dass es für die richtige Farberkennung mikroskopischer Objekte überhaupt keine leere Vergrößerung gibt.

Betrachten wir diese für den Mikroskopiker wichtige Tatsache etwas genauer: Bei zu geringer Vergrößerung können die Farben im blauen Spektralgebiet falsch beurteilt werden. Der Grund ist, dass von 19 Zapfen nur einer blauempfindlich ist. Es folgen die Farben im gelben Bereich, denn für den Eindruck Gelb müssen rot- und grünempfindliche Zapfen zusammenarbeiten. Dafür ist mindestens die doppelte Fläche erforderlich, als wenn es sich nur um reines Rot beziehungsweise Grün handeln würde.

Die natürlichen Farben sehr kleiner Objekte können nicht richtig beurteilt werden, wenn sie nicht blaugrün oder rot sind. Bei diesen Farben ist die Überlappung der spektralen Empfindlichkeiten am größten. Wenn sie orange, gelb, gelbgrün oder violett sind, werden sie entweder rot, blaugrün oder ganz farblos erscheinen.

Sehr kleine farblose Einzelheiten werden im mikroskopischen Bild oft farbig gesehen, meistens karmesin oder blaugrün. Das muss nicht von chromatischen Fehlern der Mikroskopoptik verursacht werden. Für die Prüfung der Optik auf Farbfehler soll man nicht die kleinen Perlen in Diatomeenschalen benutzen, sondern deren Randpartien oder die größeren Objekte.

Die beschriebenen Fehler werden größer, wenn die Gesamthelligkeit des Bildes von dem Optimalwert von 100 Lux wesentlich abweicht.

Zu große Helligkeit im Sehfeld beeinträchtigt die richtige Beurteilung von roten und grünen Farben. Auch damit verbundene Blendungsercheinungen schaden den Ergebnissen. Bei zu niedriger Beleuchtungsstärke werden gelbe und grüne Farben falsch gesehen. Alle Farbeindrücke hängen auch von der spektralen Zusammensetzung des Lichtes ab.

Das menschliche Auge ist auch mit Farbfehlern behaftet. Es zeigt eine chromatische Aberration

der ersten Ordnung. Die Brennebene für Violett ist der Linse 0,6 mm näher als für Rot. Das verursacht aber keine Störungen, denn das Auge besitzt eine physiologische Einrichtung, die solche Fehler weitgehend kompensiert.

Hartridge hat sie farbeneliminierender Mechanismus des Auges genannt. Wäre das nicht der Fall, so würden wir an den Rändern aller Objekte Farbsäume sehen. Interessant ist dabei, dass diese automatische Einrichtung zur Farbenkorrektur nicht nur die Augenfehler beseitigen kann, sondern auch die von hinzugefügten unkorrigierten Linsen. Das Auge kann beispielsweise die chromatische Aberration einer Kronglaslinse bis zu einer Stärke von 12 Dioptrien noch ganz beseitigen. Dadurch benötigt man bis zu dieser Stärke keine achromatischen Brillengläser. Es ist leicht einzusehen, dass der farbeneliminierende Mechanismus des Auges auch für die Mikroskopie große Bedeutung hat.

Die Augenempfindlichkeit für kleine Wellenlängenunterschiede

Für die Unterscheidung kleiner Wellenlängendifferenzen gibt es einen Schwellenwert des Auges, den man als Inkrement ($\Delta\lambda$) bezeichnet. Man muss ihn einer Wellenlänge (λ) zufügen, wobei die neue Wellenlänge $\lambda + \Delta\lambda$ deutlich von λ unterschieden werden kann. Somit ist die Farbkontrastempfindlichkeit gleich $\lambda + \Delta\lambda/\lambda$. Diese Eigenschaft des Auges kann bei der Fluoreszenzmikroskopie von Bedeutung sein. Die größte Empfindlichkeit für kleine Farbuunterschiede zeigt das Auge im blauen Bereich bei etwa 480 bis 490 nm und im gelben Bereich bei etwa 580 nm. Genau bei 527 nm ist die Empfindlichkeit geringer als im blauen und gelben Bereich. Hier schneiden sich die Empfindlichkeitskurven der Zapfen und Stäbchen. Deshalb ist 527 nm die geeignete Wellenlänge für die sphärische Korrektur von achromatischer Mikroskopoptik. Früher war das die Wellenlänge der grünen Quecksilberlinie von 546 nm.

Die Farbenempfindlichkeit des Auges wird nicht nur von der förderlichen Beleuchtung bestimmt, sondern auch von der im Sehfeld vorherrschenden Farbe. Diese Besonderheit ist zum Beispiel wichtig bei der Rheinbergbeleuchtung, die oft als Spielerei abgetan wird.

Der Grund dafür ist die Tatsache, dass die lichtempfindlichen Substanzen in den Zapfen unter Lichteinfluss verbraucht werden und es

wesentliche Zeit kostet, sie wieder zu regenerieren. Wenn also im Sehfeld eine Farbe vorherrscht, wird sich das Gleichgewicht zwischen Verbrauch und Neubildung auf ein niedriges Niveau einstellen. Dieser Effekt ist besonders stark, wenn die Objekte – wie bei der Rheinbergbeleuchtung üblich – weniger gesättigte Farben haben und die Hintergrundfarbe satter ist.

Die Lichtempfindlichkeit der Zapfen in der Fovea wächst bei Dunkeladaptation des Auges bis auf das 50fache der Empfindlichkeit bei mittlerem Tageslicht. Die Empfindlichkeit der Stäbchen beträgt in der Dämmerung etwa das Tausendfache der Zapfempfindlichkeit. Sie kann sich bei Dunkeladaptation auf das 270.000fache oder mehr erhöhen. Dabei ändert sich natürlich auch das Farbsehen. Beim reinen Stäbchensehen ist es ganz verschwunden (Purkinje-Effekt). Bei völliger Dunkeladaptation braucht das Auge zur Durchgabe eines Lichtreizes nur zwei Photonen innerhalb einer Einfallswinkeldifferenz von 10 Bogenminuten in 0 bis 20 Millisekunden.

Das spielt eine große Rolle bei der Dunkelfeldmikroskopie. Weil es in der Fovea keine Stäbchen gibt, muss man den Blick nicht genau auf den leuchtenden Punkt, sondern etwas daneben richten, damit das Bild außerhalb der Fovea im Gebiet der höchsten Stäbchendichte fixiert wird.

Bei der Fluoreszenzmikroskopie sind die Verhältnisse ähnlich.

Die Pupillengröße des Auges und die Austrittspupille des Mikroskops

Die Pupillengröße des Auges ist abhängig vom Lebensalter, von der Beleuchtungsstärke und von einigen anderen wie emotionalen Faktoren. Jedenfalls beeinflusst sie das Auflösungsvermögen des Auges und ist deshalb auch in der Mikroskopie ein wichtiger Faktor. Den Durchmesser der Austrittspupille des Okulars, der auch der Durchmesser der Austrittspupille des ganzen Mikroskops ist, kann man leicht feststellen, wenn man dem Okular bei voller Mikroskopbeleuchtung eine Mattscheibe mit der matten Seite nach vorn oder ein Stück Transparentpapier so weit nähert, bis ein scharfer runder Kreis projiziert wird. Dieser so genannte Ramsden'sche Kreis ist mit der Schieblehre messbar. Hartridge hat schon 1954

darauf hingewiesen, dass für eine gute Wahrnehmung der Durchmesser des Ramsden'schen Kreises kleiner sein soll, als die Eintrittspupille des Auges, weil sonst die Augenbewegungen gestört und das Blickfeld vignettiert wird. Die Eintrittspupille des Auges liegt hinter der Pupillenöffnung im inneren Auge.

Der Durchmesser des Ramsden'schen Kreises ($\emptyset R$) lässt sich auch errechnen nach $\emptyset R = 500 A / \text{Mob} \cdot \text{Mok}$. Darin ist A die numerische Apertur des Objektivs, Mob dessen Maßstabszahl und Mok die Okularvergrößerung. Nach Hartridge (1954) kann man in der normalen Mikroskopie für die Augenpupille den optimalen Durchmesser von 3 mm annehmen. Im Gegensatz hierzu hat Michel (1964) einen Durchmesser von 2 mm vorausgesetzt.

Aus der obigen Formel geht hervor, dass unser Auge am Mikroskop am besten funktioniert, wenn die Gesamtvergrößerung im Verhältnis zur numerischen Apertur (n. A.) des Objektivs größer ist. Das bedeutet in der Praxis, dass bei schwachen Übersichtsobjektiven mit relativ hoher Apertur die dabei bevorzugten schwachen Okulare schlecht verwendbar sind. Nach der klassischen Regel sollte die förderliche Vergrößerung das 500- bis 1000fache der numerischen Apertur sein. Verwenden wir ein Objektiv $2,5\times$ mit der n. A. 0,08, dann ist die förderliche Vergrößerung $500 \times 0,08 = 40$ beziehungsweise $1000 \times 0,08 = 80$. Man müsste also Okulare mit einer 16- oder sogar 32fachen Eigenvergrößerung verwenden, wollte man die förderliche Vergrößerung ausnutzen. Deshalb sollte man solche Objektive mit einer Irisblende ausrüsten.

Nach Baker (1966) wird ein Teil der numerischen Apertur des Objektivs verschwendet, wenn der Ramsden'sche Kreis wesentlich kleiner ist als der Durchmesser der Eintrittspupille des Auges. Das würde zutreffen, wenn das Auge nur ein optisches System wäre. Es ist aber tatsächlich ein abtastendes (Scanning-) System, das sich sein Bild pixelweise aufbaut. Die Behauptung, das Auge würde sich bei der mikroskopischen Beobachtung in Ruhe befinden, ist falsch. Das Auge steht niemals still, auch nicht bei der mikroskopischen Beobachtung (nicht einmal während des Schlafens). Es konzentriert sich vielmehr auf ein auffallendes Detail und springt von dort aus zick-zackförmig durch das Sehfeld und wieder zurück, damit alle Aufmerksamkeit erregende Teile im Blickfeld die Fovea passieren. Diese Steuerung übernimmt

das Gehirn. Teile des Sehfeldes, in denen es keine interessante Informationen vermutet, werden auch nicht unbedingt scharf beobachtet und ins Gesamtbild integriert. Wegen dieser kontinuierlichen Abtastung des mikroskopischen Sehfeldes ist es notwendig, dass die Austrittspupille des Okulars kleiner ist als die Eintrittspupille des Auges. Sonst würde die Abtastung künstlich eingeschränkt.

Das Auflösungsvermögen des Auges

Auf der Netzhaut entsteht ein umgekehrtes reelles Bild wie in einer Kamera. Diese Information wird im Gehirn wieder umgedreht. Als Auflösungsvermögen des Auges muss man den Bildwinkel bezeichnen, bei dem die kleinste auf der Netzhaut detektierbare Strecke von den Pixeln (Stäbchen und Zapfen) gerade ausgefüllt wird. Für die Auflösung von zwei gleichfarbigen Objektpunkten braucht man drei Pixel, für zwei ungleichfarbige nur zwei.

Das räumliche Sehen (Stereopsis)

Die Netzhaut jedes einzelnen Auges erreicht ein zweidimensionales Bild, aber wir blicken auf eine dreidimensionale Welt. Deshalb ist es für Mensch und Tier wichtig, die Entfernung von Objekten beurteilen zu können. Sonst würde ein einziges Auge genügen. Durch den Augenabstand, der beim Menschen im Mittel 65 mm beträgt, blickt jedes Auge unter einem geringfügig anderen Winkel auf das Objekt. Am Stereomikroskop beträgt dieser Winkel etwa 15 Grad. Dadurch sind die beiden Netzhautbilder nicht identisch. Sie werden erst vom Gehirn zu einem räumlichen Gesamteindruck verarbeitet. Diese geringfügigen Lageveränderungen der beiden Bilder reichen für ihre räumliche Beurteilung vollkommen aus.

Das binokulare Sehen am Mikroskop

Die heutigen binokularen Tuben der normalen Lichtmikroskope liefern im Gegensatz zu früher jedem Auge das gleiche Bild. Erst durch eine Teilung des Strahlenganges oder mit Hilfe von Stereo-Okularvorsätzen ist die Beobachtung des Präparates unter verschiedenen Bildwinkeln möglich. Beim binokularen Sehen wir-

ken beide Augen motorisch und sensorisch zusammen. Sowohl die Pupillengröße als auch die Augenbewegungen sind untereinander gekoppelt. Das Auge entspricht etwa einer Kugel, die sich in einer Höhle frei drehen kann. Wenn das nicht sinnvoll wäre, hätte es sich während der Evolution auch als Kasten entwickeln können. An jedem Auge sitzen sechs äußere Augenmuskeln. Es bewegt sich, wenn diese sich zusammenziehen. Am binokularen Mikroskop bewegen sich die Augen in ihren Höhlen, während der Kopf normalerweise nicht bewegt wird. Erst bei extrem großen Sehfeldern (die Entwicklung geht in diese Richtung) muss auch der Kopf bewegt werden, was sich nachteilig auswirkt und zur raschen Ermüdung führt (Göke, 1997). Auch die Akkommodation der beiden Augen ist identisch. Die beiden Netzhautbilder, die höhen- und seitenverkehrt auf die Netzhaut projiziert und erst vom Gehirn umgekehrt werden, ergänzen sich gegenseitig und kompensieren dabei ihre Fehler.

In einem binokularen Mikroskop sieht man das Bild mit beiden Augen genauso hell wie mit nur einem Auge. Jedes Auge bekommt nur die Hälfte der Leuchtdichte eines monokularen Mikroskops. Das kann bei der Fluoreszenz- und Dunkelfeldmikroskopie wichtig sein. Da das Auge in einem Helligkeitsbereich von 1:250 fast genau dem Weber-Fechner'schen Gesetz folgt und nur linear ansteigende Signale für geometrisch zunehmende Reizenergien abgibt, braucht man für binokulare Mikroskope Lichtquellen von vierfacher Leuchtdichte im Vergleich zu monokularen Mikroskopen.

Gibt es ein Leitauge?

In diesem Zusammenhang ist die Frage interessant, ob es ein Leitauge gibt. Jeder Mikroskopiker kennt dieses Phänomen: Wir haben in der Regel ein Auge (meistens das rechte), mit dem wir besonders gut sehen, während das andere mit irgendwelchen Mängeln behaftet ist, wenn wir es allein benutzen. Mit beiden Augen zusammen sehen wir aber recht gut, weil die Fehler des einen von diesem Leitauge kompensiert werden. Dadurch ist es möglich, dass man oft eine Struktur mit einem binokularen Mikroskop gerade noch auflösen kann, während das bei monokularer Beobachtung nicht möglich ist. Wenn ein Okular mit eingebauter Strichplatte verwendet werden muss oder ein Okular

zur Beobachtung und Scharfstellung des Luftbildes bei der Mikrofotografie, sollte man dieses dem Leitauge zuordnen.

Augenfehler und Augenkrankheiten, die beim Mikroskopieren stören

Die üblichen Refraktionsanomalien des Auges stören beim Mikroskopieren nicht wesentlich. Die Kurzsichtigkeit wird mit einer Zerstreuungslinse, die Weitsichtigkeit mit einer Sammellinse behoben. Mit diesen Anomalien kann man am Mikroskop mit und ohne Brille arbeiten. Mikroskopiert man ohne Brille, wird das Mikroskop etwas umfokussiert. Man sieht zwar das mikroskopische Bild scharf, muss dann aber, wenn man zwischendurch in ein Buch sehen will, die Brille wieder aufsetzen. Die meisten Mikroskopiker kennen dies: Brille auf – Brille ab. Man kann das umgehen, wenn man entweder ein Brillenträgerokular mit hoch liegender Austrittspupille (24 mm) benutzt oder das Bild projiziert beziehungsweise auf einem Monitor darstellt. Nur beim Astigmatismus des Auges sollte immer mit Brillenträgerokularen mikroskopiert werden.

Das Kammerwasser des Auges entspricht in seiner Zusammensetzung etwa dem Blutplasma. Es wird vom Ziliarkörper durch Ultrafiltration in die hintere Augenkammer abgesondert. Von dort aus fließt es durch die Pupillenöffnung in die vordere Augenkammer. Über den Kammerwinkel gelangt es in den Schlemm'schen Kanal, der Anschluss an das venöse Gefäßsystem besitzt. Die Menge des kontinuierlich gebildeten Kammerwassers ist die Voraussetzung für einen konstanten Innendruck. Der Normalwert beträgt durchschnittlich 15 bis 16 mm Hg. Besteht eine Abflussbehinderung, steigt der Innendruck (Glaukom = grüner Star). Pathologische Werte liegen im Bereich von über 20 mm Hg. Wenn der Innendruck nicht normalisiert wird, zum Beispiel durch eine Operation, wird die Netzhaut geschädigt. Es ist klar, dass eine geschädigte Netzhaut das Mikroskopieren stark beeinträchtigt.

Zu einer Erkrankung gegen die man machtlos ist, gehört die meist altersbedingte Macula-Degeneration. Die Gesamtzahl der Zapfen-Sehzellen beträgt etwa 6 Millionen. Sie liegen vor allem um und in der Macula lutea, dem gelben Fleck. Innerhalb der Macula befindet sich die Fovea centralis (Zentralgrube), die Stelle

schärfsten Sehens. Eine Maculadegeneration verringert die Sehschärfe bis zur Erblindung. Die Hornhaut des Auges kann getrübt sein. Das ist meistens altersbedingt, kann aber auch durch äußere Einflüsse bewirkt werden. Man spricht hier vom grauen Star, der operativ beseitigt werden kann. Beim Mikroskopieren bekommt die Netzhaut weniger Licht, so als wäre ein Graufilter eingeschaltet. Deutlich merkt man das, wenn die Hornhaut von nur einem Auge getrübt ist. Beim binokularen Mikroskopieren ist dann das eine Sehfeld deutlich dunkler als das andere. Der Fehler wird von dem gesunden Auge kompensiert.

Strahlungsempfindlichkeit und Strahlenschäden des Auges

Die spektrale Empfindlichkeit des normalen menschlichen Auges erstreckt sich über den Bereich von etwa 380 bis 780 nm, also von Violett bis Dunkelrot. Wenn jedoch die Intensität in einem der beiden Grenzgebiete extrem erhöht wird, können auch Ultraviolett und Infrarot (bis 900 nm) wahrgenommen werden.

Das Ultraviolett wird von der Hornhaut stark absorbiert, besonders der Bereich unter 295 nm. Die nachfolgende Linse absorbiert am stärksten unter 350 nm und der Glaskörper unter 280 nm. Der UV-Bereich von 295 bis 350 nm regt die genannten Augenteile zu starker Eigenfluoreszenz an. Man hat das Gefühl, durch einen milchigen Schleier zu sehen. Dadurch wird man gewarnt. Gefährlich sind die noch kürzeren Wellenlängen. Die Eiweißkörper der Zellen absorbieren das UV schon bei 280 nm maximal, die Nukleinsäuren bei 260 nm. Dadurch kann örtlich Krebs ausgelöst werden. Bei Verwendung von Quecksilber- und Xenon-Höchstdrucklampen muss immer ein Filter zwischengeschaltet werden, das für diesen Bereich undurchlässig ist, am besten ein UV-Sperrfilter mit steiler Absorptionskante bei 320 bis 340 nm. Auch die in der Mikroskopie so beliebten Halogen-Glühlampen emittieren UV. Schon ab 15 W sind sie nicht unbedenklich, weil man im Hellfeld unmittelbar in die Strahlung sieht. Zum Vergleich: Eine 20 bis 25 Watt-Halogenleuchte am Schreibtisch emittiert UV mit einer Intensität, die in 25 bis 40 cm Entfernung der australischen Sommersonne entspricht. Neuerdings stellt die Glühlampenindustrie Halogenlampen mit dem Aufdruck

UV STOP her. Wenn man keine Fluoreszenzmikroskopie beabsichtigt, sollte man in der Mikroskopbeleuchtung diesen Lampentyp verwenden. Wenn man jedoch eine 12 V/100 W-Halogenleuchte für die Fluoreszenzmikroskopie verwenden will, benötigt man die Glühbirne ohne UV STOP. Der Einbau eines ein- und ausschaltbaren UV-Sperrfilters ist zu empfehlen.

Häufig wird die Meinung vertreten, die Linsen des Mikroskops würden das UV-Licht absorbieren. Man sollte sich nicht darauf verlassen, denn die UV-Absorption vieler optischer Gläser ist gering.

Ultraviolettsschäden am Auge erkennt man schnell an einer schmerzhaften Bindehautentzündung (Conjunctivitis). Man wird dadurch frühzeitig gewarnt. Die primären Schäden sind meist völlig reversibel. Weniger beachtet werden die Infrarotschäden am Auge, weil man diese nicht akut spürt. Das Infrarot (IR) wird von der Hornhaut nur ganz wenig absorbiert, während im Kammerwasser die stärkste Absorption stattfindet. Dadurch wird die nachfolgende Linse etwas von der schädlichen Wirkung dieser Strahlung geschützt. Aber 9% davon erreichen noch die Netzhaut. Schon bei einer 6 V/30 W-Glühbirne und vergleichbaren Halogenlampen im Strahlengang ist die IR-Strahlung nicht unbedenklich. Starke Mikroskopierleuchten, zum Beispiel 12 V/100 W-Halogen, emittieren soviel Infrarot, dass davon eine Linsentrübung verursacht werden kann.

Wenn der Hersteller solcher Leuchten kein IR-Sperrfilter eingebaut hat, sollte man es anschaffen. Geeignet sind klare Phosphatgläser, so genannte Wärmestrahlsperrefilter, mit einer Dicke von 3 mm.

Aus aktuellem Anlass möchte ich abschließend noch auf die neuen LED-Beleuchtungen eingehen, mit denen zur Zeit viel experimentiert wird. Die hier verwendeten Leuchtdioden werden immer lichtstärker. Einige erreichen bereits 10.000 mcd. Die LEDs haben einen unterschiedlich großen Abstrahlungswinkel, der manchmal nur 6 bis 8 Grad beträgt. Solche LEDs dienen bereits als Ersatz für Laserdioden. Man sollte nie aus kurzer Entfernung in den scharf gebündelten Lichtstrahl blicken. Eine Schädigung der Augen ist durchaus möglich. Das gilt besonders für die Laserdioden, an die man beim Experimentieren mit LEDs leicht geraten kann. Eine europäische Norm teilt die

Laser je nach Strahlungsstärke in unterschiedliche Klassen ein. Schon ab Lasern der Klasse 2 gilt der Warnhinweis: Nicht in den Strahl blicken! Beim unsachgemäßen Einbau in optische Geräte sind alle Laserdioden nicht unbedenklich.

Literaturhinweise

Baker, J. R.: Experiments on the function of the eye in light microscopy. J. Royal Microsc. Soc. 85, 231-254 (1966).
 Culclasure, D. F.: Anatomie und Physiologie des Menschen. Band 14. Die Sinnesorgane. Wiley VCH, Weinheim 1984.
 Van Duijn, C.: Visibility and resolution of microscopical detail. The Microscope 11 and 12, insgesamt 9 Beiträge (1959-1961).
 Van Duijn, C.: Die Bedeutung der Augeneigenschaften für die mikroskopische Wahrnehmung. Arbeitsmappe der 4. Internationalen Mikroskopie-Tage in Hagen 1992.
 Geneser, F.: Histologie. Deutscher Ärzte-Verlag, Köln 1990.
 Gresser, U., Lüftner, D., Adjan, M.: Physiologie. Urban & Fischer, Würzburg 1996.
 Hartridge, H.: Physiology of vision. Churchill Ltd., London 1950.
 Hartridge, H.: The visual perception of the colours of microscopic subjects. J. Quekett Micr. Club Ser. 4, 3, 163-170 (1950).
 Hartridge, H.: The optimal conditions for visual microscopy. J. Quekett Micr. Club Ser. 4, 4, 57-88 (1954).
 Hubel, D. H.: Auge und Gehirn. Neurobiologie des Sehens. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 1989.
 Siewing, R.: Lehrbuch der Zoologie, Band 1, Allgemeine Zoologie. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1980.

Verfasser: Gerhard Göke, Am Widey 7, D-58095 Hagen

**Welt.Hunger.
Hilfe:
Damit alle
ernten können**

Spendenkonto 1115
Sparkasse Bonn · BLZ 380 500 00

DEUTSCHE WELTHUNGERHILFE

Adenauerallee 134 · 53113 Bonn
Tel.: 0228/2288-0 · Fax: 0228/220710

Kurze Mitteilung

Algen mit Kristallschmuck

Wo an Geländestufen entlang wasserundurchlässiger Schichten kalkreiche Wässer austreten und über eine Pflanzendecke fließen, wird durch den Einfluss des Assimilationsvorganges der Pflanzen Kalkspat ausgefällt (Abb. 1) und als so genannter Kalktuff an diesen abgelagert. Dieser überzieht vornehmlich Moose, die dann durch die zunehmende Verkrustung absterben und nur an den Spitzen weiterwachsen. Man bezeichnet dieses letztlich daraus entstehende Gestein daher auch als Moostuff.

In Gegenden, wo es durch kalkreiche Böden entsprechend häufig zu solchen Sinterbildungen kommt, war früher dieses Gestein als Baumaterial geschätzt, da es leicht zu bearbeiten war und man daraus mühelos regelmäßige Quadern und dergleichen schlagen konnte. Besonders beim Bau von Kirchen wurde es häufig verwendet, aber auch so mancher Grabstein besteht aus diesem Material.

Wie das vorliegende Beispiel zeigt, sind von diesem Prozess aber auch Algen betroffen und zwar Schlauchalgen (*Vaucheria* spec.) aus der Klasse der Xanthophyceae (Gelbgrünalgen). Auch an deren Fäden lagern sich Kalkspatkristalle an (Abb. 2 bis 4), was ebenfalls ein Absterben der

hinteren Fadenbereiche zur Folge hat. Diese fortschreitenden Ablagerungen führen zu einer zunehmenden Verkrustung und letztlich zu einer Verklumpung der einzelnen Algenfäden untereinander, so dass aus den ursprünglichen Algenwatten von hinten beginnend, feste und erstaunlich kompakte, zottenförmige Tuffsteingebilde entstehen, während nach vorne die Algenfäden weiterwachsen. Zwischen den *Vaucheria*-Fäden findet man neben zahlreichen Kieselalgen aber auch Fäden von Schraubenalgen (*Spirogyra*), die im Gegensatz zu diesen aber nicht von Kalkspatkristallen befallen werden. Möglicherweise hängt das mit einer unterschiedlichen Beschaffenheit der Zellwandoberfläche zusammen.

Wie man sieht, sind solche Sinterquellen für den Mikroskopiker nicht nur hinsichtlich ihrer Mikrofauna und -flora interessant; sie bieten auch mancherlei andere Überraschungen.

R. Lenzenweger, Ried / Innkreis

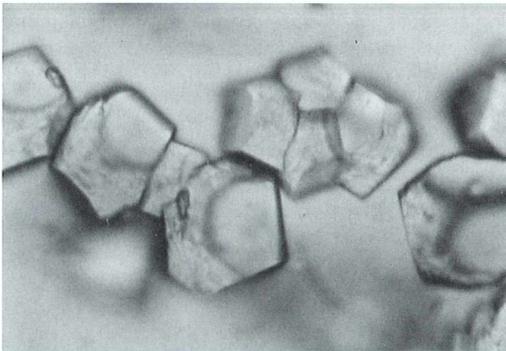


Abb. 1: Kalkspatkristalle (400fach).

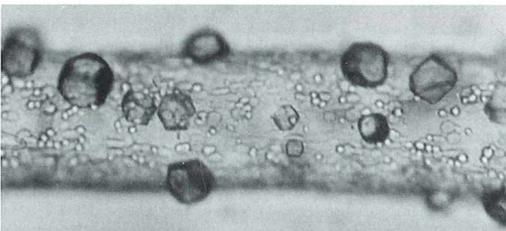


Abb. 2: Beginnende Kristallablagerung an einem *Vaucheria*-Faden (200fach).

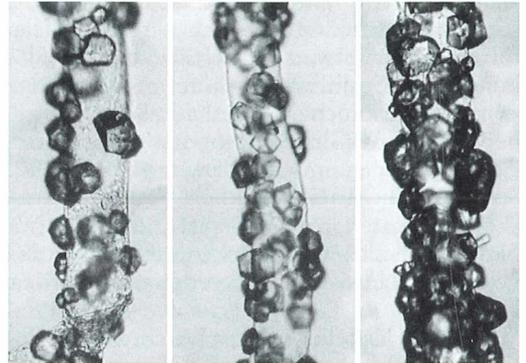


Abb. 3: Fortschreitende Verkrustung durch Kalkspatkristalle (100fach).

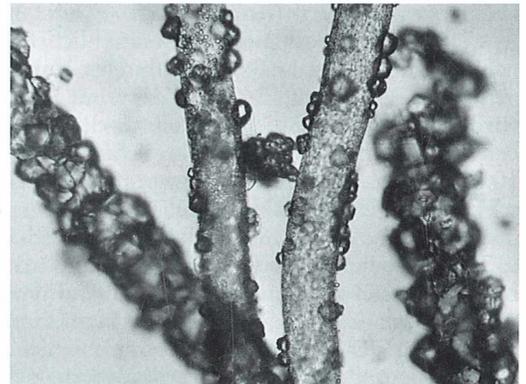


Abb. 4: Unterschiedlicher Grad der Verkrustung durch Kalkspatkristalle (100fach).

Farbeffekte bei farblosen Stärkekörnern

Siegfried Hoc

Stärkekörner mit deutlich vorhandener oder durch chemische Behandlung freigelegter Schichtung erweisen sich als sehr empfindliche Phasenobjekte, wenn entsprechende Bedingungen im Mikroskop erfüllt sind. Mit Stärkekörnern lässt sich, wie mit Diatomeenschalen auch, die Güte der chromatischen Korrektur von achromatischen Objektiven und von apochromatischen Trockensystemen prüfen. Die Entstehung farbiger Bilder von farblosen Objekten erklärt sich aus der Abbe'schen Lehre von der Bildentstehung. Damit lässt sich auch der Farbwechsel beim Defokussieren verstehen.

Verschiedene, vollkommen farblose Stärkekörner wie die der Kartoffelstärke, lassen eine Schichtung erkennen. Es handelt sich dabei um Zuwachsschichten, die um einen zentrisch oder exzentrisch liegenden Schichtungsmittelpunkt angeordnet sind. Diese Schichten können schmalere oder breitere sein, und sie bestehen aus einer dunkleren, lockeren, wasserreichen und schwächer lichtbrechenden, zum Schichtungsmittelpunkt hin gelegenen Zone (Nägeli, 1858). Auf diese folgt nach außen zum Rand des Stärkekorns hin eine hellere, dichtere, wasserärmere und stärker lichtbrechende Zone. Der Wert des Brechungsindex fällt in der dunkleren Zone radial nach außen gerichtet stetig ab und steigt mit Beginn der helleren Zone sprunghaft auf den Ausgangswert wieder an (Abb. 1), so dass der Wert des Brechungsexponenten sich fortwährend periodisch ändert (Frey-Wyssling, 1953). Die dunklen Zonen der Schichten erscheinen rötlich, die helleren dagegen bläulich.

Entstehung der Farben

Farben an feinen Strukturen im mikroskopischen Bild treten vor allem dann auf, wenn bei tief stehendem Kondensator ohne Frontlinse und mit weitgehend geschlossener Leuchtfeldblende bei Beleuchtung des Objektes mit parallelem Strahlengang gearbeitet wird, die Objekte einen ausgeprägten Feinbau besitzen und achromatische Objektive verwendet werden.

Bei der Abbildung mittels Linsen mit allfarbigem Licht werden die verschiedenen spektralen Anteile verschieden stark gebrochen. Man

spricht von Dispersion. Infolgedessen entstehen die den einzelnen Farbkomponenten zugeordneten Bilder eines Objektes in verschiedener Entfernung von der Linse und sind auch verschieden groß. Diese Phänomene werden als chromatische Längsaberration beziehungsweise chromatische Vergrößerungsdifferenz bezeichnet (Abb. 2). Zur Behebung dieses Linsenfehlers werden optische Systeme chromatisch korrigiert, das heißt, Schnittweite und Brennweite für sämtliche Farben werden nach Möglichkeit angeglichen, besonders für die am schwächsten (die roten) und die am stärksten (die blauen) gebrochenen Strahlen (Hansen, 1967).

Die chromatische Korrektur ist bei achromatischen und bei apochromatischen Objektiven verschieden weit durchgeführt. Bei den Achromaten bleiben chromatische Restfehler bestehen, die sich bei der geschilderten eingegengten Beleuchtung stark bemerkbar machen können. Voraussetzung für das Sichtbarwerden von Farben sind vollkommene Farblosigkeit und geringe Dicke der Objekte.

Bei einem achromatischen Objektiv ist nur für Rot und Grün von der halben Öffnung bis zum Rand nahezu die gleiche Schnittweite vorhanden, für alle anderen Spektralfarben werden die Schnittweiten nach dem Rand hin länger: In der Achse der Objektivöffnung bei 6 μm , am Rande dagegen bei über 40 μm . Scharfe Konturen im Objekt sind nur für Rot-Grün zu erwarten, während die blauen und violetten Strahlen keine scharfen Konturen zeichnen. Rote Konturen treten hauptsächlich an den Objektkanten auf, nicht aber an den regelmäßigen feinen Strukturen (Hansen, 1967).

Bei den deutlich besser korrigierten Apochromaten liegen die Bildorte für alle Farben zwischen Rot und Blau für alle Teile der Objektivöffnung innerhalb von $2,5 \mu\text{m}$. Das bedeutet, dass die von verschiedenen Wellenlängenanteilen des weißen Lichts erzeugten Bilder eines Objektpunktes so nahe beieinander liegen, dass sie nicht getrennt wahrgenommen werden können, wie stark man auch das Bild vergrößern mag. Wenn das von einem Apochromaten erzeugte Bild dennoch Farben zeigt, so beruhen diese nicht an einer mangelhaften Strahlenvereinigung, sondern entstehen durch das Ablenden von Teilen der Beugungsspektren in dem Objektiv durch die Metallfassung seiner Linsen.

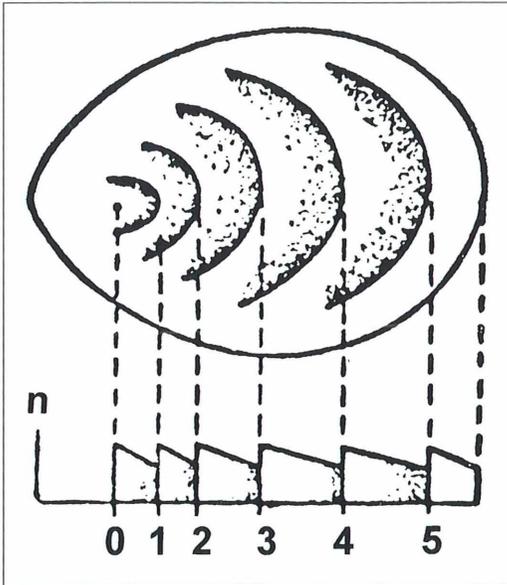


Abb. 1: Stärkekorn mit Schichtung und Höhe der Brechungsindizes (n) (nach Frey-Wyssling).

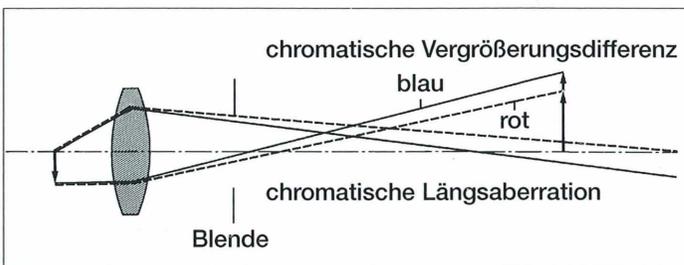


Abb. 2: Entstehung der chromatischen Abbildungsfehler bei einer Sammellinse.

Farbwechsel beim Defokussieren

An fein strukturierten Objekten wie den Stärkekörnern und Diatomeenschalen, bei denen sich die Strukturen periodisch wiederholen, beobachtet man beim Ändern des Abstandes zwischen Objekt und Objektiv-Frontlinse durch Drehen an der Mikrometerschraube keine gleichmäßige, stetige Änderung der Schärfe, sondern eine periodische Wiederkehr der Schärfe, wenn man sich von der schärfsten Einstellung nach oben oder unten genügend weit entfernt. In der Mitte zwischen zwei solchen Einstellungen auf beste Schärfe tritt ein Wechsel der Helligkeit der einzelnen Strukturelemente ein. Die, die in den höheren Einstellungen hell waren, werden in den tieferen dunkel und umgekehrt. Es findet aber nicht nur ein Wechsel zwischen hell und dunkel statt, sondern auch ein Wechsel zwischen grün und rot. Dieser Wechsel von Helligkeit und Farbe beim Defokussieren hängt mit dem Gangunterschied bei den Spektralfarben des Lichts zusammen. Bei bester Einstellung interferieren Mitte und Rand des Objektivs mit gleicher Phase am Bildort. Verändert man die Einstellung, so entsteht ein Phasenunterschied. Wenn dieser Phasenunterschied gerade π ausmacht, also dem Gangunterschied $T = \lambda/2$ entspricht, so tritt ein Helligkeitswechsel ein.

Der Farbwechsel bei der Defokussierung lässt sich wie folgt grob erklären: Wenn außer dem Grün im weißen Licht auch Rot zur Wirkung kommt, kann es nur vom mittleren, direkten Spaltbild nullter Ordnung kommen. Die Beugungsbilder höherer Ordnung sind für Rot allesamt durch Blenden zurückgehalten, eine Struktur kann im Rot nicht sichtbar sein, es überlagert sich vielmehr dem blauen Strukturbild ein gleichmäßig verteiltes Rot (Hansen, 1967).

Farbige Schichtung in Stärkekörnern

Werden in der geschilderten Weise (tief stehender Kondensator ohne Frontlinse, weitgehend geschlossene Leuchtfeldblende, paralleler Strahlengang der Beleuchtung und achromatisches Objektiv) Stärkekörner mit deutlicher Schichtung wie die der Kartoffelstärke mikroskopiert, so zeigt sich im Inneren der Stärkekörner, dass auf purpurrote Zonen nach außen hin jeweils gelbgrüne bis blaue folgen – und das im periodischen Wechsel vom Schichtungszenentrum des Kornes bis an dessen Peripherie (Abb. 1 und 3). Diese Schichten sind unregelmäßig breiter und schmaler, sehr deutlich oder kaum erkennbar. Bei Kartoffelstärke sind die Schichten in der Regel sehr deutlich, in den Stärkekörnern aus dem Rhizom der Zierpflanze Blumenrohr (*Canna indica*) sind sie dagegen sehr eng, zahlreich, und sie zeigen intensivere Farben. Werden die Stärkekörner in verdünnten Lösungen von blauen oder violetten basischen Farbstoffen kurzzeitig angefärbt, so wird das Rot der schwächer brechenden Zonen und das Blau der stärker brechenden Zonen im mikroskopischen Bild intensiver. Dieses Phänomen beruht darauf, dass die Farblösungen hohe Durchlässigkeit im roten und blauen Bereich besitzen (Formanek, 1927). Geeignete Farbstoffe sind Methylblau, Gentianaviolett und Chinolinblau (Zyanin).



Abb. 3: Kartoffel-Stärkekörner in Wasser mit Schichten. Die leicht farbige Schichtung ist in der Schwarz-Weiß-Abbildung nicht zu erkennen. Achromat, Vergr. 350fach.

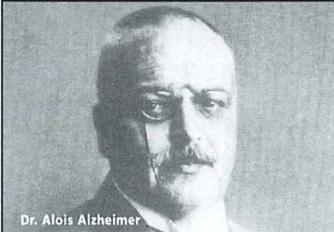
Bei den nativen Getreidestärken ist keine Schichtung zu erkennen. Werden die Stärkekörner jedoch lintnerisiert, das heißt, nach dem Verfahren nach Lintner (1886) mit 7,5%iger Salzsäure behandelt, so lassen zum Beispiel Roggen-Stärkekörner nach vier Wochen Aufenthalt in der schwachen Mineralsäure eine deutliche Schichtung erkennen, die sich optisch ebenso verhält wie die von Stärkekörnern mit deutlicher Schichtung im nativen Zustand. Demnach sind alle Stärkekörner Phasenobjekte (Czaja, 1966).

Literaturhinweise

- Bancher, E., Hölzl, J.: Zur Darstellung und Ursache der tangentialen Schichtung im Stärkekorn. *Die Stärke* 16, 81–84 (1964).
- Czaja, A.: Neuere Untersuchungen an Stärkekörnern. *Die Stärke* 17, 211–218 (1965).
- Czaja, A.: Stärkekörner als Phasenobjekte. *Die Stärke* 18, 186–190 (1966).
- Czaja, A.: Der Nachweis von Kirsche, Pflaume, Aprikose, Pfirsich, schwarzer und roter Johannisbeere in Konfitüren und Marmeladen. *Ztschr. Lebensm. Untersuchung und Forschung* 104, 269–275 (1956).
- Formanek, J., Grandmougin, E.: Untersuchung und Nachweis organischer Farbstoffe auf spektroskopischem Wege. 2. Auflage, 2. Teil, 1–4, Springer Verlag, Berlin 1911–1927.
- Frey-Wyssling, A.: *Submicroscopic morphology of protoplasm*. Elsevier Publishing Company, 2nd ed. Amsterdam 1953.
- Hansen, G.: Farbige Bilder im Mikroskop von farblosen Gegenständen. *Zeiss-Mitteilungen* 4, 297–308 (1967) und 4, 376–379 (1968).

Verfasser: Siegfried Hoc, Mikrobiologische Vereinigung München e.V., Donaustraße 1a, D-82140 Olching. Tel./Fax: 081 42/24 52.

Die Alzheimer-Krankheit besiegen



Dr. Alois Alzheimer

Wir führen fort, was Dr. Alois Alzheimer begann. Helfen Sie mit!



Alzheimer Forschung Initiative e.V.
Grabenstraße 5 · 40213 Düsseldorf
Telefon (kostenlos) 0 800 / 200 400 1
www.alzheimer-forschung.de

Makro-Quiz

Auflösung Makro-Quiz von Heft 4/2002

Bei dem Bilderrätsel handelt es sich um das Auge eines etwa fünf Millimeter großen Flohkrebse (Amphipoda). Im Düsseldorfer Aquazoo lebt dieser Gammaride (neben weiteren, zahlenmäßig stärker vertretenen Arten) in einigen der tropischen Meeresbecken in dem Lückensystem des Bodengrundes. Insbesondere die Männchen dieser (Melithidae?) Spezies besitzen außerordentlich große, muskulöse 2. Gnathopoden mit langem, spitzem Scherenfinger. Sie dienen zum Festhalten der Weibchen (Praecopula), zur Verteidigung und zum Beutefang. Nach Fangschreckenkrebsart werden damit bodenlebende Kleintiere ergriffen und regelrecht erdolcht. Daneben werden aber auch Mikroalgen von Substraten mit den Mandibeln abgeraspelt.

Die Komplexaugen der Flohkrebse (Abb. 1 und 2) besitzen zwar Kristallkegel, aber keine cuticulären Linsen. Im Hellfeld oder normalen Dunkelfeld sind die Einzelaugen nicht sehr gut sichtbar. Im vorliegenden Fall wurde das Auge (und die Scheren) im schrägen Auflicht – ohne Wasser und Deckgläschen – beobachtet (Faseroptiklampe) und fotografiert (TTL-Blitzgerät; Achromat 10×, Okular 8×).

Literaturhinweis

Kaestner, A.: Lehrbuch der Speziellen Zoologie. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1993.

Verfasser: Rolf Hebbinghaus, Aquazoo-Löbbecke Museum Düsseldorf, Kaiserswerther Str. 380, D-40200 Düsseldorf, Tel.: 02 11/899 34 77

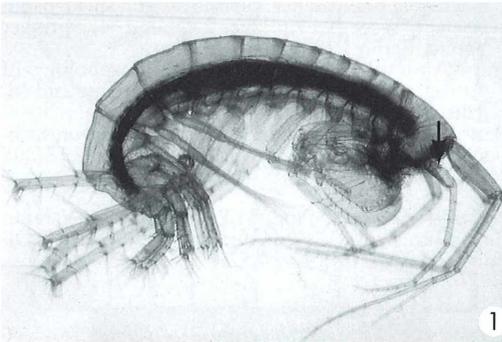
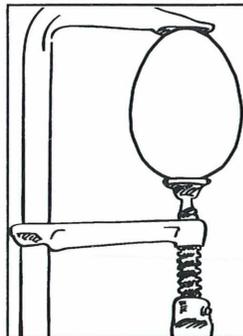


Abb. 1: Von diesem Meerflohkrebs stammte das Organ (Pfeil), welches im Makro-Quiz des letzten MIKROKOSMOS-Heftes gesucht wurde. Vergr. 16fach. – **Abb. 2:** In höherer Vergrößerung erkennt man das aus wenigen Ocellen bestehende Komplexauge des Gammariden am oberen Bildrand (Pfeil). Vergr. 80fach.



Eingespannt?

Stress und Hektik sind häufig Ursachen von Spannungskopfschmerzen. Befreien Sie Ihren Kopf und informieren Sie sich!

Die Broschüre "Kopfschmerzen-Anleitung zur Selbsthilfe" erhalten Sie bei Einsendung eines mit 0,77 € frankierten Rückumschlages (DIN A5) kostenlos bei

DEUTSCHES GRÜNES KREUZ e. V.
Stichwort: Kopfschmerz

Postfach 1207
35002 Marburg



Transferzellen und ihre Darstellung in Septalnektarien

Eberhard Schnepf

Transferzellen – der Name wurde 1969 von Gunning und Pate geprägt – sind Pflanzenzellen, die Wände mit dünnen, nach innen gerichteten, zottenartigen Vorsprüngen (Protuberanzen) haben. Sie dienen dem Kurzstreckentransport, unter anderem in Drüsen wie zum Beispiel den Septalnektarien vieler monokotyler Pflanzen. Weniger gebräuchlich ist der Name Übergangszellen.

Diese Wandprotuberanzen sind meist nur etwa 0,3 μm dick, unregelmäßig geformt, oft verzweigt und bilden ein Labyrinth (Abb. 1), das von Cytoplasma durchsetzt ist (Abb. 2). Dadurch ist die Oberfläche des Protoplasten und also auch die Fläche und Menge der Plasmamembran stark vergrößert, manchmal mehr als zwanzigfach. Das erleichtert Austauschprozesse zwischen dem Protoplasten und seiner Umgebung, der Zellwand, also zwischen Symplast und Apoplast. Die Kapazität für einen aktiven Kurzstreckentransport kann so erhöht werden.

Vorkommen von Transferzellen

Transferzellen können für die Stoffaufnahme spezialisiert sein, beispielsweise in den Epidermen mancher Wasserpflanzen (*Elodea*, *Vallisneria*) und den Haustorien von *Cuscuta*, oder für die Sekretion, wie zum Beispiel in Drüsen. Man findet sie aber nur in solchen Drüsen, die wässrige Sekrete ausscheiden und dazu nicht den Golgi-Apparat benutzen, also in manchen Nektarien, Hydathoden und Salzdrüsen (Gunning und Pate, 1969). Hier passiert das Sekret die Plasmamembran direkt (eccrine Sekretion). Transferzellen gibt es auch im Inneren der Pflanze. Sie bilden oft den Übergang zwischen dem Blattparenchym und dem Leitgewebe bei kleinen Blattadern und zwar dann, wenn das Phloem vom Apoplasten her beladen wird; hier fehlen dann Plasmodesmen (Pate und Gunning, 1969; Gamalei, 1980). Sie kommen im Xylem-Parenchym von Wurzeln vor und in

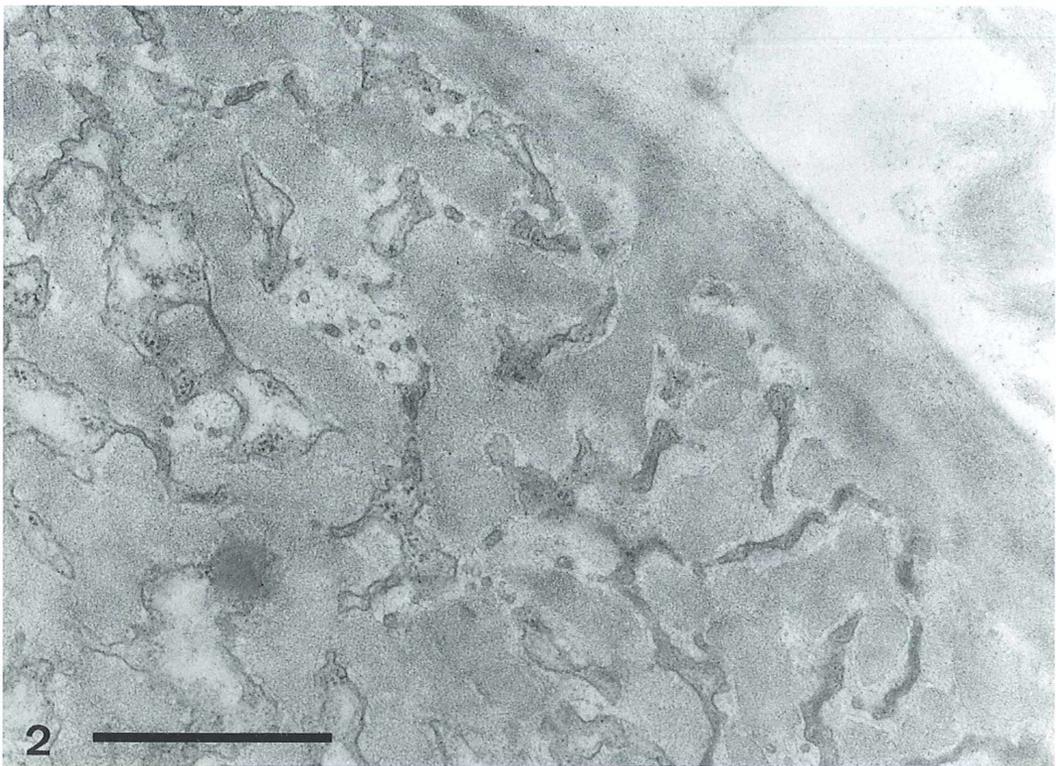
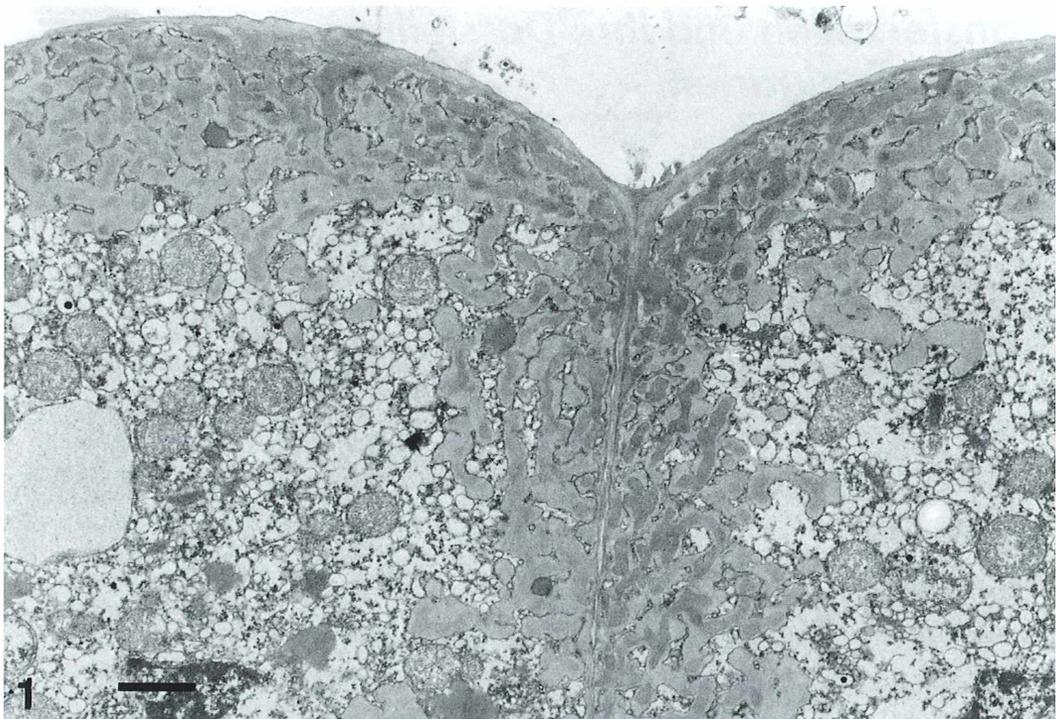
den Wurzelknöllchen der Leguminosen. Sie verbinden den haploiden Gametophyten und den diploiden Sporophyten bei Moosen, also um den Sporogonfuß herum, und Embryosack und Embryo bei Blütenpflanzen.

Morphologie von Transferzellen

Oft ist es schwierig, die kleinen, dünnen Wandprotuberanzen der Transferzellen im Lichtmikroskop (LM) zu erkennen. Eigentlich hat erst das Transmissionselektronenmikroskop (TEM) (Abb. 1, 2) gezeigt, wie verbreitet diese Zellen sind. In günstigen Fällen, dann wenn ein Wandlabyrinth mächtig entwickelt ist, lässt sich dieses aber auch gut im Lichtmikroskop darstellen (Abb. 3–7), zumindest als spezielle Wandschicht.

Dafür sind besonders die Septalnektarien vieler Monokotylen (Asparagales) geeignet, wie *Aloe*, *Clivia*, *Hosta*, *Haworthia*, *Gasteria*, *Gladiolus*, *Hippeastrum*, *Hyacinthus* und *Yucca* (Schnepf, 1964). Auch Bromeliaceen haben Septalnektarien. Hier wird der Nektar aber durch Golgi-Vesikel sezerniert und die Drüsenzellen haben dem entsprechend kein Wandlabyrinth (Benner und Schnepf, 1975).

Schon Sprengel hat 1793 beschrieben, dass viele Monokotylen Nektar am Fruchtknoten ausscheiden. Er wird dort meist von einem Drüsenepithel sezerniert, das die drei Spalten zwischen den nur teilweise verwachsenen Fruchtblättern auskleidet (Abb. 3). Diese Spalten münden meist auf der Oberseite des Fruchtknotens, neben dem Griffel, nach außen.



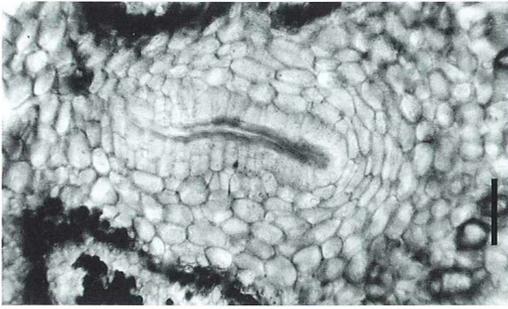


Abb. 3: *Eucharis grandiflora*, Septalnektarium. Drüsenepithelzellen mit verdickt erscheinender Außenwand. Handschnitt durch einen Fruchtknoten, Färbung mit Lugol-H₂SO₄. LM, Maßstrich 20 µm.

Die aktiven Drüsenepithelzellen haben eine eigenartig verdickt erscheinende Außenwand (Abb. 3). Diese zusätzliche Lage wurde von Schniewind-Thies (1897) als sekundäre Schicht bezeichnet. Saunders (1890) vermutete, dass die Wand schleimig degeneriert, korrodiert, ist. Das TEM hat dann gezeigt (Schnepf, 1964), dass es sich um ein apikales Wandlabyrinth handelt (Abb. 1 und 2). Die Wandprotuberanzen sitzen an der Außenwand und an dem angrenzenden apikalen Teil der Antiklinen (Zellwände senkrecht zur Oberfläche des Organs). Aber auch mit lichtmikroskopischen Methoden lässt sich das zeigen.



◀ **Abb. 1:** *Gasteria* sp., zwei Epithelzellen eines Septalnektariums mit apikalem Wandlabyrinth. Nektarspalte oben. TEM, Maßstrich 1 µm. – **Abb. 2:** *Gasteria* sp., apikales Wandlabyrinth in einer Epithelzelle eines Septalnektariums. Nektarspalte oben rechts. TEM, Maßstrich 1 µm.

Abb. 4: *Gasteria joubertii*, Septalnektarium. Drüsenepithelzellen mit apikalem Wandlabyrinth. Handschnitt, aufgehellt mit Phenol. LM, Interferenzkontrast, Maßstrich 10 µm. – **Abb. 5:** *Eucharis grandiflora*, Septalnektarium. Drüsenepithelzellen mit apikalem Wandlabyrinth. Handschnitt, gefärbt mit Lugol-H₂SO₄. LM, Maßstrich 10 µm.

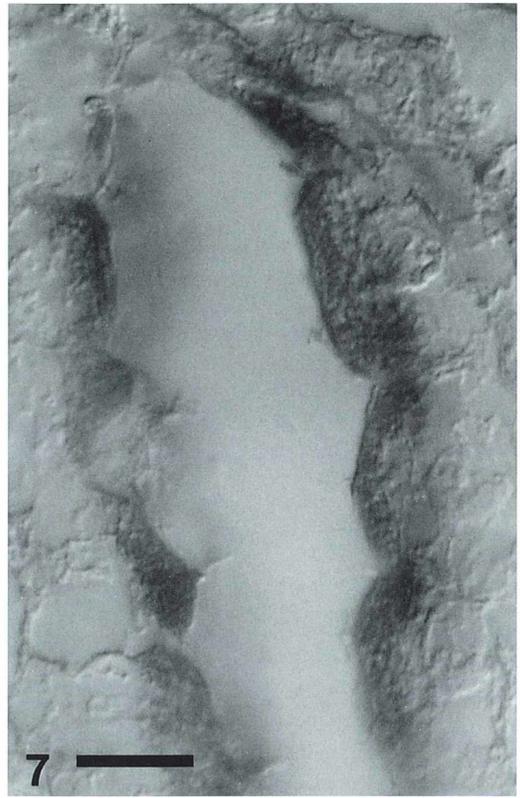
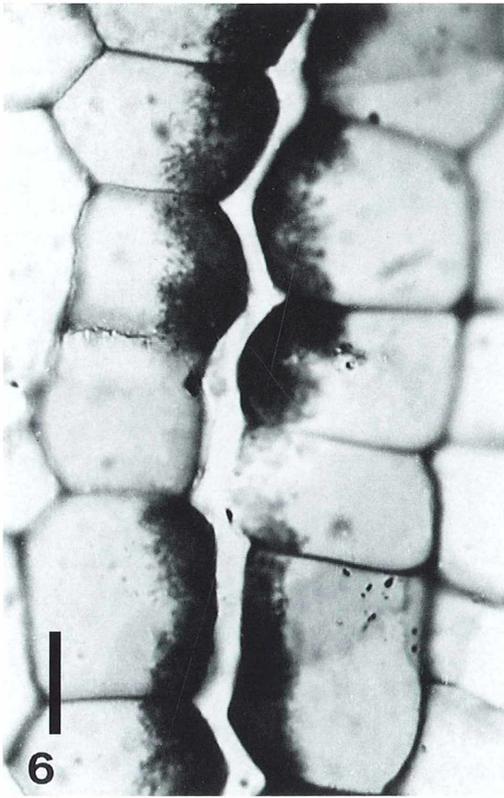


Abb. 6: *Gasteria trigona*, Septalnektarium. Drüsenepithelzellen mit apikalem Wandlabyrinth. Kunstharzeinbettung, Färbung mit Rutheniumrot. LM, Maßstrich 10 μm . – **Abb. 7:** *Aloe bulbifera*, Septalnektarium. Drüsenepithelzellen mit apikalem Wandlabyrinth. Paraffin-Einbettung, Polysaccharidfärbung mit PAS. LM, Interferenzkontrast, Maßstrich 10 μm .

Anfärbung der Wandprotuberanzen

Am einfachsten ist es, dünne Handschnitte wie Querschnitte durch den Fruchtknoten mit Phenol (gesättigte wässrige Lösung) aufzuhellen. Nach einigen Minuten erkennt man das Labyrinth gut, besonders im Interferenzkontrast (Abb. 4). Wenn die Schnitte längere Zeit im Phenol bleiben, heben sich die Protuberanzen weniger gut hervor.

Eine Blaufärbung mit Chlor-Zink-Jod zeigt, dass die Wandzotten Zellulose enthalten. Bessere Ergebnisse (Abb. 5) erhält man, wenn man die Schnitte mit Lugol-Lösung (2 g KJ, 1 g J₂, 100 ml Aqua dest.) färbt, sie in der Jodlösung mit einem Deckglas bedeckt und dann verdünnte Schwefelsäure (1 Teil Aqua dest., 2 Teile konzentrierte Schwefelsäure) durch das Präparat saugt. Das Labyrinth wird blau (Zellulose-

Nachweis). Eingeschlossene braune Tröpfchen zeigen an, dass es von Cytoplasma durchsetzt war.

Mit Rutheniumrot (0,02%ige wässrige Lösung) weist man Pektin in den Protuberanzen nach. Das gelingt mit Frischmaterial. Bessere Ergebnisse erhält man, wenn man dünne Schnitte durch Fruchtknoten, die in Kunstharz eingebettet sind, färbt (Abb. 6). Dann lassen sich auch einzelne Zotten gut erkennen.

Abbildung 7 zeigt die (Rot-)Färbung durch die Periodsäure-Schiff-Reaktion (PAS) zur Darstellung von Polysacchariden in 1–4-Bindung. Das gelingt mit Schnitten von Frischmaterial, oder besser mit Mikrotomschnitten von fixierten Fruchtknoten (z. B. mit Alkohol-Eisessig 3:1; Aldehyd-haltige Fixierungsmittel darf man nicht verwenden). Sie werden mit 0,5% Periodsäure (5 Min.) oxydiert, wodurch Alde-

Hydgruppen an den Zuckermolekülen der Polysaccharide entstehen. Dann spült man, erst mit Leitungswasser und danach mit Aqua dest. und färbt mit Schiff'schem Reagenz (60 Min.), spült erneut erst mit Leitungswasser, dann mit Aqua dest., entwässert und schließt die Präparate wie üblich ein. Das Schiff'sche Reagenz, mit dem man die Aldehydgruppen nachweist, stellt man nach Gerlach (1977) her, indem man 0,5 g Pararosamin in 15 ml 1 N HCl löst und dann 0,5 g $K_2S_2O_5$ und 85 ml Aqua dest. zugibt. Die Mischung lässt man 24 Stunden dunkel stehen, schüttelt gelegentlich, und gibt dann 0,5 g Aktivkohle hinzu. Nach kräftigem Schütteln filtriert man durch ein Papierfilter. Kallose ist im Wandlabyrinth von aktiven Drüsen nicht nachzuweisen.

Labyrinth bei Pflanzen- und Tierzellen

Die Drüsenepithelzellen bilden die Wandprotuberanzen kurz vor dem Aufblühen. Bei der Fruchtreife kollabieren die Drüsenepithelzellen (so bei *Hosta* und *Clivia*) oder sie vergrößern sich, wobei das Wandlabyrinth abgebaut wird (so bei *Gasteria*).

In Transferzellen wird das Wandlabyrinth meist an der apikalen Zellwand gebildet. In manchen tierischen Zellen, vor allem in Epithelzellen, die dem Transport dienen, findet man ein so genanntes basales Labyrinth aus Einfaltungen der basolateralen Plasmamembran. Apikal wird bei Tierzellen die Oberfläche vergrößert durch Mikrovilli, feine fingerför-

mige Ausstülpungen des Protoplasten, die einen Bürstensaum bilden können. Tierische Zellen haben ja keine Zellwände und lösen das Problem der Oberflächenvergrößerung auf ihre spezielle Weise.

Literaturhinweise

- Benner, U., Schnepf, E.: Die Morphologie der Nektarausscheidung bei Bromeliaceen: Beteiligung des Golgi-Apparates. *Protoplasma* 85, 337–349 (1975).
- Gamalei, Y.: Structure and function of minor veins in trees and herbs. A taxonomic review. *Trees* 3, 96–110 (1969).
- Gerlach, D.: Botanische Mikrotechnik. 2. Auflage. Thieme Verlag, Stuttgart 1977.
- Gunning, B. E. S., Pate, J. S.: "Transfer cells". Plant cells with wall ingrowths, specialized in relation to short distance transport of solutes – their occurrence, structure and development. *Protoplasma* 68, 107–133 (1969).
- Pate, J. S., Gunning, B. E. S.: Vascular transfer cells in angiosperm leaves. A taxonomic and morphological survey. *Protoplasma* 68, 135–156 (1969).
- Saunders, E. R.: On the structure and function of the septal glands in *Kniphofia*. *Ann. Bot.* 5, 11–25 (1890).
- Schnepf, E.: Zur Cytologie und Physiologie pflanzlicher Drüsen. IV. Teil: Licht und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Septalnektarien. *Protoplasma* 58, 137–171 (1964).
- Schniewind-Thies, J.: Beiträge zur Kenntnis der Septalnektarien. Fischer Verlag, Jena 1897.
- Sprengel, C. K.: Das entdeckte Geheimnis der Natur im Bau und in der Befruchtung der Blumen. 2. Band, Ostwalds Klassiker der exakten Wissenschaft Nr. 49. Engelmann Verlag, Leipzig 1894.

Verfasser: Prof. Dr. Eberhard Schnepf, Dürerweg 11, D-69168 Wiesloch

Kurze Mitteilung

Ein seltener Abwasserpilz

Mit der Bezeichnung saprophytische Pilze verband ich bis vor kurzem immer die Vorstellung von deren Vorkommen in stark verunreinigten Gewässern. Allzu oft kann man ja ihre schmutzgrauen Watten in Abwasserkanälen oder sonstigen stark belasteten Gerinnen bemerken, in denen sie durch den Abbau gelöster organischer Substanzen eine wichtige Rolle zu deren Selbstreinigung spielen. Dass solche Pilze aber

auch in absolut reinen und nährstoffarmen Gewässern vorkommen, war daher sicherlich nicht nur für mich zunächst einigermaßen überraschend.

Bei der Untersuchung von Algenproben aus dem Uferbereich eines kleinen, 1900 m hoch gelegenen Sees in den Niederen Tauern fand ich hyaline, durch Einschnürungen in unterschiedlich lange Segmente unterteilte, dichotom verzweigte Schläuche, deren Enden in unterschiedlich viele, keulenförmige, kurz ge-

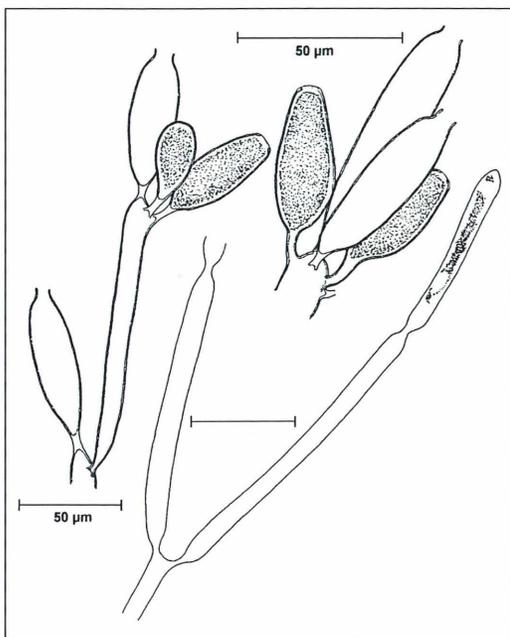


Abb. 1: Dichotom verzweigte Schläuche des Abwasserpilzes *Sapromyces reinschii* mit gestielten Sporangien an den Enden.

stielte Auswüchse übergingen (Abb. 1). Es war ganz offensichtlich, dass es sich hierbei um teils reife, teils bereits leere Sporangien handelte. Die Enden der reifen Sporangien sind abgestumpft, mit einer vor der Abflachung deutlich ringförmig verdickten Wand. Die leeren Sporangien sind amphorenförmig, mit kragenartig vorgestülpten Austrittsöffnungen. Zwar wurde mir bald klar, dass es sich hier nur um einen Wasserpilz handeln konnte, damit aber waren meine Kenntnisse auch schon erschöpft.

In meiner Ratlosigkeit wandte ich mich mit einer Skizze meines ominösen Fundes an die Mikroskopische Gesellschaft Zürich und über deren Vermittlung sandte mir Herr Prof. Dr. F. Schanz von der Limnologischen Station in Kilchberg in der Schweiz eine einschlägige Publikation, aus der ich endlich nähere Einzelheiten über diesen Pilz erfahren konnte.

Danach handelt es sich dabei um *Sapromyces reinschii*. Ursprünglich wurde er 1876 von Reinsch in einer nicht näher bezeichneten Lokalität in Deutschland gefunden und als *Naegelia* spec. beschrieben. Die heute gültige Benennung erfolgte durch Fritsch (1893).

Details über seinen Lebenszyklus konnte Thaxter (1894) aufklären, der ihn in Nordamerika (York, Maine) fand. Weitere Funde stammen von Petersen (1910) aus einem See in Dänemark und von Tiesenhausen (1912) aus einem Moor bei Bern. Ob auch Funde aus neuerer Zeit vorliegen, ist mir leider nicht bekannt. Insgesamt gesehen dürfte er aber nicht gerade häufig vorkommen. Nach den Angaben der bisherigen Bearbeiter wurde er auf abgestorbenen, jeweils im Wasser untergetauchten Stängeln der Mistel und auf Fichten- und Kiefernzweigen gefunden. In meinem Fall war der Uferbereich des Sees von einem dichten Bestand von Legföhren (*Pinus mugo*) umgeben und so war der Seegrund zahlreich von deren abgestorbenen Nadeln bedeckt, die hier wohl das Nährsubstrat des Pilzes bilden.

Wie in so vielen Fällen sieht man hier wieder einmal, dass man auch als Nichtfachmann auf einem Gebiet mit etwas Aufmerksamkeit wissenschaftlich interessante Funde machen oder Beobachtungen anstellen kann.

Dank

Mein Dank gebührt dem Präsidenten der Mikroskopischen Gesellschaft Zürich, Herrn J. Rügger-Deschenaux aus Rüslikon, für die Herstellung des nötigen Kontaktes und Herrn Prof. Dr. F. Schanz von der Limnologischen Station in Kilchberg für die Kopie der einschlägigen Publikation.

Literaturhinweis

Tiesenhausen, Baron M. (1912): Beiträge zur Kenntnis der Wasserpilze in der Schweiz. Archiv für Hydrobiologie und Planktonkunde 7, 261–308.

R. Lenzenweger, Ried/Innkreis

+ Wege finden + Neuland betreten + selbstständig werden +
auf eigenen Füßen

Brot
für die Welt
Ein Stück Gerechtigkeit

Der Schulp der Sepia – Ein Bionik-Objekt

Wolfgang Hasenpusch und Torsten Zaiß

Kopffüßer wie die Sepien, Kalmare, Kraken und Nautiliden gehören zu den ungewöhnlichsten marinen Lebewesen dieser Erde. Nautiliden besitzen ein vollständiges Kalk-Schneckengehäuse. Während die Kraken über keinerlei Hartschale verfügen und bei den Kalmaren nur noch ein Rückgratstreifen aus Calciumcarbonat erhalten blieb, besitzen die Sepien eine luftgefüllte, aus vielfach gestützten Schichtkammern aufgebaute Rückenplatte, die den maritimen Bioniker kreativ werden lässt.

Wie die Schnecken und Muscheln zählen auch die Kopffüßer zum Stamm der Weichtiere (Mollusken). Die Eigenschaft, sich bei Gefahr hinter einer Tintenwolke zu verstecken, trug ihnen auch den Namen Tintenfische ein. In den Meeren unterscheiden Biologen zwei Gruppen von Kopffüßern (Cephalopoden): Die Nautiliden (vierkiemige Kopffüßer), wegen ihrer Form auch Perlboote genannt, und die Coleoiden (zweikiemige Kopffüßer). Achtarmige For-

men der Coleoiden bezeichnet man als Octobranchia (z. B. Kraken), solche, die zusätzlich über zwei sehr lange, ausfahrbare Fangarme verfügen, also 10 Arme besitzen, als Decabranchia (z. B. Sepien und Kalmare). Beide Gruppen unterscheiden sich deutlich. Nautiliden besitzen ein gekammertes Schneckengehäuse sowie eine raue Haube, hinter der sich ihre Körper ins Gehäuse zurückziehen können. Die Coleoiden dagegen verfügen im Falle der Sepien über eine innere Rückenplatte, die Kalmare über einen reduzierten Kalksteg oder, wie es bei den Kraken zu beobachten ist, über keinerlei mineralische Bestandteile mehr (Abb. 1). Alle Formen sind das Ziel einer umfangreichen industriellen Fischerei.

Die Größen der Kopffüßer unterscheiden sich erheblich. Sie reichen von den 2 cm langen Zwergseprien bis zu den 18 m langen Riesenkalmaren der Tiefsee, deren Ausmaße sich bisher nur aus den Kampfspuren der Saugnäpfe an den Körpern der sie jagenden Pottwale ableiten ließen. Kopffüßer zählen zu den ältesten Bewohnern unserer Ozeane.

Evolution der Kopffüßer

Während der Mensch seit etwa drei Millionen Jahren auf der Erde lebt, datieren Wissenschaftler das Alter von Kopffüßern auf einige hundert Millionen Jahre. Ihre Kalkgehäuse nahmen die unterschiedlichsten Formen zwischen zwei und 350 cm Größe an. Sie dienten als schützende Behausung sowie, gekammert und gasgefüllt, als Auftriebskörper. Von der großen Diversität an Tier- und Gehäuseformen starben im Laufe der Entwicklungsgeschichte viele Kopffüßergruppen aus.

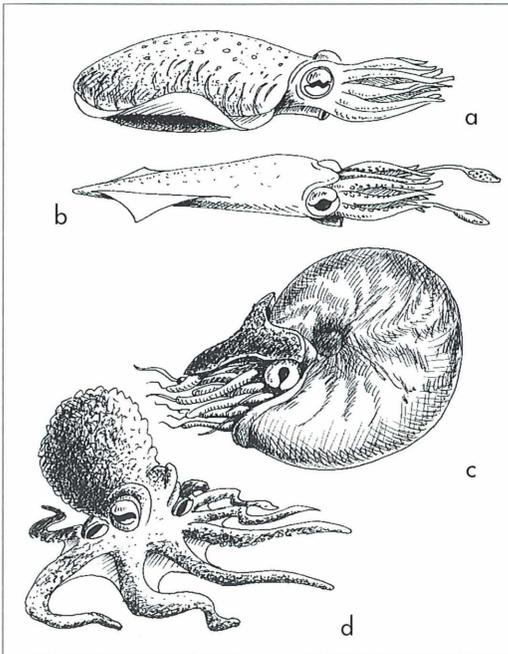


Abb. 1: Die vier wesentlichen Gruppen der Kopffüßer: a Sepia, b Kalmare, c Nautilus, d Krake.

Im Devon, vor circa 300 Millionen Jahren, dominierten die Ammoniten mit ihren schneckenartig eingerollten Gehäusen die Fauna der Kopffüßer. Sie erreichten Durchmesser bis zu 350 cm. Vor etwa 180 Millionen Jahren starben die Ammoniten aus. Die Gründe dafür blieben ein Geheimnis (Norman, 2000). Während Kalmare-Funde 200 Millionen Jahre zurückdatiert werden konnten, sind sie bei den Sepien um 135 Millionen Jahre jüngeren Datums. Aus der gleichen Zeitepoche, vor 65 Millionen Jahren, dürften sich die Kraken herausgebildet haben. Kopffüßer sind heute in allen Teilen der Ozeane anzutreffen, auch weit jenseits der Wendekreise. Kalmare und Kraken werden in Tauchtiefen unterhalb von 1.000 Metern gefunden. Für Sepien liegt hier eine Tiefengrenze, bedingt durch den Tariiermechanismus und die Stabilität ihres inneren Kalkgehäuses, dem Schulp. Nautiliden müssen sich gar mit geringeren Tiefen, etwa 750 Meter, begnügen.

Tariiermechanismen der Kopffüßer

Die Muskelmassen der Kopffüßer sind schwerer als Wasser. Für das Tariieren, dem freien

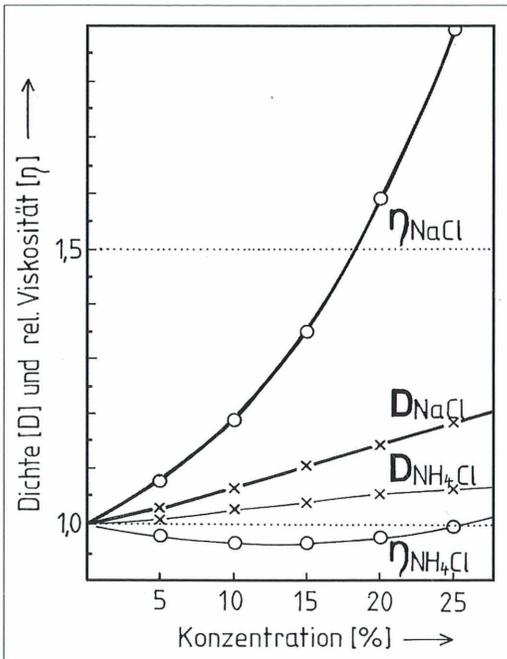


Abb. 2: Dichte und relative Viskosität von Kochsalz- und Ammoniumchlorid-Lösungen

Schweben im Wasser, haben Kopffüßer mehrere Wege gefunden:

1. Schwimmen mit auftriebender Flossenstellung,
2. gasgefüllte Hohlkörper aus Kalk,
3. Kammern mit leichten Flüssigkeiten und
4. Einlagern leichter Fette und Öle.

Die Nautiliden sind die letzten ihrer Art, die ein gasgefülltes äußeres Gehäuse zum Tariieren einsetzen. Forscher entdeckten, dass die Kammern von Jungtieren bis zu einer gewissen Stabilität ganz mit Wasser gefüllt sind. Die Schneckenkörper erwachsener Tiere sind auf Belastungen von maximal 75 bar Druck, entsprechend einer Tiefe um 750 Meter, konstruiert.

Bei den Sepien ist das Kammersystem im Vergleich zu den Nautiliden nicht so gut zu erkennen. Es ist, bedeckt von der Rückenhaut, flach ausgebildet und aus gestützten Schichtkammern aufgebaut. Das Tariieren unterliegt vergleichbaren Mechanismen. Wie umfangreiche Untersuchungen ergaben, zerplatzen ihre Schulp bei ganz unterschiedlichen Tiefen. Die makabren Tests mit jungen und erwachsenen Tieren zeigten ein Implodieren der Schulp zwischen 200 und gut 1000 Metern (Ward und Boletzky, 1985).

Kalmare haben zum Teil eine Lösung von Ammoniumchlorid (NH_4Cl) in ihrem Körper eingelagert. Ammoniumchlorid-Lösungen haben mit circa $1,00 \text{ g/cm}^3$ eine geringere Dichte als Meerwasser einer durchschnittlichen Salinität von 3,5%, entsprechend 35 g Salz pro Liter, und einer Dichte von $1,025 \text{ g/cm}^3$ bei 20°C . Abbildung 2 zeigt den Dichteunterschied von Kochsalz, dem Hauptbestandteil des Meeressalzes, und Ammoniumchlorid mit steigender Konzentration bei Raumtemperatur. Gleichzeitig sind die auffallend hohen Differenzen in der Viskosität abgebildet, die beim Ammoniumchlorid noch leicht unterhalb der des Wassers liegen. Damit sind osmotische Prozesse bei der Bildung und Einlagerung erheblich erleichtert.

Tiefsee-Kalmare tariieren ähnlich, wie wir es von den Haien her kennen: Mit Ölen, die leichter als Wasser sind. Das bekannte sechsfach ungesättigte, linear aufgebaute Haiöl Squalen ($\text{C}_{30}\text{H}_{50}$) ist beispielsweise durch eine Dichte von $0,8584 \text{ g/cm}^3$ (20°C) gekennzeichnet.

Von den Kammern des Sepia-Schulp wissen wir, dass sie gasgefüllt sind. Zum Absinken müssen sie aber, ähnlich den Kammern von

U-Booten, geflutet werden. Aber U-Boote, wie auch die Sporttaucher, führen Druckluft mit sich in die Tiefe, mit deren Hilfe sie den positiven Auftrieb herstellen können. Die Sepia muss das Auftriebsgas aus sich heraus erzeugen, etwa durch Kohlendioxid aus der Atmung.

Pulverröntgenographische Untersuchungen des Sepia-Schulps

Der Aufbau der bizarren Sepia-Schulpe fasziniert maritime Bioniker in besonderem Maße. Was kann er aus ihnen für die Technik lernen? Welche Anregungen geben sie ihm? Sepien sind Kopffüßer, die bis zu einem Meter lang werden. In der Regel haben sie jedoch eine Länge von 10 bis 30 cm und eine Breite von 6 bis 10 cm. Ihre Schulpe werden an die Strände aller Kontinente gespült. Schätzungen belaufen sich auf sieben Millionen pro Jahr.

Wir kennen die Schulpe von dem Einsatz in Vogelkäfigen zum Schnabelwetzen der Hausvögel. Auch als Poliermittel und Zahnpulver finden sie ihren industriellen Einsatz. Der ovale Schulp sitzt mit seiner Conchagen-Oberseite direkt unterhalb der oberen Körperhaut (Abb. 3).

Neben dem Conchagen, den proteinhaltigen Muschelkollagenen, besteht der Schulp hauptsächlich aus Aragonit, einer Strukturmodifikation des Calciumcarbonats. In der Literatur wird versehentlich noch Calciumphosphat angegeben. Pulverröntgenographische Untersuchungen belegen, dass pulverisiertes Schulpmaterial zum größten Teil aus Aragonit besteht (Abb. 4). Eine geringe Magnesium-Einlagerung kann der Stabilität dienen.

Aufbau der Sepia-Schulpe

Konkav zur Oberseite verlaufen mikrometerdünne Hohlschichten, gestützt von zahllosen

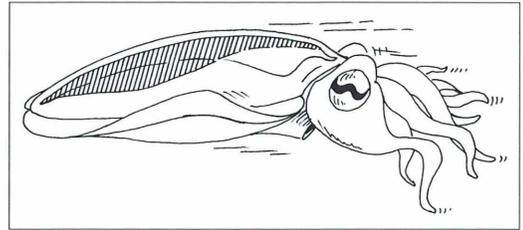


Abb. 3: Position des Schulps in der Sepia.

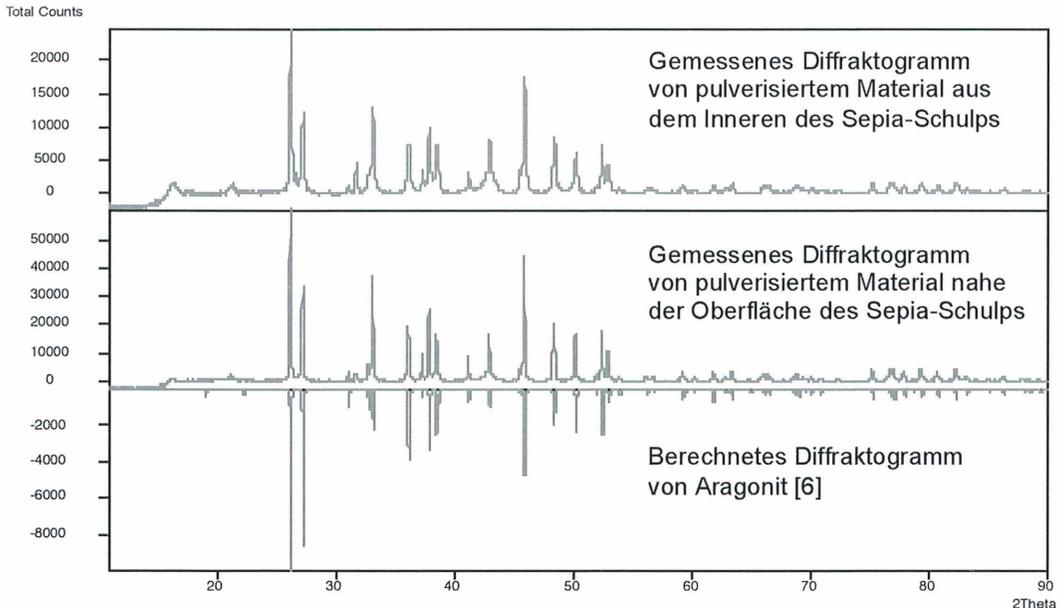


Abb. 4: Pulverröntgenographische Untersuchungen des Schulps. Vergleich der gemessenen Difraktogramme von pulverisiertem Material aus dem Inneren und Äußeren des Sepia-Schulps mit dem berechneten Difraktogramm von Aragonit.

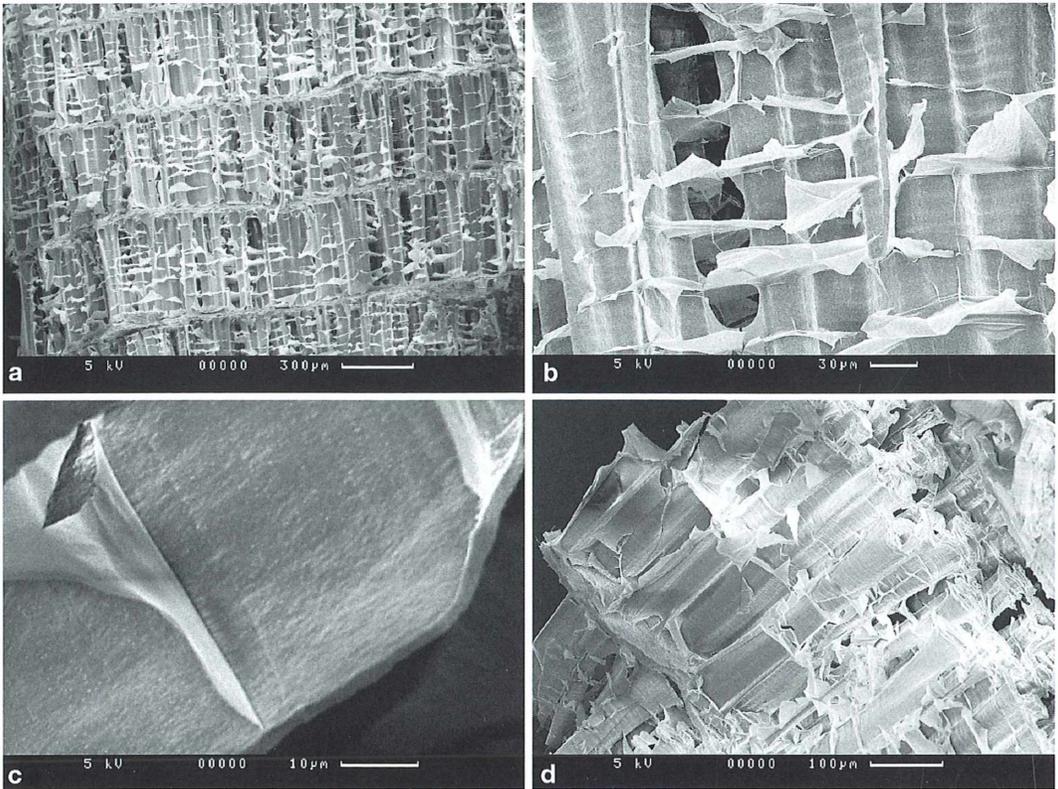


Abb. 5: REM-Aufnahmen vom Sepia-Schulp. a Verteilung der Stützlamellen, b Detail der Stützlamellen, c Detail der Aragonit-Lamelle, d Bruchbild.

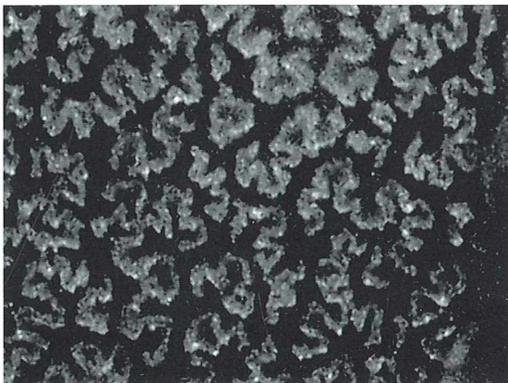


Abb. 6: Lichtmikroskopische Aufnahme vom Sepia-Schulp. Aufsicht auf stark gefaltete Pfeilerwände (200fache Vergrößerung).

von Querringen stabilisierten, konkav geformten starren Aragonit-Lamellen (Abb. 5 und 6; Kälin, 1967). Die Stützlamellen sind ebenfalls mikrometerfein aber etwa zehnmals so breit. Der Abstand der Etagendecken ist in weiten Bereichen vergleichbar groß. Er liegt bei etwa 30 bis 50 Mikrometern, der Dicke eines Menschenhaares. Sowohl in der Seitenansicht (Abb. 7) als auch im Bruchbild des Schulp (Abb. 8a) scheint die harmonische Proportion des Goldenen Schnitts (Abb. 8b) eine Rolle zu spielen (Hagenmeier, 1990). Sowohl die maximale Dicke des Schulp, als auch das Minimum der Schichten im Bruchbild sind in Richtung 62% des Gesamtausmaßes verschoben. Die im Querprofil gebogenen Kalkschichten stoßen fast im rechten Winkel auf die nach oben abdichtende Conchagen-Platte.

Damit sind die Gas-Zwischenräume, begrenzt von Lamellen gestützten Aragonit-Schichten, hermetisch nach außen hin abgeschlossen. Von unten drückt der weiche Tierkörper gegen die Lamellenkammern.

Die im Rasterelektronenmikroskop vergrößerte Bruchfläche eines Schulp erinnert an einen riesigen Gebäudekomplex, in den eine gewaltige Bombe einschlug. Die Säulenabstände verhalten sich zu ihrer Höhe wie die harmonische Relation im Goldenen Schnitt, beispielsweise 18:29 Mikrometer, entsprechend 0,62 (Hasenpusch, 2001, 2002).

Bionische Ableitungen vom Sepia-Schulp

Für die Sepien hat der Schulp vordergründig drei Funktionen: Die Schutz-, Stütz- und Tarnfunktion. Darüber hinaus lassen sich aus dem Kapillarlamellen-Aufbau auch andere technische Anwendungen ausprobieren, beispielsweise der chromatographische Effekt und die Kapillarität der Lamellen-Zwischenräume.

Schutzfunktion einer Multilamellenschicht

Die mechanische Stabilität des starren Schulp ist durch mikrometerfeine Aragonit-Lamellen sowie der Abstützung durch materialgleiche konkav geformte Lamellensäulen gegeben. In ähnlicher Weise werden Hausdecken bei der Konstruktion abgestützt. Können wir von der Verteilung und Art der Abstützung etwas lernen?

Von der ursprünglichen mechanischen Schutzfunktion des Sepia-Schulp lassen sich auch leicht Gedankensprünge zu elektrischen-, thermischen-, Strahlen-, akustischen- und anderen Schutzfunktionen unternehmen. Betrachten wir einmal beispielhaft die thermische Schutzfunktion. Im Neoprenanzug eines Sporttauchers finden wir unendlich viele statistisch verteilte Luftbläschen. Als Multilamellen-Material analog zum Aufbau der gestützten Schulp-Lamellen läge eine echte Alternative zu dem Neopren vor. Auch in der Lärmdämmtechnik verwendet man Doppelwände und dreifach verglaste Fenster, die eine höhere Isolierung gewähren als kompaktes Material. Die Multilamellen-Technik böte auch hier eine Vielfalt neuer Entwicklungsmöglichkeiten.

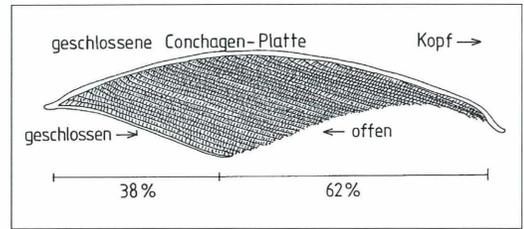


Abb. 7: Aufbau der Sepia-Schale nach dem Goldenen Schnitt.

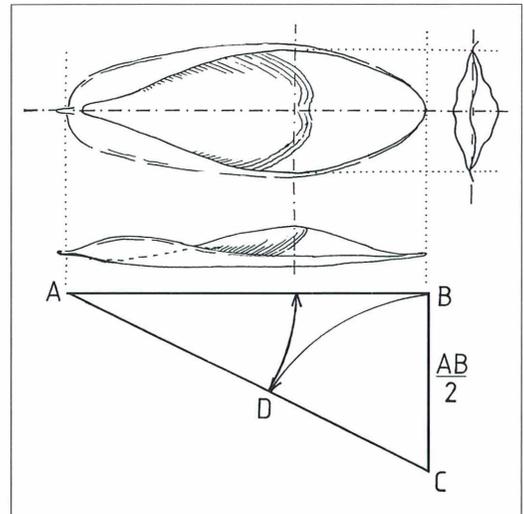


Abb. 8: a Querschnitt durch einen Schulp (Blick auf das Vorderteil). b Zuordnung des Schulp-Profils zum Goldenen Schnitt.

Stützfunktion einer Multilamellenschicht

An dem Schulp hängt der Sepia-Körper, gestützt wie von einem Knochengerüst oder von einem Lineal im Rücken wie bei den Kalmaren. Mit der Lamellenstruktur sind hohe Stabilitäten bei minimalem Materialaufwand möglich. Zum Beispiel lassen sich Alternativen zu Wellpappe und Sandwich-Folien vorstellen, bei denen die Papier- oder Kunststoff-Folien durch Sägemehl, Glas- oder Kunststoff-Fasern oder ähnlichem Mikro-, Nano-, oder Femtomaterial gestützt werden.

In gefalteter oder gerollter Form lässt sich die Stabilität noch erhöhen.

Tarierfunktion einer Multilamellen-schicht

Offensichtlich schwitzt die Sepia in höheren Tauchtiefen Wasser aus, das von ihrem evakuierten Lamellenkörper leicht über Kapillarkräfte aufgenommen wird. Dieser Vorgang läuft, nach den Implosionsversuchen zu urteilen, bei denen Sepien innerhalb einiger Stunden in 200 bis 1000 Metern Tiefe barsten, nur sehr langsam ab. Entsprechend lässt sich vorstellen, dass der Auftrieb durch Einleiten von Gas, etwa Kohlendioxid aus der Atmung, und Absaugen des Wassers wieder eingeleitet wird.

Vielleicht lassen sich auf diese Weise auch Tauchanzüge konstruieren, sozusagen in Multilamellen-Struktur. In diese Anzüge könnte die Druckluft dann direkt, in Analogie zu einem Trockentauchanzug, in einige Zwischenschichten eintariert werden. Eine Tarierweste oder ein Jacket wäre dann überflüssig oder könnte andere Funktionen übernehmen.

Andere Funktionen einer Multilamellen-schicht

Der Schulpkörper ist nur an einer Seite, der zum Körper des Tieres hingerrichteten Seite, offen. Soll die Kapillarität ausgenutzt werden, muss die geschlossene runde Vorderseite gekappt werden. Dann ist die hohe Saugkraft des offenen Multilamellenkörpers zu erleben.

Auch ein Chromatographieren von Lösungen mit unterschiedlichen Stoffen ist möglich. So lässt sich beispielsweise an einer Permanganatlösung sehr gut das Ansteigen der violetten Lösung zeigen, der eine wasserhelle Zone vorseilt.

Zusammenfassung

Bionische Objekte sind bereits in großer Fülle bekannt. Noch mehr aber warten darauf, aus ihrem Dornröschenschlaf der Jahrtausende geweckt zu werden. Die bekanntesten Beispiele stehen dafür Pate. Besonders in den Ozeanen, der Geburtsstätte unseres gesamten Lebens, hat die Evolution die längste Zeit gehabt, ihre Funktionen optimal an die Bedürfnisse anzupassen. An dem Beispiel des Sepia-Schulps erleben wir erneut, welche zahlreiche technische Verbesserungen sich von ihnen ableiten lassen. Multilaminatschichten mit Dutzenden von Folien, auf Abstand gehalten, mit Luft, Gas, Flüssigkeiten dazwischen: Daraus lassen sich viele Ideen ableiten. Aus einer Entdeckung können auf diese Weise viele patentfähige Muster und Erfindungen geschaffen werden.

Literaturhinweise

- Hagenmeier, O.: Der Goldene Schnitt. Augustus Verlag, Augsburg 1990.
- Hasenpusch, W.: Der Goldene Schnitt – Bionik-Formel der Harmonie. CLB 1, 369 (2001).
- Hasenpusch, W.: Der Goldene Schnitt – Maritime Harmonie. CLB 2, 52 (2002).
- Jarosch, D., Heger, F.: Tschermaks Mineralogische und Petrographische Mitteilungen. TMPM 35, 127–131 (1986).
- Kälin, I.: Ein wunderwerk der Statik: Der Schulp des Tintenfisches. Mikrokosmos 56, 230–238 (1967).
- Norman, M.: Tintenfisch Führer. Jahr Verlag, Hamburg 2000.
- Ward, P. D., Boletzky, S.: Shell implosion depth and implosion morphologies in three species of sepia (Cephalopoda) from the Mediterranean sea. J. mar. biol. Ass. U.K. 64, 955–966 (1984).

Verfasser: Prof. Dr. Wolfgang Hasenpusch und Diplom-Chemiker Torsten Zaiß, Universität Siegen, FB 8: Anorg. Chemie, Adolf-Reichwein-Straße, D-57068 Siegen

Neue Medien

Zieralgen-Homepage von R. Lenzenweger

Der Zieralgenspezialist Rupert Lenzenweger gibt auf seiner Homepage (<http://home.t-online.de/home/Zieralgen/>) umfangreiche Informationen zu Zieralgen (Des-

midiaeen). Angefangen von der Darstellung der Morphologie und Taxonomie, Vermehrung, Ökologie und Verbreitung, liefert er in neun Tafeln Abbildungen dieser hübschen Algen. Etwa 200 der in Mitteleuropa häufigsten Arten werden vorgestellt. Bei etlichen kann man durch Anklicken der

Abbildung weitere Informationen erlangen, die zusammen mit den Bildern eine wertvolle Hilfe bei der Bestimmung der Desmidiaeen bieten. Ein Glossar und Literaturhinweise vervollständigen die Informationen.

Redaktion MIKROKOSMOS

Gläschen im Schlauch

Norbert Gregor Günkell

Für viele protozoologische und limnologische Aufwuchsuntersuchungen ist es notwendig, Proben aus Gewässern aller Art zu gewinnen. Für die Methode gibt es etliche Vorschläge, die meist einen relativ hohen apparativen Aufwand treiben. Hier wird ein Vorschlag präsentiert, der die technischen Hilfsmittel auf ein Minimum reduziert, einfach zu handhaben und dennoch Praxis tauglich ist.

Die übliche Methode zur Probengewinnung ist es, Objektträger an Hilfsgestellen in das Gewässer einzubringen (Drews, 1986). Die Benutzung von Objektträgern besitzt den Vorteil, dass sie selbst recht stabil sind, bei der Weiterverarbeitung also wenig Probleme bereiten. Weil aber die ganze Oberfläche von den Mikroorganismen besiedelt werden kann, muss anschließend eine große Fläche bearbeitet werden. Für Lebendbeobachtungen mag das noch angehen – bei der Herstellung von Dauerpräparaten bringt es Probleme mit sich, es sei denn, man verwendet Deckgläschen in der Größe der Objektträger. Oder man ist bereit, einen Teil des Bewuchses zu opfern.

Herstellung von Deckglaspräparaten

Für die Präparation sind Deckgläschen erheblich leichter zu handhaben. Ihre gesamte Fläche kann mühelos präpariert werden. Mit den herkömmlichen Gestellen sind sie allerdings kaum in ein Gewässer einzubringen. Einerseits sind die Halteklammern meist zu kräftig oder der beliebte Kork ist nicht das richtige Medium, um die zarten Gläschen einzuklemmen, andererseits beanspruchen die Klemmflächen auch zu große Teile des Deckgläschens. Eine verbreitete Methode ist deshalb, sie auf die Oberfläche eines Mikro-Aquariums zu legen (Lenzenweger, 1979). Aber dieser Lebensraum ist ja nicht immer Gegenstand der Untersuchung. Deckgläser ohne irgendeine Vorrichtung wird man schon in einem mittelgroßen Aquarium kaum noch wiederfinden, von einem freien Gewässer ganz zu schweigen. Deshalb habe ich eine andere Technik entwickelt. Bei mir werden die Deckgläschen in ein Stück Aquarienschlauch eingeklemmt.

Die Technik ist denkbar einfach. Wir brauchen ein Stück Aquarienschlauch mit einem Durchmesser von sechs Millimetern. Da es sich um ein Standard-Ausrüstungsteil handelt, ist es in jedem Aquarien-Fachgeschäft als Meterware zu bekommen. Je nach Untersuchungszweck kann man sich die Stücke in der gewünschten Länge abschneiden. So ist es zum Beispiel auch möglich, lange Stücke für Schichtuntersuchungen im Gewässer zu erhalten, die man zwecks Streckung am unteren Ende mit einem kleinen Stein beschweren kann. Leichter zu handhaben sind kürzere Stücke von vielleicht sechs bis zehn Zentimetern Länge. Dieser Aquarienschlauch bietet zwei große Vorteile: Er ist logischerweise absolut unempfindlich gegen das Aquarienwasser, und er gibt keine Stoffe an seine Umgebung ab. Die Vorrichtungen mit den Deckgläschen können also beliebig lange im Becken (oder in anderen Gewässern) bleiben.

In das Schlauchstück werden im Abstand von zwei Zentimetern kleine Schnitte angebracht, für die ein sehr scharfes Messer, am besten eine Rasierklinge oder ein Skalpell, benutzt werden sollte, damit die Schnitte nicht auseinander klaffen. Den Schlauch darf man natürlich nur bis zur Hälfte seines Durchmessers einritzen (Abb.1). An einem Ende mache ich dann einen weiteren kleinen Einschnitt. Dort befestige ich mit einem simplen Knoten eine dünne Nylonsehnur, die zuvor durch den gesamten Schlauch geführt worden ist (Abb. 2). Diese Schnur macht es möglich, die Vorrichtung mit trockenen Händen ins Becken zu bringen und wieder zu entnehmen. Außerdem kann man die Vorrichtung damit in jeder beliebigen Höhe im Gewässer verankern oder einfach bis auf den Boden gleiten lassen. Während man die Schnur am Aquarium einfach mit einem Stück Tesafilm am Beckenrand festklebt, wird man beim freien Gewässer zu einem Stück Kork greifen, um den

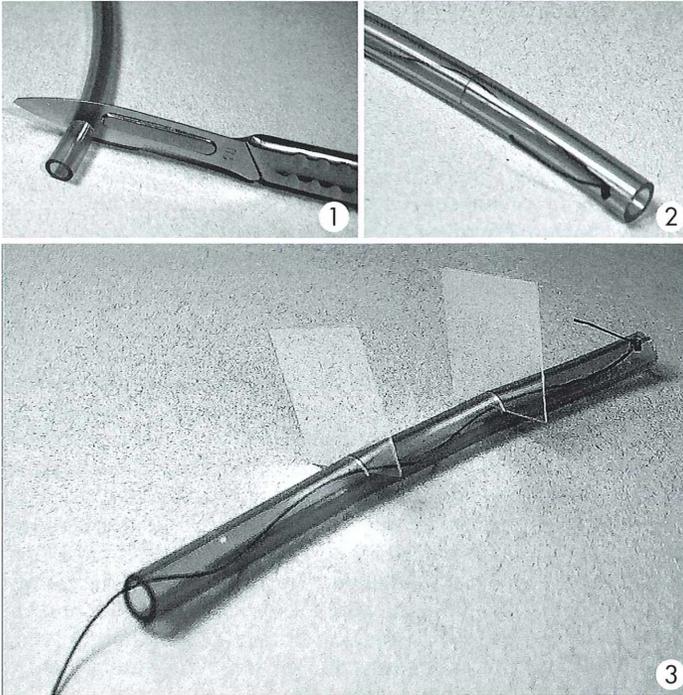


Abb. 1: Mit einem Skalpell oder einer anderen scharfen Klinge werden die Schnitte im Aquarienschlauch angebracht. – **Abb. 2:** Mit einem Knoten kann eine dünne Nylonschnur (hier aus Sichtbarkeitsgründen ersetzt durch einen Bindfaden) am Schlauch befestigt werden. Sie erlaubt eine leichtere Handhabung. – **Abb. 3:** Vorsichtig müssen die Deckgläschen in den Schlauch eingeklemmt werden.

Schlauch in Position zu halten. Der Korken wird einfach an der Schnur festgebunden.

In jedem Einschnitt werden nun zwei Deckgläschen Rücken an Rücken eingeklemmt (Abb. 3). Dazu muss man den Schlauch vorsichtig (!) etwas aufbiegen. Anfangs werden ein paar Deckgläschen zwischen den Fingern zerbrechen, aber die notwendige Fertigkeit ist schnell erreicht. Natürlich muss man beim Einbringen ins Gewässer Vorsicht walten lassen, denn die Deckgläschen bringen nicht die Haltbarkeit von Objektträgern mit, wie jeder Mikroskopiker weiß. Das waren schon die gesamten Vorbereitungen – die Deckgläschen können jetzt in das Gewässer eingebracht werden. Es empfiehlt sich, für eine neue Untersuchungsreihe jeweils ein neues Stück Schlauch zu benutzen, um Materialermüdungen vorzubeugen.

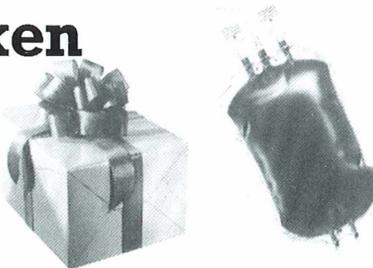
Für die Untersuchung unter dem Mikroskop entnimmt man die gewünschte Zahl von Deckgläschen aus dem Schlauch und legt sie jeweils mit der besiedelten Seite auf einen Objektträger. Werden Dauerpräparate gewünscht, stehen die Deckgläschen für die gängigsten Präparationsmethoden zur Verfügung.

Literaturhinweise

- Drews, R.: Kleingewässerkunde. Eine praktische Einführung in die Welt der Tümpel und Teiche. Quelle und Meyer, Heidelberg 1986.
 Lenzenweger, R.: Mit dem Deckglas auf Protistenfang. Mikrokosmos 68, 162-165 (1979).

Verfasser: Norbert Gregor Günk, Rudloser Straße 59, D-36367 Wartenberg, e-mail: nguenkel@aol.com

**Schenken
mit
Herz.**



Eine Gabe von Mensch zu Mensch. Mit Geld nicht zu bezahlen. Erste Hilfe für große Not.

Ihr Blut rettet Leben.

Tausend Dank.

Weitere Informationen und Termine zur Blutspende bei Ihrem Roten Kreuz.

**KOMM MIT!
SPENDE
BLUT**
BEIM ROTEN KREUZ

Beobachtungen zur Biologie des Süßwasserpolyphen *Hydra viridissima*. 2. Teil: Praktische Anleitungen, Verhalten und Beutefang

Matthias Haas

Nachdem im ersten Teil dieses Berichtes ein Überblick zur Anatomie, Morphologie und Lebensweise von *Hydra* gegeben wurde, sollen nun praktische Hinweise zur Zucht von Süßwasserpolyphen vorgestellt werden. Weiterhin werden Studien zum Bewegungsverhalten und zur Nahrungsaufnahme beschrieben.

Bei einer gezielten Suche nach dem grünen Süßwasserpolyphen hat es sich am günstigsten erwiesen, Teile von Wasserpflanzen der Flachwasserzone verschiedener Kleingewässer in Einmachgläsern oder Ähnlichem nach Hause zu bringen. Werden die Gläser eine Zeit lang ruhig stehen gelassen, so sammeln sich die Polypen an den Glaswänden. Auf diese Weise lässt sich *Hydra viridissima* vor allem in den Sommermonaten sammeln.

Beschaffung

Anfang Juli konnte ich auf den Trieben einer Wasserpestpflanze zahlreiche grüne Hydren finden. Problematisch ist eine solche Beschaffung jedoch im Herbst, Winter und Frühjahr, denn zu diesen Jahreszeiten gedeihen Polypen witterungsbedingt nur noch vereinzelt. Werden in diesen Monaten Hydren benötigt, empfiehlt sich eine Anfrage beim Biologie-Lehrmittelhandel. So hat A. Schlüter Biologie in 71349 Winnenden *Hydra* Lebendmaterial in seinem Programm (Kat. Nr. 2735 Süßwasserpolyph, *Hydra*).

Zuchtmethoden

Um *Hydra viridissima* dauerhaft und in größeren Mengen kultivieren zu können, sollten die Tiere in größere Glasgefäße oder in ein kleines Aquarienbecken umgesetzt werden. Zum Umsetzen bedient man sich einer Pasteurpipette, die mit ihrer lang ausgezogenen Spitze ein koordiniertes Ablösen der Tierchen von der Glas-

wand ermöglicht, ohne sie dabei zu verletzen. Haften die Polypen zu fest am Substrat, kann man die Fußscheibe der Hydren vorher mit einer lanzettförmigen Präpariernadel vorsichtig vom Untergrund lösen. Nach meiner Erfahrung eignet sich filtriertes Teichwasser am besten als Kulturlösung. Ist das Wasser geruchsfrei, so schadet auch eine nach der Filtration verbliebene, leicht grünliche bis bräunliche Trübung den Polypen nicht. In den meisten Fällen nimmt *Hydra viridissima* auch Regenwasser nach einer kurzen Eingewöhnungsphase als Lebensraum an. Abzusehen ist aber von einer Kultivierung in Leitungswasser, da die Tiere in ihm meist innerhalb von 36 Stunden zu Grunde gehen. Die Idealtemperatur des Wassers, die das ganze Jahr über beibehalten werden kann, bewegt sich zwischen 16 °C und 22 °C. Gerade *Hydra viridissima* mit ihren symbiontischen Grünalgen sollte an einem hellen Standort gehalten werden, ohne jedoch ständig dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt zu sein. Nach meinen Beobachtungen ist weder ein Einsetzen von Wasserpflanzen in das Kulturgefäß noch eine Durchlüftung der Kulturlösung nötig. Man sollte jedoch darauf achten, das Gefäß mit einer Glasplatte abzudecken, um es vor einer übermäßigen Kontamination durch Staub und Mikroorganismen zu schützen. Andernfalls bildet sich auf der Wasseroberfläche relativ schnell eine bakterielle Kahmhaut, die zum Absterben der Polypen führen kann. Die Nahrungsquelle der Polypen in meiner *Hydra*-Population stellen die Naupliuslarven des Salinenkrebsses *Artemia salina* dar. Diese sind zu jeder Jahreszeit leicht und schnell zu züchten. Die im Zoohandel erhältlichen

Artemia-Eier werden hierzu in eine mit einer Aquariumpumpe durchlüftete Waschflasche gegeben, die mit einer 2–4%igen Salzlösung gefüllt ist. Bei Temperaturen von mindestens 18 °C schlüpfen die Naupliuslarven innerhalb von 24 bis 36 Stunden. Diese werden mit einem feinmaschigen Planktonnetz vom Salzwasser getrennt und kurz mit Leitungswasser gespült. Mit einer Pipette können sie dann in die Polypen-Kulturlösung überführt werden, wo sie lebhaft umherschwimmen und schließlich von den Hydren gefangen werden.

Man muss darauf achten, nicht zu viele Nauplien zu verfüttern, um das Wasser nicht unnötig zu verunreinigen. Der Boden des Zuchtgefäßes sollte täglich mit der Pipette von toter organischer Substanz gereinigt werden. Eine vollständige Reinigung der Gefäßwände und ein Wasserwechsel ist alle vier bis sechs Wochen erforderlich. Vorher werden die Hydren aus dem Kulturgefäß in ein Übergangsgefäß pipettiert. Das neue Wasser sollte möglichst aus dem gleichen Gewässer wie das alte stammen und die gleiche Temperatur haben.

Untersuchungsmethodik

Da die grünen Hydren schon makroskopisch relativ leicht zu erkennen sind, können einzelne Tiere zur mikroskopischen Betrachtung ausgewählt werden. Diese werden zusammen mit viel Wasser auf einen Objektträger übertragen. Damit die Tiere beim Auflegen des Deckglases nicht zerquetscht werden, muss dieses mit Wachsfüßchen versehen sein. Zur Beobachtung eignet sich ein trinokulares Schulmikroskop mit einem senkrechten Tubus zur Befestigung einer Spiegelreflex- oder Videokamera. Neben der Hellfeldbeobachtung erweist sich bei *Hydra viridissima* die kontrastreiche Dunkelfeldbeleuchtung als sehr nützlich. Eine Phasenkontrasteinrichtung erweitert die Beobachtungsmöglichkeiten auf zellulärer Ebene.

Möglichkeiten der Beobachtung und Auswertung

Will man sich mit den Merkmalen und Verhaltensweisen von *Hydra viridissima* auseinandersetzen, so eröffnen sich zahlreiche Möglichkeiten der Untersuchung. Einen ersten Schritt stellt die aufmerksame Beobachtung des Tieres

auf makroskopischer und mikroskopischer Ebene dar. Bei der Dokumentation des Gesehenen spielt die mikroskopische Zeichnung eine wichtige Rolle; durch sie wird der Blick auf bisher ungesehene Details gelenkt. Exakter als eine Skizze ist die Mikrofotografie. Da es sich bei der Biologie von *Hydra viridissima* vorwiegend um dynamische Vorgänge handelt, können die vorgenommenen Lebenduntersuchungen mit großem Gewinn auch filmisch dokumentiert werden.

Verhalten als halbsessiler Organismus

Die Verhaltensbiologie betrachtet *Hydra viridissima* als halbsessilen Organismus, der sich zwar längere Zeit an einem bestimmten Ort aufhält und dort charakteristische Bewegungsmuster zeigt, in unregelmäßigen Zeitabständen aber neue Standorte aufsucht.

Befestigung

Betrachtet man die Tiere einer *Hydra*-Population, so haften die meisten Polypen mit der Fußscheibe am Substrat. Ich konnte beobachten, dass den Fußscheiben mancher Polypen Detrituspartikel anhaften, was auf die Ausscheidung klebriger Sekrete schließen lässt. Im natürlichen Lebensraum sitzen die Hydren, wie eingangs schon erwähnt, oft Wasserpflanzen auf. Kurioserweise habe ich auch auf dem Gehäuse einer kleinen Wasserschnecke einen grünen Polypen angetroffen, der sich dort drei Tage lang gehalten hat (Abb. 1).

Im Zuchtgefäß einer Polypenkultur bieten sich den Polypen im Allgemeinen drei Befestigungsmöglichkeiten: der Boden und die Wand des Gefäßes, sowie die Wasseroberfläche, an der sie sich kopfunter aufhängen können. Hierbei bietet sich die Möglichkeit der vergleichenden Auswertung des Verteilungsmusters auf die verschiedenen Befestigungsorte. Für diesen Zweck ist es sinnvoll, als Vergleichsgröße die Polypenbeziehungsweise Besiedlungsdichte zu verwenden, die Polypenanzahl und besiedelte Fläche in Relation zueinander stellt. Die durchschnittliche Polypendichte in einer gut versorgten Kultur liegt nach meinen Berechnungen bei 0,9 bis 1,5 Polypen pro cm² (P/cm²). An einzelnen Stellen kann die Polypendichte einen Spitzenwert von 35 P/cm² erreichen.

Auffällig ist, dass die Besiedlungsdichte an der dem Licht zugewandten Gefäßwand um zirka das Sechsfache größer ist als an der dem Licht abgewandten Seite (Abb. 2). Dies lässt eine positive Phototaxis von *Hydra viridissima* vermuten. Außerdem stellt man fest, dass sowohl auf der hellen als auch auf der dunklen Gefäßwand ein Besiedlungsgefälle von oben nach unten vorliegt; 30 bis 40% der Tiere einer Wand befestigen sich im oberen Siebtel der Fläche. Eine Begründung für dieses Verhalten stellt möglicherweise der erhöhte Sauerstoffgehalt der oberen Wasserschichten dar.

Um ein objektives Maß der Besiedlung der Wand, des Bodens und der Wasseroberfläche eines Gefäßes zu erhalten, werden die Populationsdichten der einzelnen Flächen prozentual in Relation zueinander gesetzt (Abb. 3). Ich konnte feststellen, dass der Gefäßboden die am dichtesten besiedelte Fläche darstellt. Der Anteil der Tiere unterhalb der Wasseroberfläche ist dagegen weitaus geringer. Die Wandflächen gewinnen bei höheren Gesamtpopulationsdichten zunehmend an Bedeutung, während sich gleichzeitig die Besiedlung der Wasseroberfläche ausdünn.

Bewegungsmuster

Grundsätzlich lassen sich bei einem Polypen die zwei Bewegungsmuster Kontraktion und Expansion verfolgen. Die Kontraktion kann sowohl kontinuierlich als auch schrittweise ab-

laufen. In beiden Fällen verdickt sich der Polypenrumpf, wobei die Tentakel in die Bewegung miteinbezogen werden und ihrerseits vom Mundfeld aus kontrahiert werden. In Abhängigkeit der Kontraktionsstärke nimmt die *Hydra* tropfen- bis kugelförmige Gestalt an.

Kontraktionen können sowohl spontane Verhaltensaüßerungen als auch koordinierte Reizreaktionen darstellen. Die anschließende Expansion läuft antagonistisch zur Kontraktion ab. Zunächst werden hierbei die Tentakel tastend ausgestreckt. Stellt sich ihnen kein Hindernis in den Weg, so streckt sich auch der Rumpf. Die Suchbewegungen, welche die Dilatation des Tieres begleiten, gehen hauptsächlich vom Mundfeld aus.

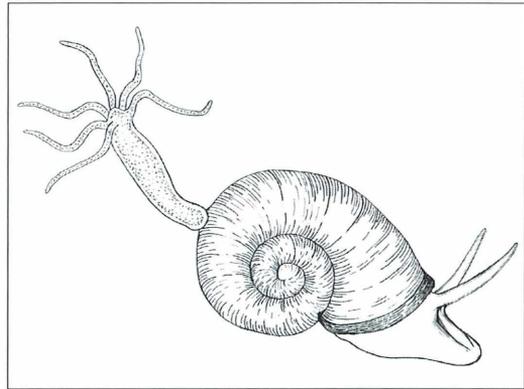


Abb. 1: Vergesellschaftung einer *Hydra viridissima* mit einer Wasserschnecke.

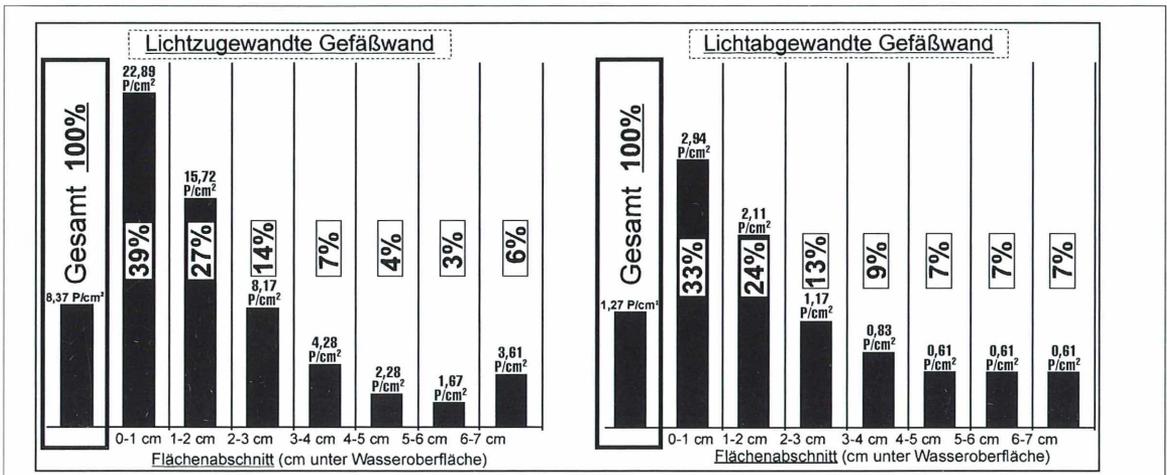


Abb. 2: Verteilung von Polypen an der beleuchteten und unbeleuchteten Wandfläche des Kultur-

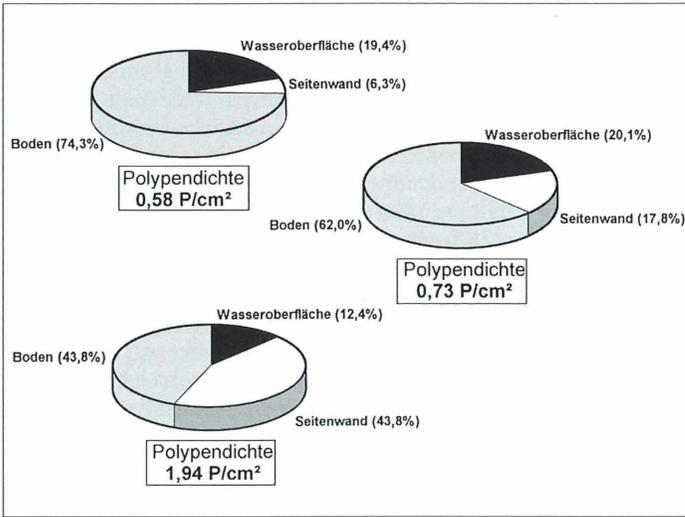


Abb. 3: Prozentuale Verteilungen von Polypen in Relation zur vorhandenen Fläche des Kulturgefäßes.

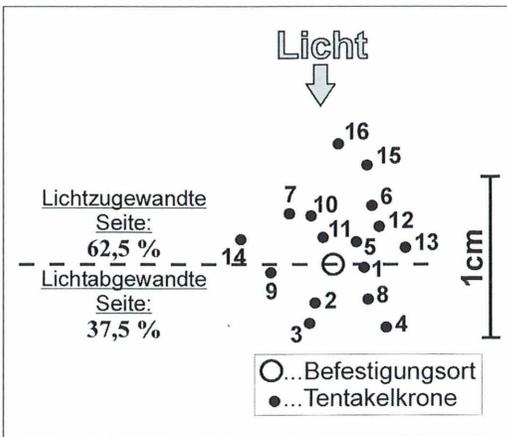


Abb. 4: Bewegungen eines Polypen um seinen Befestigungsort unter einseitiger Beleuchtung. Die Aufenthaltsorte wurden 15 Minuten lang jede Minute registriert.

Durch Kombination von Zusammenziehen und Strecken verbunden mit kleinen Richtungsänderungen kann *Hydra viridissima* den sie umgebenden Wasserraum absuchen. Häufig wird ein solches Absuchen auch durch langsam kreisende Bewegungen um die Anheftungsstelle vollzogen. In beiden Fällen erfolgen nach jeder Teilbewegung zufällige Drehungen, so dass der gesamte umgebende Wasserraum erfasst wird (Abb. 4).

Ortsbewegung

In variablen Zeitintervallen, die sicherlich von einer Vielzahl endogener und exogener Faktoren abhängen, verlässt ein Polyp aktiv oder passiv seinen Standort.

Bei der aktiven Lokomotion werden die Tentakel zu Haftorganen, indem sie zunächst lang ausgestreckt werden, bevor einige von ihnen wie Tauen am Substrat verankert werden. Durch Kontraktionswellen, die vom Mundfeld ausgehen, wird die Fußscheibe vom Untergrund gelöst. Diese sucht die Umgebung mit tastenden Bewegungen nach einem neuen Befestigungsort ab, wobei sich der Polypenkörper U-förmig krümmt. In der Literatur wird in diesem Zusammenhang zwischen purzelbaum- und spannerraupeartiger Lokomotion unterschieden, je nachdem, ob sich die Fußscheibe außerhalb oder zwischen ursprünglichem Standort und festgeheftetem Tentakelkranz befestigt (Abb. 5). Aufgrund meiner Beobachtungen halte ich beide Arten nur für Variationen des selben Bewegungsablaufs. Besonders in der experimentellen Situation, wenn der Polyp zwischen Deckglas und Objektträger nur einen begrenzten Bewegungsspielraum hat, verwischen sich die Unterschiede einer solchen Differenzierung. Der Polyp visiert beim Lösen der Fußscheibe noch keinen vorbestimmten neuen Anheftungsort an. Hat er sich dann mit der Fußscheibe verankert, löst er die Tentakel und streckt sich wieder. Nun kann der Bewegungs-

ablauf von Neuem beginnen. Auf diese Weise kann ein Polyp bis zu sieben Zentimeter pro Stunde zurücklegen.

Indem ich diese aktiven, lokomotorischen Bewegungen über einen längeren Zeitraum hinweg beobachtet und in regelmäßigen Zeitabständen den Standort der Polypen notiert habe, konnte ich die Vermutung einer positiven Phototaxis von *Hydra viridissima* bestätigen (Abb. 6). Wenn auch bei manchen Polypen dieses Verhalten weniger stark ausgeprägt ist, so findet doch nie eine längerfristige Abwanderung in dunklere Habitatbereiche statt. In diesem Zusammenhang konnte ich feststellen, dass die beschriebenen Suchbewegungen auch Orientierungscharakter besitzen, so dass sich der Polyp nach einigem Hin- und Hertaften meist in Richtung des Lichtes ausstreckt (Abb. 4). Die Phototaxis erweist sich für den Polypen in zweierlei Hinsicht als nützlich; zum einen wird so die Photosyntheserate der symbiontischen Algen erhöht, wovon sicherlich auch der Polypen profitiert, zum anderen halten sich viele Beutetiere bevorzugt im Hellen auf, was den Beutefang erleichtert.

Neben diesen aktiven Ortsveränderungen kann ein Polyp seinen Standort auch passiv wechseln. Oben wurde schon das Einzelbeispiel einer temporären Vergesellschaftung mit einer Wasserschnecke angeführt. Eine weit wichtigere Bedeutung kommt der Fähigkeit einer *Hydra* zu, an ihrer Fußscheibe eine Gasblase abzusondern. Dadurch kann der Polyp vom Habitatboden zur Wasseroberfläche aufsteigen. Oben angelangt kann er zwar aktiv an Oberflächenfilm gleiten, meist lässt er sich jedoch kopfunter treiben. Durch Wasserbewegungen kann der Polyp so unter minimalem Energieverbrauch weite Strecken zurücklegen. In Hungerphasen etwa steigt ein Großteil der Polypen zur Wasseroberfläche auf. Diese Tiere können dann durch Strömungen in nahrungsreichere Bereiche getrieben werden. Wenn ein Polyp wieder zu Boden schwebt, verlangsamt er diese Bewegung durch Ausstrecken der Tentakel.

Ernährung

Der Forscher Abraham Trembley hat die Süßwasserpolyphen 1744 als Blumentierchen bezeichnet. Diese Namensgebung könnte leicht darüber hinwegtäuschen, dass es sich bei *Hydra viridissima* um ein gefährliches Raubtier han-

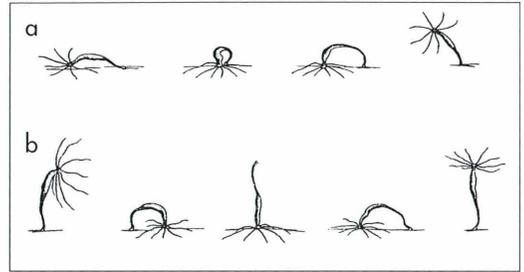


Abb. 5: Ortsbewegung von *Hydra*; spannerartige (a) und purzelbaumartige (b) Bewegung (nach Steche, 1911).

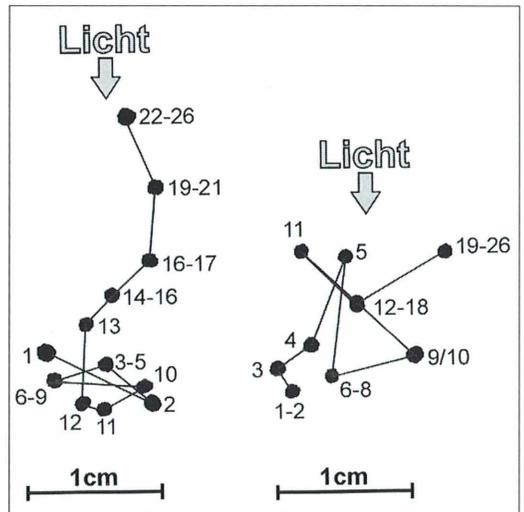


Abb. 6: Aktive Ortsbewegungen eines Polypen innerhalb von 250 min. Der Standort der Fußscheibe wurde alle 10 min registriert.

delt, das Lebewesen überwältigen kann, die ihm an Größe und Organisation weit überlegen sind. Die Beute der *Hydra viridissima* besteht in der freien Natur vornehmlich aus Kleinkrebschen, wie etwa Wasserflöhen (Abb. 7). Weiter oben wurde schon erwähnt, dass für die Polypenkultur zu Hause die Fütterung mit Salinenkrebse (Abb. 8) am geeignetsten ist.

Beutefang mithilfe von Nesselzellen

Zur zytologischen Untersuchung der Nematocysten habe ich Quetschpräparate einzelner

Tentakelspitzen hergestellt. Diese wurden vorher mit einer scharfen Rasierklinge von einem ausgestreckten Polypen abgetrennt, der sich in einem Wassertropfen auf einem Objektträger

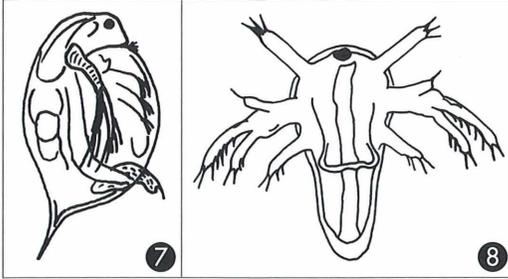


Abb. 7 und 8: Futterorganismen für *Hydra*. – Abb. 7: Wasserfloh *Daphnia magna* (nach Streble und Krauter, 2002). – Abb. 8: Junge Nauplius-larve des Salzkrebschens *Artemia salina*.

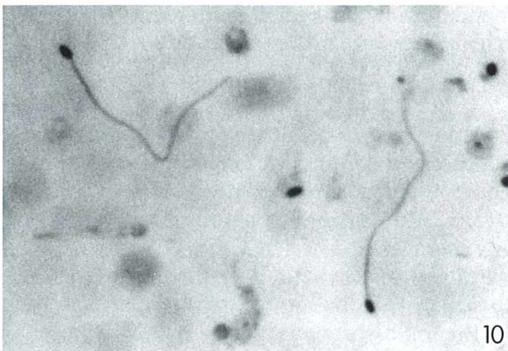
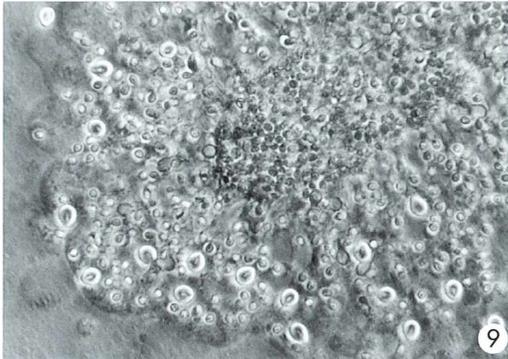


Abb. 9: Quetschpräparat einer Tentakelspitze mit Nesselkapseln und symbiontischen Algen. Phasenkontrast, Vergr. 400fach. – Abb. 10: Entladene Isorhizen. Färbung mit Methyleneblau, Vergr. 400fach.

befand. Bei der mikroskopischen Betrachtung sollte mindestens mit 40facher Objektivvergrößerung gearbeitet werden. Bei allen Untersuchungen muss darauf geachtet werden, dass das Präparat nicht austrocknet. Die Fotoaufnahmen zeigen, dass sich die Nesselkapseln in der Außenschicht der Tentakel befinden (Abb. 9). Besonders auffällig treten die Stenotelen (Durchschlagkapseln) hervor. Unscheinbarer sind dagegen die Desmonemen (Wickelkapseln) und Isorhizen (Klebkapseln). Bei stärkerer Quetschung werden sie aber entladen und man erkennt die Desmonemen mit ihrem spiralförmigen Faden und die Isorhizen mit ihrem langen Klebfaden (Abb. 10). Letztere werden noch anhand der Anordnung des unentladenen Nesselfadens in atriche und holotriche Isorhizen unterteilt. Beide werden vornehmlich zur vorübergehenden Anheftung bei der Fortbewegung eingesetzt (Storch und Welsch, 1999).

Lohnend ist es auch, eine *Artemia*-Larve, die sich schon in den Fangarmen eines Polypen befunden hat, zu mikroskopieren. Durch diese Präparate bekommt man Einsicht in die Funktionen der Nematocyten beim Beutefanggeschehen. Die Stenotelen sind hauptsächlich an der Chitinhaut des Beutetieres zu finden, die sie mit ihrem dornenbewehrten Hals durchschlagen haben. Desmonemen dagegen wickeln sich um die Borsten der *Artemia*-Larve.

Ablauf von Beutefang und Nahrungsaufnahme

Beim Beutefang lauert *Hydra* mit lang ausgestreckten Tentakeln auf Beutetiere (Abb. 11). Berührt ein solches Beutetier zufällig einen

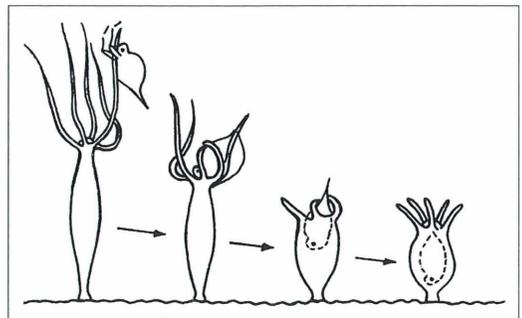


Abb. 11: Ablauf der Nahrungsaufnahme beim Süßwasserpolygon (nach Tardent, 1988).

Fangarm, beobachtet man eine fast augenblickliche Lähmung. Diese ist auf die mit Gift gefüllten Stenotelen zurückzuführen (Storch und Welsch, 1999). In manchen Fällen kann sich ein größerer Wasserfloh noch befreien, wobei er einige Tentakel vom Polypenkörper wegrißt. Diese werden dann in wenigen Tagen nachgebildet. Meist verfängt sich das Tier durch seine agonistischen Zuckungen in weiteren Tentakeln und bleibt schließlich regungslos an den Fangarmen hängen. Die Beutereize rufen beim Polypen ein Einkrümmen der Tentakel zum Hypostom hin hervor. Dabei wird das Nahrungsobjekt zum geöffneten Mund bewegt, von dem es langsam verschlungen wird. Bemerkenswert ist, dass die Fangarme nicht direkt am Einschleiben der Beute beteiligt sind, sondern die Vergrößerung der Mundöffnung unterstützen, indem sie sich nach hinten biegen und in dieser Position reglos verharren. Erst wenn die Beute beinahe ganz verschlungen wurde, strecken sich die Tentakel und beginnen mit unkoordiniertem Abbiegen und Abknicken ihrer Spitzen zur Mundöffnung hin. Dadurch wird die Beute vollständig in den Gastralraum befördert und die Mundöffnung schließt sich. Die anschließende Verdauung wird durch peristaltische Kontraktionsbewegungen unterstützt. Nach einigen Stunden erfolgt die Abgabe der

unverdaulichen Reste. Ein Polyp kann durchaus mehrere Beutetiere gleichzeitig fangen und dann nacheinander verschlingen, die dann regelrecht übereinander gestapelt im Gastralraum erkennbar sind. Ab einer gewissen Futtermenge zeigt der Polyp aber Sättigungserscheinungen, indem sich die Fangarme verkürzen und ihre Suchbewegungen einstellen. Dieser Zustand hält dann noch einige Stunden nach der Nahrungsaufnahme an.

Literaturhinweise

- Steche, O.: *Hydra* und die Hydroiden. Monographien einheimischer Tiere, Band 3. Verlag Dr. Werner Klinkhardt, Leipzig 1911.
- Storch, V., Welsch, U.: *Kükenthal – Zoologisches Praktikum*, 23. Aufl. Spektrum Akademischer Verlag, Stuttgart 1999.
- Streble, H., Krauter, D.: *Das Leben im Wassertropfen. Mikroflora und Mikrofauna des Süßwassers. Ein Bestimmungsbuch*, 9. Aufl. Franckh-Kosmos Verlag, Stuttgart 2002.
- Tardent, P.: *Hydra*. Veröffentlichungen der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich. Orell Füssli, Zürich 1988.

Verfasser: Matthias Haas, Johann-Flierl-Str. 4, D-91564 Neuendettelsau, Tel.: 098 74/42 67, e-mail: Ph.Haas@t-online.de

Neue Medien

Protistenbilder und Poesie

In der Zeitschrift *Protist* (Heft 153, S. 109-110) wurden kürzlich zahlreiche Internetseiten mit Bildern von Einzellern und einem Ciliaten-Gedicht vorgestellt, die auch für die Leser des MIKROKOSMOS von Interesse sein könnten. Unter www.poets.org/poets/poets.cfm?prmlD=1546 kann man ein Gedicht der bereits 1980 gestorbenen Muriel Rukeyser zur Konjugation von *Paramecium* lesen

und, von der Autorin persönlich vorgetragen, hören. Im MIKROKOSMOS (Heft 1/2001, S. 52) kann man das Gedicht ebenfalls nachlesen.

Der holländische Künstler und Fotograf Wim van Egmond hat eine hervorragende Seite mit Bildern von Süß- und Salzwasserorganismen zusammengestellt, die durch detaillierte Beschreibungen und Zeichnungen ergänzt werden: www1.tip.nl/~t936927/home.html.

Einen nützlichen Ratgeber für Süßwasserorganismen findet man

auch unter der Homepage der Mikroskopischen Gesellschaft von Großbritannien (microscopy-uk.org.uk/pond/protozoa.html) oder auf der Seite des Holländers Jan Parmentier von *De Nederlandse Vereniging voor Microscopie* (www.euronet.nl/users/janpar/nvnm.html).

Informationen und Bilder zu fossilen Algen kann man bei der *International Fossil Algae Association* erhalten unter members.tripod.com/brunogranier/#The_Gallery.htm.

Redaktion MIKROKOSMOS

Mikro-Korrigendum

Druckfehlerteufel oder Computereigenleben?

Auf Grund eines fatalen Ereignisses gibt es nun die Rubrik Mikro-Korrigendum, die zukünftig hoffentlich nicht zu oft erscheinen muss. Was ist passiert?

Früher war es der Druckfehlerteufel, heute ist es das Eigenleben der Computer. In beiden Fällen zeigt sich das gleiche Desaster: Fehlerhafte Meldungen. Diesmal so geschehen im vorherigen Heft des MIKROKOSMOS (Heft 4/2002) beim Artikel von Siegfried Hoc über mikroskopische Aspekte des Schwefels.

Bis heute kann nicht nachvollzogen werden, wie es zu der irrtümlichen Abbildung 2 auf Seite 193 gekommen ist, die wie durch ein Wunder aus der Abbildung 2 auf Seite 243 des Beitrages von Stanek und Wolf entnommen und in die besagte Abbildung des Schwefel-Artikels eingefügt wurde, wobei gleichzeitig die richtige Abbildung schlichtweg verschwunden ist. Natürlich hätte die Abbildung so aussehen müssen, wie wir sie nun wiedergeben (Abb. 1) und wie sie auf dem Seitenumbruch des besagten Heftes auch zu sehen war. (Ein Seitenumbruch ist die letzte Version eines neuen Heftes, das der Redaktion und dem Verlag zur letztendlichen Kontrolle und Korrektur vorliegt, bevor es dann gedruckt wird.)

Wir, das sind die Redaktion in Berlin und der Verlag in Jena, bitten um Entschuldigung für diese Fehlleistung, wobei wir uns keines Fehlers bewusst sind, der uns unterlaufen sein könnte. Im Seitenumbruch war alles korrekt. So muss wohl wieder einmal die Feststellung von William Shakespeare in *Hamlet* als Erklärung für unser aktuelles Problem herange-

zogen werden: *Es gibt mehr Dinge zwischen Himmel und Erde, als eure Schulweisheit sich träumt.*
Redaktion MIKROKOSMOS

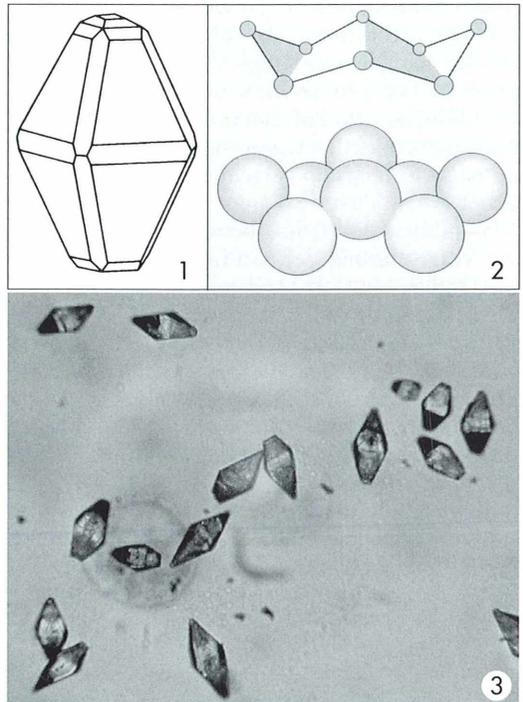
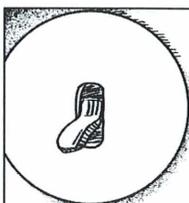


Abb. 1: Schematische Kristallform des alpha-Schwefels bei gewöhnlicher Temperatur: rhombisch-dipyramidal. – **Abb. 2:** Das Kristallgitter des alpha-Schwefels baut sich aus acht ringförmig angeordneten Atomen auf (Cyclooctaschwefel), wobei der Ring nicht eben, sondern kronenförmig ist. – **Abb. 3:** Rhombische Kristalle von alpha-Schwefel, auskristallisiert nach Lösen von sublimiertem Schwefel in Kohlenstofftetrachlorid. Vergr.: 350fach.



Kopfschmerz - abschalten

Menschen mit Kopfschmerzen würden den quälenden Schmerz am liebsten abschalten. Und tatsächlich: Hilfe ist möglich. Informieren Sie sich!

Die Broschüre "Kopfschmerzen - Anleitung zur Selbsthilfe" erhalten Sie bei Einsendung eines mit 0,77 € frankierten Rückumschlages (DIN A5) kostenlos bei

DEUTSCHES GRÜNES KREUZ e. V.
Stichwort: Kopfschmerz

Postfach 1207
35002 Marburg



Einsatz neuer Leuchtdioden (LEDs) in der Mikroskopie

Gerhard Göke

Seit dem Artikel über Leuchtdioden als Lichtquellen für die Mikroskopie im MIKROKOSMOS 89, Seiten 33–37 und 351–356 (2000) haben viele Mikroskopiker mit Leuchtdioden experimentiert und in die Beleuchtungssysteme ihrer Mikroskope eingebaut. Auch die optische Industrie hat Labor- und Reisemikroskope, Stereomikroskope, Bildverarbeitungssysteme und Leuchtlupe mit diesen Lichtquellen ausgerüstet. Die fortschreitende Entwicklung der Optoelektronik hat in den letzten zwei Jahren zu immer stärkeren Leuchtdioden geführt. In diesem Beitrag wird berichtet, welche LEDs für die Mikroskopie geeignet sind und wie sie in den mikroskopischen Beleuchtungssystemen eingebaut werden können.

Bei meinen ersten Versuchen mit weißen Leuchtdioden (1999) standen mir nur Typen mit einer maximalen Lichtstärke von 2000 mcd zur Verfügung. Etwas später betrug diese Leistung bereits 3000 mcd und inzwischen haben sie eine Lichtstärke von 5600 mcd erreicht. Das ist fast dreimal so viel wie 1999. Auch bei den farbigen LEDs, von denen einige Typen mit einer fast monochromatischen Emission für die Mikroskopie geeignet sind, konnte

die Lichtstärke erhöht werden. Es gibt jetzt blaue, grüne, gelbe und rote LEDs, deren Lichtstärke fast 10.000 mcd beträgt. Wie diese LEDs aufgebaut sind und woraus ihre Halbleiterkristalle bestehen, wurde bereits im MIKROKOSMOS beschrieben (Göke, 2000).

Die Firma Conrads in D-92240 Hirschau mit Filialen in mehreren Großstädten bietet die neuen LEDs in ihrem Hauptkatalog 2002 unter den nachfolgenden Bestell-Nummern an:

| Best.-Nr. | Artikel | Wellenlänge | Abstrahlwinkel | Lichtstärke |
|-------------|------------|-------------|----------------|-------------|
| 15 37 45-22 | Weiß LED | | 20 Grad | 5600 mcd |
| 18 72 16-22 | Gelbe LED | 590 nm | 6 Grad | 9300 mcd |
| 16 65 89-22 | Orange LED | 605 nm | 6 Grad | 9500 mcd |
| 18 65 97-22 | Rote LED | 626 nm | 6 Grad | 6500 mcd |
| 16 70 10-22 | Grüne LED | 520 nm | 15 Grad | 5600 mcd |
| 16 75 03-22 | Blaue LED | 470 nm | 15 Grad | 2700 mcd |

Einbau von LEDs

Für den Einbau von LEDs in mikroskopische Beleuchtungssysteme hat sich eine hochglanzverchromte Fassung mit Spiegelreflektor und abschraubbarer Frontlinse gut bewährt (Abb. 1). Weil LEDs, besonders die weißen, je nach Positionierung im Durchlicht-Beleuchtungssystem bei schwachen Vergrößerungen das Sehfeld inhomogen ausleuchten und bei den weißen zusätzlich eine gelbliche Zone im Sehfeld erkennbar ist, sollte ihr Licht homogenisiert werden (Göke, 2000). Nach dem Einbau der LED in die Fas-

sung legt man ein Stückchen möglichst dünne PE-HD-Folie (= Polyethylen High Density) über das Gewinde der Fassung und schraubt dann die Fassung mit der Sammellinse auf. Die trübe Folie homogenisiert das vom Halbleiterkristall ausgehende Licht ohne es wesentlich zu schwächen oder seine Farbtemperatur zu verändern. Die Linse bildet jetzt eine leuchtende Fläche mit einem Durchmesser von etwa 10 mm.

Die so modifizierte Fassung kann man in einen Kondensator einbauen, am besten unterhalb von dessen Aperturblende (Abb. 2). Für die Montage sind die für Stuhl- oder Tischbeine aus Stahlrohr

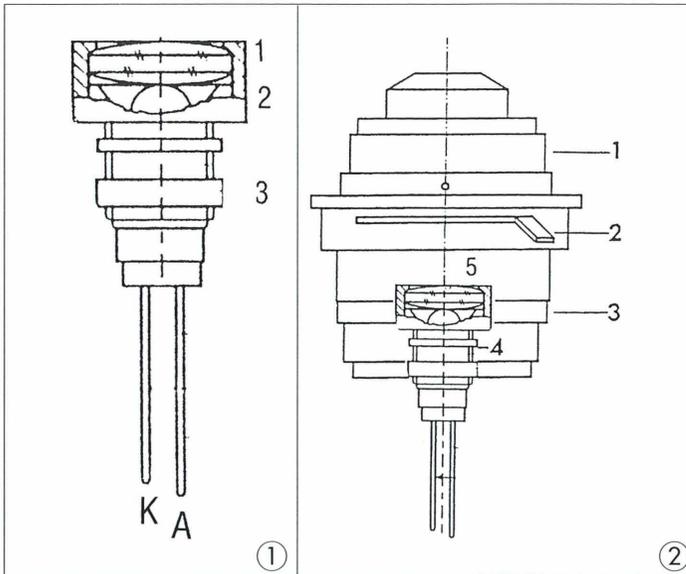


Abb. 1: Hochglanzverchromte LED-Fassung für 5 mm LEDs.
1 Linse mit Fassung und PE-HD-Folie.
2 Leuchtdiode (LED).
3 Gewindeschaft. A Anode.
K Kathode.

Abb. 2: LED mit Fassung im Kondensator.
1 Kondensator.
2 Aperturblende. 3 Unterteil (Filterträger, Blendenträger usw.).
4 LED-Fassung mit LED.
5 Linse mit Fassung und PE-HD-Folie.

vorgesehenen überstülpbaren Füße aus schwarzem oder weißem Gummi (erhältlich in Baumärkten) geeignet. Man wählt die Sorte mit einem konisch verlaufenden Durchmesser von 27 bis 33 mm. In der Höhe von etwa 32 mm schneidet man das obere Stück ab und bohrt in den Boden des unteren Stückes ein passendes Loch für die Aufnahme der LED-Fassung. Danach kann man den Hartgummikörper von unten in den Filterträger des Kondensators stecken. Er sitzt dort fest. Sonst kann man auch den Rand mit etwas PATTEX TRANSPARENT bestreichen. Durch Verschieben des Filterträgers lässt sich die LED-Fassung ein wenig im Strahlengang zentrieren. Besonders gut funktioniert diese Methode mit dem UFC-Kondensator von PZO, der eigentlich für Phasenkontrast- und Dunkelfeldblenden vorgesehen ist (Göke, 2000). Wenn man sich mehrere Hartgummikörper mit unterschiedlich farbigen LEDs herstellt, kann man diese am Kondensator leicht wechseln, etwa wie das Umstöpseln eines Gummistopfens.

Hinweis: Die LED-Fassung mit Linse gibt es bei Conrads unter der Bestell-Nr. 185310-22. Im Internet: www.business.conrad.de Man kann die LED mit Linsenfassung auch in ein Gehäuse mit Kollektorlinse und Leuchtfeldblende einbauen (Abb. 3 und 4). Durch Höhenverstellung des Kondensators wird die Leuchtfeldblende wie bei der Köhlerbeleuchtung im Präparat abgebildet. Sie begrenzt dort

das Leuchtfeld. Es handelt sich jedoch wie bei allen hier vorgestellten Konstruktionsmöglichkeiten nicht um die klassische Köhler'sche Beleuchtung, sondern um eine modifizierte Nelson-Beleuchtung, bei der immer die leuchtende Oberfläche der kleinen Linse auf der LED-Fassung (nicht die matte Fläche der Folie) in die Objektebene übertragen wird.

Stromanschluss

Es ist sehr praktisch, die LEDs mit einem stabilisierten Stecker-Netzgerät zu betreiben, dem mit einem verschiebbaren Spannungswähler 1,5, 3, 4,5, 6, 7,5, 9 oder 12 V Gleichstrom entnommen werden kann. Mit diesem preiswerten Gerät kann man die Helligkeit der Leuchtdioden an die Bedürfnisse anpassen. Man sollte sie nicht heller leuchten lassen als erforderlich. Dabei spielt es keine Rolle, ob man das Ausschalten stundenlang vergisst (100.000 Brennstunden sind circa 11 Jahre). Für den Stromanschluss sind Cinch-Stecker recht gut geeignet, weil hier nur Ströme bis 20 mA fließen. An das Kabel des Netzgerätes lötet man eine Cinch-Kuppelung. Man muss nur darauf achten, dass man die Anode (Pluspol) stets in der Mitte von Stecker und Kuppelung anschließt. Man darf diese Lötstellen nicht vertauschen, sonst hat man die Anode der LED plötzlich am Minus-

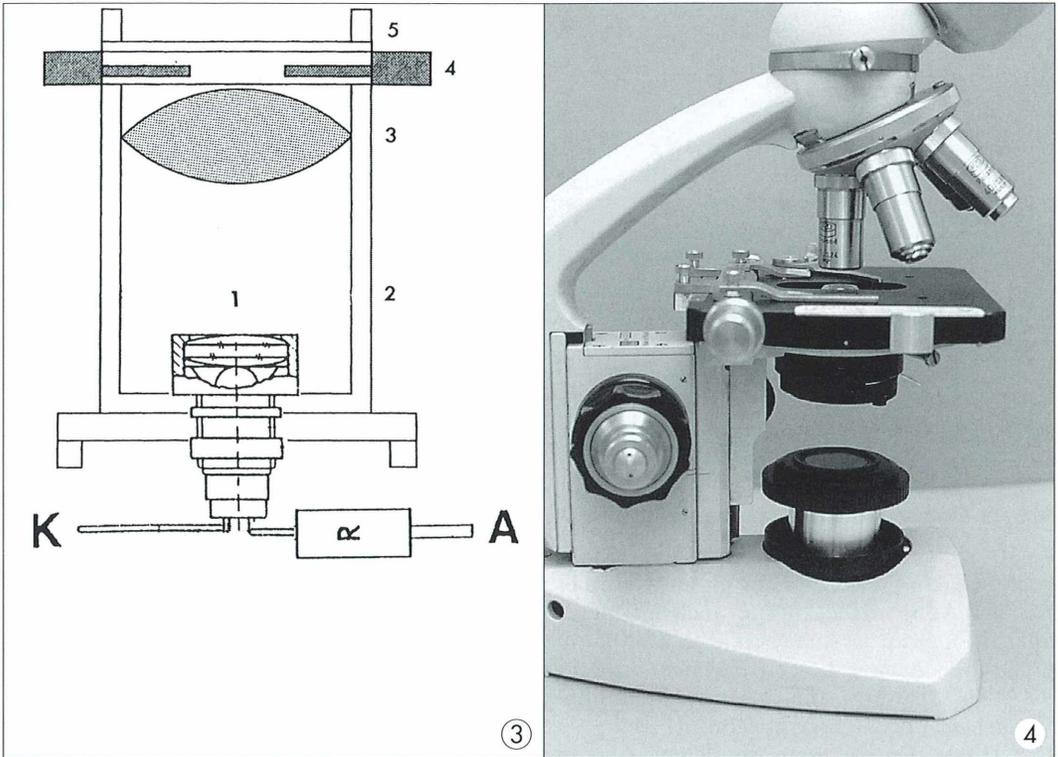


Abb. 3: LED im Gehäuse für den Stativfuß. 1 LED in Fassung mit Linse und PE-HD-Folie. 2 Gehäuse. 3 Kollektorlinse. 4 Leuchtfeldblende. 5 Glasplatte (Staubschutz) und Filteraufnahme. K Kathode. A Anode. R Vorwiderstand. – **Abb. 4:** LED-Gehäuse aus Abbildung 3 auf dem Stativfuß. Ermöglicht die Begrenzung des Leuchtfeldes und die Beobachtung im polarisierten Licht und Phasenkontrast.

pol des Netzgerätes, wodurch sie sofort zerstört wird.

Durch eine LED darf nur ein begrenzter Strom fließen. Deshalb muss an der Anode, das ist das längere Beinchen der LED, ein Widerstand angelötet oder mit einem kleinen Übergangsstück aus einer Lüsterklemme angeschraubt werden (Göke, 2000). Es genügt ein billiger 1/4-Watt Kohleschichtwiderstand. Die erforderliche Höhe des Widerstandes kann man überschlägig berechnen. Wir haben drei vorgegebene Größen: Betriebsspannung, Durchlassspannung der Diode und den Strom, der die Diode betreibt. Die Durchlassspannung der Diode erkennt man an ihrer Farbe. Sie beträgt für Rot etwa 1,65 V, für Gelb etwa 2,1 V und für Grün und Weiß etwa 2,7 V. Als Richtwert für den maximalen Strom, der durch die Diode fließen soll, nehmen wir 15 mA an. Die Höhe des erforderlichen Widerstandes berechnen wir nach der Formel:

(Betriebsspannung – Durchlassspannung) : Betriebsstromstärke = Vorwiderstand. Am Beispiel einer weißen Diode mit einer Durchlassspannung von 2,7 V ist das: $(12 \text{ V} - 2,7 \text{ V}) : 0,015 \text{ A} = 620 \text{ Ohm}$. Verwenden Sie diesen Widerstand oder den mit dem nächsten Normwert. Dann kann Ihre Diode bis 100.000 Stunden leben. Das bedeutet über 11 Jahre Dauerlicht!

LED-Ringleuchten für Stereomikroskope

Bei der industriellen Bildverarbeitung werden schon seit einigen Jahren LED-Ringleuchten an den Objektiven der Videokameras befestigt, die eine schattenfreie Ausleuchtung der zu vermessenden Objekte bewirken. Hierbei spielt es keine Rolle, ob die Leuchtdioden rotes oder grünes Licht emittieren. Es geht nur darum, dass die Lichtenergie groß genug ist. Seit es

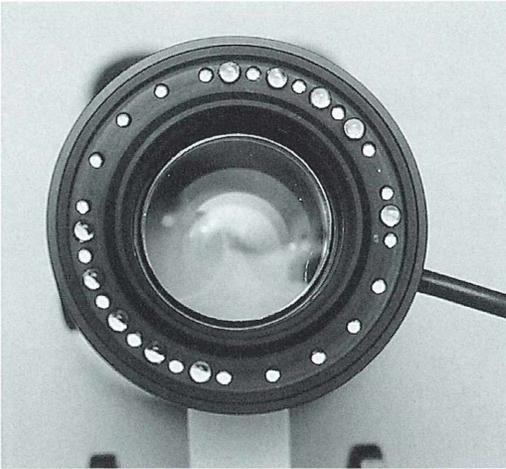


Abb. 5: Unterseite der LED-Ringleuchte mit 30 LEDs.

weiße Leuchtdioden gibt, ist es sinnvoll, diese Art der Aufsichtbeleuchtung auch an Stereomikroskopen zu verwenden (Göke, 2000). Eine preiswerte Version dieser Ringleuchten besitzt 30 Weißlicht-LEDs, die in einem bestimmten Winkel zur Objektebene angeordnet sind.

Der innere Durchmesser der Ringleuchte ist 58 mm, der äußere 90 mm (Abb. 5). Die Bauhöhe der Leuchte, die mit einer Klemmschraube an der Objektivfassung befestigt wird (Abb. 6), beträgt nur 18 mm. Die Ansteuerung erfolgt mit einem kleinen Netzgerät mit Ein/Aus-Schalter, einem Regelknopf für die Helligkeit der LEDs und einem Stellknopf, mit dem man nur 20, alle 30 oder nur die linke Hälfte des leuchtenden Ringes für eine azimutale (schräge) Beleuchtung ansteuern kann. Man könnte die Schaltung auch so ausführen, dass wahlweise die linke oder die rechte Hälfte des Ringes leuchtet.

Man kann eine LED-Ringleuchte auch umgekehrt – mit den LEDs nach oben – in den Durchlichtuntersatz eines Stereomikroskops einsetzen und damit transparente Objekte im Durchlicht mikroskopieren.

Im Aufsicht sind folgende Ansteuerungen der Ringleuchte möglich:

1. Großfeld-Ausleuchtung: 20 weiße 3 mm-LEDs beleuchten ein Objektfeld von über 70 mm \varnothing aus einem Arbeitsabstand von circa 150 mm, wie er mit einem Vorsatzobjektiv 0,5 \times möglich ist.
2. Mittelfeld-Ausleuchtung: 20 weiße 3 mm-LEDs und 10 weiße 5 mm-LEDs beleuchten ein Objektfeld von circa 40 mm Durchmes-

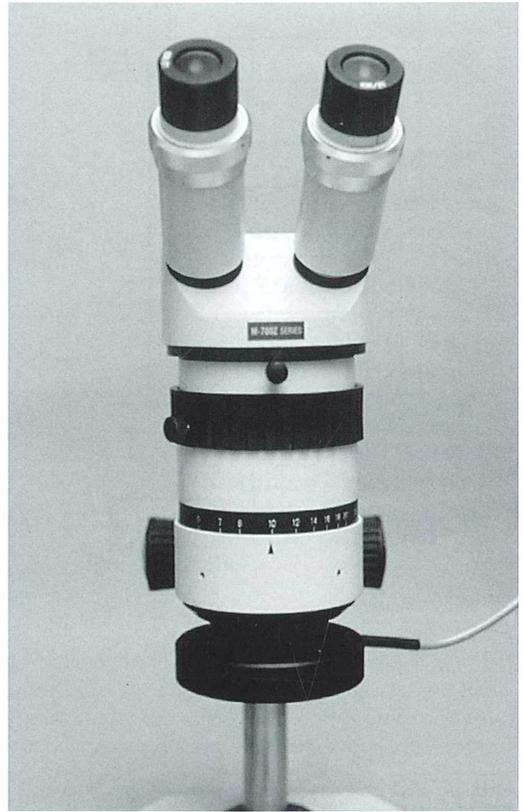


Abb. 6: LED-Ringleuchte am monoobjektiven Stereomikroskop.

ser aus einem Arbeitsabstand von 80 bis 100 mm, wie er sich beim Arbeiten ohne Vorsatzobjektiv ergibt.

3. Schiefe Beleuchtung: Alle LEDs in der linken Hälfte des Ringes leuchten auf.

Die gemessenen Beleuchtungsstärken in lux eines Objektfeldes von 70 mm \varnothing bei einem Abstand Objektebene zu Frontobjektiv von 150 mm; Beleuchtungsregler auf Minimum und Maximum:

Ausleuchtung 1: 570–1100 lux.

Ausleuchtung 2: 1230–3700 lux.

Beleuchtung 3: 1150–1970 lux.

Farbtemperatur: 5600–6500 K.

Vorteile: Der Leistungsbedarf beträgt nur 2,0 Watt. Dadurch ist die Wärmeabstrahlung sehr gering. Die LEDs haben eine Lebensdauer von einigen Tausend Betriebsstunden. Im Gegensatz zu einer Halogen-Kaltlichtquelle mit Glasfaserkabeln ist kein Ventilator erforderlich. Es entsteht kein Geräusch. Der Preis von zurzeit etwa 300,- € plus Mehrwertsteuer ist im Vergleich

mit dem einer Halogen-Kaltlichtquelle mit Glasfaser-Ringleuchte (von deren Betriebskosten durch die teure Lampe einmal abgesehen) recht günstig. Die Farbtemperatur entspricht bei jeder Betriebsspannung der des Tageslichtes. Bei Farbaufnahmen auf Tageslichtfarbfilm ist kein Konversionsfilter erforderlich.

Bezugsquellen für LED-Ringleuchten:
Firma R. Göke,
Internet: www.goeke-mikroskopie.de,
e-mail: info@goeke-mikroskopie.de oder
goeke1mikroskop@aol.com.

Firma Polytec GmbH, Polytec-Platz 1–7,
D-76337 Waldbronn; e-mail: info@polytec.de

Literaturhinweise

Göke, G.: Leuchtdioden (LEDs) als Lichtquellen für die Mikroskopie. *Mikrokosmos* 89, 33–37 (2000).
Göke, G.: Das neue Licht in der Mikroskopie. Einsatz und Eigenschaften von LEDs. *Mikrokosmos* 89, 351–356 (2000).

Verfasser: Gerhard Göke, Am Widey 7, D-58095 Hagen

Kurze Mitteilungen

Neues vom Suberin

Jeder Mikroskopiker kennt das Suberin (Korkstoff), mit dem viele sekundäre Zellwände der Pflanzen verdickt sind; man spricht von Ver-

korkung. Im lichtmikroskopischen Bild lässt sich Suberin mit den lipidlöslichen Farbstoffen Sudan III und Sudan IV durch Rotfärbung

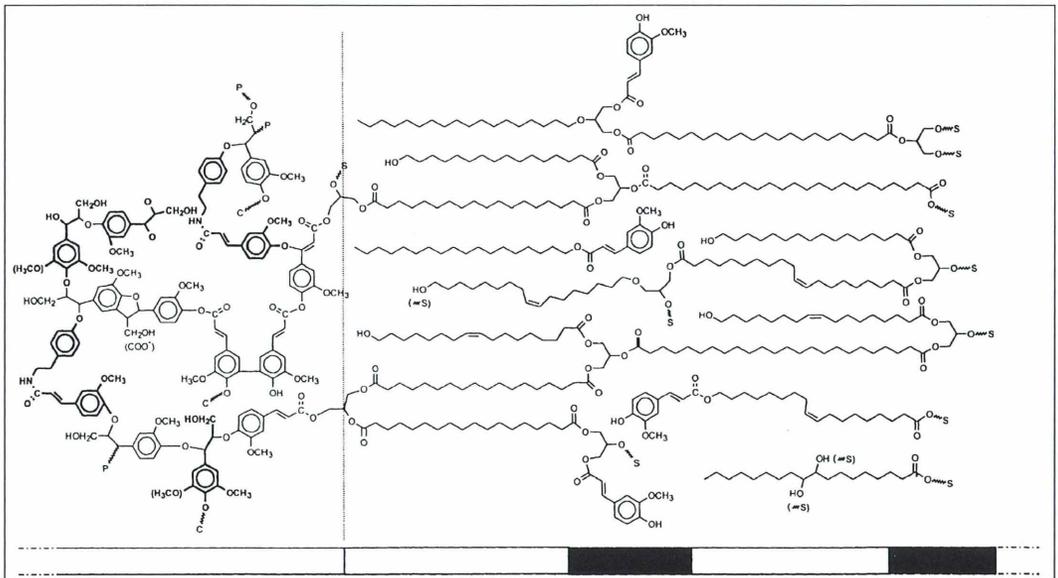


Abb. 1: Versuch eines Modells für den Aufbau des Suberins der Kartoffel. Links: Die Struktur der peripheren Zellwand; rechts: Die Struktur der Suberin-Lamellen. Die überwiegend aliphatischen Zonen (Verbindungen, die sich von offenkettigen Kohlenwasserstoffen ableiten) erscheinen im Elektronenmikroskop als helle Lagen, während die überwiegend phenolischen Zonen (aromatische oder Ringverbindungen, bei denen eine oder mehrere OH-Gruppen direkt an den Benzolkern gebunden sind) als dunkle, da elektronendichtere Bänder erscheinen. Das Modell stellt eine dünne, eindimensionale Schicht dar, die jedoch in Wirklichkeit ein dreidimensionales Netzwerk ist. Abkürzungen: C Kohlenhydrate, P Phenole, S Suberin, phenolisch oder aromatisch (aus Bernards, 2002).

nachweisen. Verkorkte Zellwände findet man vor allem in außen liegenden Wänden, da die Imprägnierung mit Suberin diese wasserundurchlässig macht. Suberin findet sich im Phellem (Kork), in den medialen Wänden der Endodermis (Caspary'sche Streifen) und den exodermalen Zellen.

Über die Chemie und Biochemie des Suberins besteht noch eine gewisse Unklarheit. So ist also ein neues Modell für den Aufbau des Suberins von allgemeinem Interesse. Suberin besteht aus zwei verschiedenen Domänen: Der Suberin-Poly-(aliphatischen) Domäne (SPAD) und der Suberin-Poly-(phenolischen) Domäne (SPPD). Eine Analyse des Korks der Korkeiche (*Quercus suber*) ergab, dass 40–50% des Trockengewichtes der verkorkten Zellwände aus aliphatischen Komponenten bestehen, zu denen unter anderem 1-Alkanole, Alkanonsäuren, Hydroxyalkalonsäuren, Alkadiionsäuren, verschiedene Di- und Tri-Hydroxyalkanonsäuren und Ferulate gehören. Außerdem kommen darin Hydroxyzimtsäure, Coumarin-, Kaffee- und Ferulasäuren vor. Die chemische Zusammensetzung der SPPD ist kontrovers. Als Vorstufen der suberinisierten Gewebe sind Coumarin-, Kaffee-, Ferulasäuren, sowie Sinapis-, Coumaryl-, Coniferyl- und Sinapylalkohole, aber auch Coumaryl- und Ferulatyramore bekannt geworden.

Über die makromolekulare Struktur und die Anordnung von SPAD und SPPD ist noch wenig bekannt. In Analogie zum Aufbau des besser bekannten Kutins wird angenommen, dass die Polyester der SPAD durch Transfer von Fett-Acyl-CoA zu geeigneten Akzeptoren, wie beispielsweise Glycerin und Hydroxysäuren innerhalb einer Matrix entstehen. Die phenolischen Vorstufen der SPPD werden in Anwesenheit von H₂O₂ polymerisiert, wofür auch die Anwesenheit einer anionischen Peroxydase spricht. So kommt man heute zu einem vorläufigen Modell der Struktur des Suberin (Abb. 1), die aus zwei Lamellen SPAD und einer Fraktion SPPD besteht. Die polyphenolische Domäne liegt an der primären Zellwand an; sie ist daran über die Kohlenhydrat-Einheiten kovalent verbunden.

Einzelheiten dieses Modells sind noch diskutabel, auch viele Fragen, wie zum Beispiel die Größe der Polymere, die Querverbindungen zwischen den phenolischen und aliphatischen Einheiten, sowie ihre makromolekulare Anordnung, sind noch zu klären.

Literaturhinweis

Bernards, M. A.: Demystifying suberin. *Canadian Journal of Botany* 80, 227–240 (2002).

H. F. Linskens, Nijmegen

Konservierung von fädigen Blaualgen

Reinkulturen von Blaualgen (Cyanophyceae, Cyanobakterien) sind schwierig, aber wichtig beispielsweise für Studien der Evolution, der Photosynthese und der Stickstoff-Fixierung. Daher ist die Konservierung lebender Cyanobakterien wichtig. Da diese Organismen auch unter extremen Umweltbedingungen leben, wurden verschiedene Aufbewahrungsmethoden untersucht, aus denen die Zellen auch wieder zu aktivem Leben erweckt werden können. Als optimal erwies sich die Konservierung der fädigen Blaualge *Nostoc linckia*, die in verschiedenen Teilen des Mount Carmel National Park bei Haifa vorkommt, in flüssigem Paraffin (oder Mineralöl Sigma 400-5). Die Probenröhrchen wurden dann sofort in –20 °C überführt und im Dunkeln gehalten. Weniger güns-

tig erwies sich die Aufbewahrung in Glycerin, da es darin zu Exosmose kommt und einer Schädigung der jungen Trichome während der Aufbewahrung. Die Algenproben konnten nach Aufbewahrung in der Kälte nach acht Wochen wieder 100%ig wiederbelebt werden; die Wiederbelebung dauerte 1–3 Tage. Die Wiederbelebung von getrockneten Proben dauerte hingegen viel länger und es trat darin häufig auch bakterielle Kontamination auf.

Literaturhinweis

Nilima, S., Nevo, E.: Cryopreservation of wild isolates of *Nostoc linckia* (Roth) Born. et Flak. *International Journal on Algae* 3, 46–51 (2001).

H. F. Linskens, Nijmegen

Mikro-Einsteiger

Die Traumatotaxis der Zellkerne in *Tradescantia*-Blättern

Eberhard Schnepf

Wenn ein Blatt verwundet wird, wandern die Zellkerne der der Wunde benachbarten Zellen auf die Wunde hin. Dort teilen sie sich und bilden Wundkorkzellen. Diese traumatotaktische Bewegung der Kerne lässt sich gut in den Epidermiszellen von *Tradescantia*-Blättern beobachten.

Eine Verwundung löst in einer Pflanze verschiedene Abwehrreaktionen aus. Diese dienen vor allem dazu, die Wunde abzudichten. Dadurch wird ein unkontrollierter Verlust von Wasser und von darin gelösten Stoffen verhindert und das Eindringen von Pathogenen erschwert.

Wundkork

Sehr schnell werden die Plasmodesmen zu den verletzten Zellen hin durch Callose verstopft. Dann werden Substanzen in die Zellwände eingelagert, die an die tote Zelle grenzen. Die verfärben sich dadurch braun. Schließlich wird Wundkork gebildet. Die Kerne in den Zellen, die der Wunde benachbart sind, wandern schon bald in Richtung Wunde. Dort teilen sie sich und es werden Wundkorkzellen gebildet. Abbildung 1 zeigt solche Wundkorkzellen in der oberen Epidermis eines *Tradescantia*-Blattes, die eine einzelne tote Zelle umschließen. Die in den benachbarten Epidermiszellen neu eingezogenen Wände umgeben bogenförmig die tote Zelle, die dadurch exakt von den Wundkorkzellen umhüllt wird. Jede Nachbarzelle wird von ein bis vier Wänden durchzogen. Diese sind dünner als die alten und beginnen zu verkorken, die inneren Wände zuerst. Die Verkorkung fängt aber hier erst an, wie man an der Präsenz der Kerne in den Korkzellen sehen kann. Abbildung 2 zeigt ein etwas älteres Stadium. Auch hier wird deutlich, wie genau die neuen Wände parallel zu den Wänden der toten Zelle ausgerichtet sind, die hier teilweise schon braun verfärbt sind.

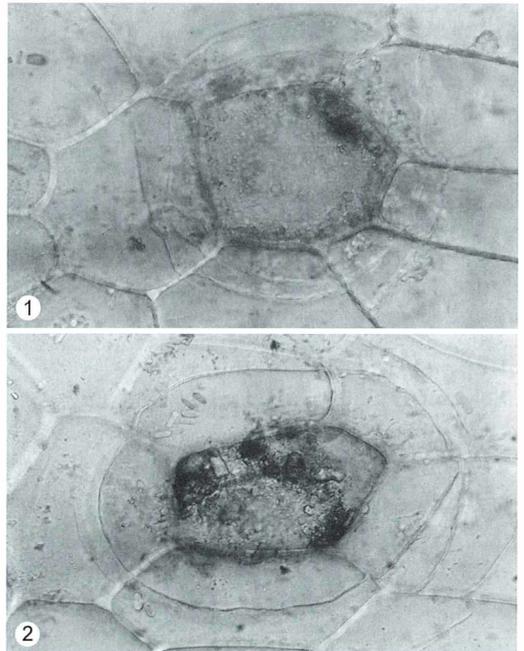


Abb. 1–7: *Tradescantia spathacea*, Blatt, obere (adaxiale) Epidermis. DIK (Differential-Interferenz-Kontrast).

Abb. 1: Beginnende Wundkorkbildung um eine (nicht experimentell) abgetötete Zelle. DIK, unfixiert, ungefärbt. Vergr. 300×. – **Abb. 2:** Wie Abbildung 1, etwas älteres Stadium. Einige Wände schon verkorkt. DIK, unfixiert, ungefärbt. Vergr. 300×.

Zur Methode

Die traumatotaktische Bewegung der Zellkerne wurde schon von Miehe (1901) und Ritter (1911) beschrieben. Um sie zu beobachten, nimmt man am besten Blätter mit großen Epidermiszellen, in denen sich die Kerne auch wirklich gut verlagern können. Sehr geeignet ist die obere Epidermis von *Tradescantia*-Blättern, zum Beispiel von *T. albiflora*, *T. zebrina* oder *T. spathacea*. Tradescantien sind beliebte Zierpflanzen und leicht zu bekommen. Sicher sind auch viele andere Arten geeignet, allerdings nicht solche, bei denen die Epidermiszellen zu Wasserspeicherzellen umgewandelt worden sind; diese sind zu tief.

Die Blätter sollten fast oder gerade ausgewachsen sein. Mit einer scharfen Rasierklinge schneidet man die Wunde, am besten quer oder parallel zur Mittelrippe und stellt das Blatt mit der Schnittfläche in Wasser. Leitungswasser ist ausreichend. Die Wunde sollte nicht ausgespült werden! Natürlich reagieren die Zellen auch dann, wenn die Wundstelle in der Luft bleibt.

In Flachschnitten durch die obere Epidermis kann man die Kerne direkt sehen und ihre Position bestimmen. Sie sind groß und auch deshalb gut zu erkennen, weil sie von einem Kranz aus Leukoplasten umgeben sind (Abb. 3). Wenn sie traumatotaktisch gewandert sind, liegen sie manchmal aber so eng an einer wundnahen Zellwand, dass man sie in der lebenden Zelle nur schwer finden kann. Es empfiehlt sich dann, die Flachschnitte mit Karminessigsäure (Schnepf, 2000) oder mit Lugol-Lösung (Jod-Jodkalium) zu färben.



Abb. 3: Aufsicht auf wundferne Zellen. Die Kerne liegen in der Zellmitte und sind von Leukoplasten umgeben. DIK, unfixiert, ungefärbt. Vergr. 280×.

Die Beobachtungen

Fern von einer Wunde liegen die Kerne fast immer ziemlich genau in der Zellmitte, meist unter der Außenwand (Abb. 3). Etwa fünf Stunden nach der Verwundung beginnen sie in der ersten wundnahen Zellreihe auf die Wunde hin zu wandern, nach sieben Stunden auch in der zweiten, dritten und vierten Zellreihe. Die fünfte Zellreihe bleibt gewöhnlich unbeeinflusst. Nach 15–20 Stunden ist die Wanderung beendet. Dann liegen nahezu alle Kerne der ersten Zellreihe dicht an einer Wand, die an eine verwundete Nachbarzelle grenzt (Abb. 4 und 5). In der zweiten bis vierten Reihe ist die Verlagerung meist nicht so extrem (Abb. 4 und 6) (Schnepf und von Traitteur, 1973). Nach 2–3 Tagen setzen dann die Kern- und Zellteilungen ein, die die Wundkorkbildung einleiten (Abb. 7). Zusammen mit den Kernen wandern auch immer die Leukoplasten, die sie umgeben (Abb. 4). Das lässt sich alles recht leicht beobachten, allerdings nicht immer leicht fotografieren, weil die verlagerten Kerne meist in verschiedenen Ebenen liegen.

Es ist auch nicht schwierig zu zeigen, dass die traumatotaktische Wanderung gestört, aber nicht völlig gehemmt wird, wenn die Wunde gleich sehr sorgfältig ausgewaschen und das Blatt dann mit der Schnittfläche in destilliertes Wasser gestellt wird. Das ist vermutlich jedenfalls teilweise darauf zurückzuführen, dass Calcium-Ionen (auch aus den frei werdenden Kristallnadeln aus Calciumoxalat?) aus der Wunde

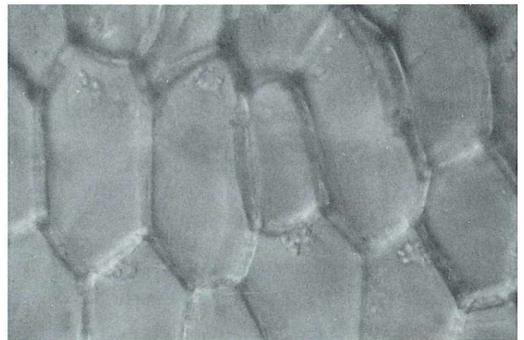


Abb. 4: Traumatotaktische Verlagerung der Zellkerne in der ersten und zweiten wundnahen Zellreihe in Richtung Wunde (oben), 48 h nach der Verletzung. DIK, unfixiert, ungefärbt. Vergr. 280×.

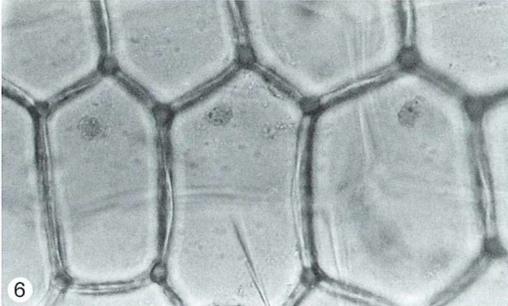
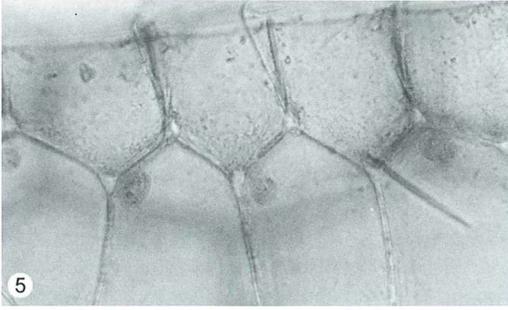


Abb. 5: Traumatotaktische Verlagerung der Zellkerne in der ersten wundnahen Zellreihe in Richtung Wunde (oben). Hellfeld, Karminessigsäure. Vergr. 300×. – **Abb. 6:** Traumatotaktische Verlagerung der Zellkerne in der zweiten wundnahen Zellreihe; Wunde oben. Hellfeld, Karminessigsäure. Vergr. 300×.

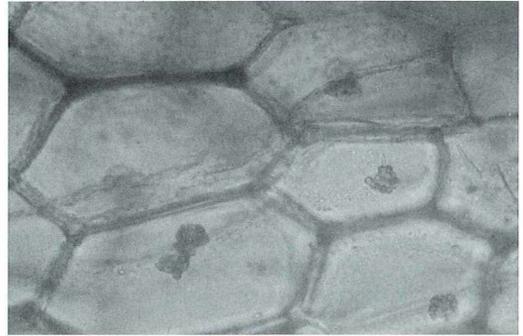


Abb. 7: Beginnende Wundkorkbildung, etwa 1 Woche nach der Verletzung. Hellfeld, Fixierung/Färbung mit Lugol-Lösung. Vergr. 280×.

Bewegung notwendige Apparat ist also in unbeeinflussten Zellen nicht voll präsent. – Völlig unklar ist noch, wie die Kernwanderung ausgerichtet und die Position der neuen Wände orientiert wird.

Tradescantia-Blätter sind also interessante Objekte für den Mikroskopiker. Das soll auch in einem weiteren Artikel gezeigt werden, in dem ihre Kieselzellen und deren programmierter Zelltod vorgestellt werden.

Literaturhinweise

- Miehe, H.: Über Wanderungen des pflanzlichen Zellkerns. *Flora* 88, 105–142 (1901).
 Ritter, G.: Über Traumatotaxis und Chemotaxis des Zellkerns. *Z. Bot.* 3, 1–42 (1911).
 Schnepf, E.: Chromosomenfärbungen – Was man von der Kernteilung wissen sollte, was man von ihr problemlos sichtbar machen kann. *Mikrokosmos* 89, 249–254 (2000).
 Schnepf, E., Klump, J.: Über die traumatotaktische Bewegung der Zellkerne in *Tradescantia*-Blättern. III. Wirkung von Hemmstoffen der Proteinsynthese. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 168, 123–129 (1975).
 Schnepf, E., Volkmann, K.: Inhibition of traumatotactic movement of nuclei in *Tradescantia* leaf epidermis. II. Effects of heavy water, ethionine, Ca^{2+} , and cyclic AMP. *Protoplasma* 81, 313–321 (1974).
 Schnepf, E., von Traitteur, R.: Über die traumatotaktische Bewegung der Zellkerne in *Tradescantia*-Blättern. *Z. Pflanzenphysiol.* 69, 181–184 (1973).

Verfasser: Prof. Dr. Eberhard Schnepf, Dürerweg 11, D-69168 Wiesloch

entfernt werden, denn der Wascheffekt wird durch die Chelatbildner EGTA und EDTA (0,01 M) verstärkt (Schnepf und Volkmann, 1974). Die Calcium-Ionen dürften als Wundsignal eine Rolle spielen.

Wie wandern die Kerne, was treibt die Traumatotaxis? In Frage kommen Elemente des Cytoskeletts. Inhibitor-Versuche haben gezeigt, dass die Bewegung durch Cytochalasin B (10 µg/ml), nicht aber durch Colchicin (bis 0,5%) gehemmt wird. Das sind Hinweise dafür, dass die Kerne (nebst den Leukoplasten) durch Actomyosin-Filamente transportiert werden und dass das Mikrotubulus-System dabei keine Rolle spielt (Schnepf und von Traitteur, 1973). Auch wenn die Proteinsynthese durch Puromycin (60 µg/ml) oder Actinomycin (30 µg/ml) gestört wird, wandern die Kerne weniger stark, vor allem dann, wenn die Gifte gleich nach der Verwundung appliziert werden (Schnepf und Klump, 1975). Der für die traumatotaktische

Simultanfärbung von Pflanzenschnitten mit Fuchsin, Chrysoidin und Astrablau

Helmut Etzold

Die Mischung und Lösung der drei Farbstoffe Fuchsin, Chrysoidin und Astrablau in 2-prozentiger Essigsäure erwies sich für die Anfärbung von Handschnitten als sehr günstig und hat sich besonders für rasche Ergebnisse in Kursen wie auch im Hobbybereich bewährt.

Im Folgenden gebe ich die Zusammensetzung der Farblösung, deren Verwendung und die Herstellung von Dauerpräparaten der gefärbten Schnitte an. Im Weiteren wird auf die Kombination mit Sudanfarbstoffen und auf die Anfärbung von aufgehellten Schnitten eingegangen. Die Lösung der drei Farbstoffe wird hier abgekürzt unter der Bezeichnung FCA.

Zusammensetzung der Lösung

Fuchsin (basisches Fuchsin, Neufuchsin, Diamantfuchsin oder Fuchsin, nicht Säurefuchsin!), Chrysoidin, Astrablau:

| | |
|-----------------------------|---------|
| Eisessig 1:50 (2%), in 1 l: | 20 ml |
| Fuchsin 1:10 000 | 0,1 g |
| Chrysoidin 1:7000 | 0,143 g |
| Astrablau 1:800 | 1,25 g |

Färbung

Schnellmethode

Schnitte in reichlich (ca. 3 Tropfen) Farblösung einlegen, nicht oben schwimmen lassen; Präparate nicht in der Mitte des Objektträgers, sondern einem Ende genähert anlegen (bessere Handhabung beim folgenden Erhitzen).

Über einer kleinen Flamme (Sparflamme des Bunsenbrenners oder Alkoholbrenner) unter leichtem Schütteln des Objektträgers (gute Durchfärbung, Verhinderung des Siedeverzuges) erhitzen und ein bis zwei Mal kurz aufkochen. Die Farblösung darf dabei nicht stark eindicken oder gar eintrocknen!

Dicke und große Schnitte brauchen längere Färbezeiten als kleine und dünne; gegebenenfalls Kontrolle für gute Durchfärbung unter dem Mikroskop vor Auflage des Deckglases;

dann noch ein Mal aufkochen, vor allem, wenn die Blaufärbung nicht ausreicht. Deckglas auflegen. Überschüssige Farblösung absaugen. Eine Überfärbung findet auch bei langer Betrachtung nicht statt.

Schonende Methode

Wie oben, jedoch Schnitte nur erhitzen, circa 40 s über der Sparflamme des Bunsenbrenners. Dabei immer wieder Handtest zur Kontrolle der Temperatur durchführen: Die Temperatur des Objektträgers sollte beim Auflegen auf den Handrücken gerade noch auszuhalten sein.

Hierbei bleiben Stärkekörner erhalten, die sich beim Kochen auflösen. Eine anschließende Stärkefärbung mit Lugol ist möglich. Außerdem ist bei diesem Verfahren die Differenzierung zwischen cutinisierten und verholzten Schichten meist deutlicher, und es ergeben sich im verholzten Gewebe noch weitere farbliche Differenzierungen. Vielfach ist darum diese Methode vorzuziehen.

Kaltverfahren

Schnitte in größerer Menge FCA, (z.B. in Hohl-schliffobjektträger, Schälchen) einlegen, gelegentlich bewegen, mindestens 5 min, auch über Nacht möglich.

Hierbei gelingt bei wenigen schwierigen Objekten eine gute Durchfärbung parenchymatischer unverholzter Zellwände, vor allem, wenn diese nicht angeschnitten sind (z.B. Mesophyll).

Besonders klare Zellwandbilder, zum Beispiel von *Pinus*-Nadeln, erhält man, wenn man dünne Schnitte vorher in Chloralhydrat aufhellt (siehe unten). Anschließend in reichlich FCA etwas länger kochen und gleichzeitig darin auswaschen und färben.

Ergebnis

Verholzte Zellwände rot. Öfter treten verschiedene Farbtöne auf: Sklerenchym purpurrot, Xylem mehr ziegel- bis gelbrot (so z.B. in Querschnitten durch *Pinus*-Nadeln und *Hakea*-Blättern), im gemischten Ring oder gesprengten Sklerenchymring in der primären Rinde von Bäumen wird das Sklerenchym purpurrot, die eingewachsenen Steinzellen dagegen orange. Querschnitte durch Holz zeigen oft deutliche Differenzierung: Fasern dunkelrot, Markstrahlzellen mehr gelbrot. Gute Ergebnisse erhält man aber meist nur, wenn man statt die Schnitte zu kochen die schonende Methode anwendet oder sie etwa 5 min kalt mit FCA behandelt unter gelegentlichem Schwenken auf dem Objektträger. Schnitte jedoch nicht zu lange liegen lassen, da sich im Laufe der Zeit die Färbung des Xylems dem des Sklerenchyms angleichen kann (evtl. Kontrolle unter dem Mikroskop). Oft ist auch eine rot-orange Differenzierung verschiedener Schichten einer Zellwand zu beobachten: Jüngere Schichten rot, ältere Schichten orange. Eine weitere deutliche Verstärkung dieser Kontraste erfolgt bei Verwendung eines BG 38-Filters (blaugrün, 3 mm dick) von Schott; dieser wird auf die Leuchtfeldblende gelegt oder unter dem Kondensator angebracht.

Cutinisierte Zellwände gelb bis orange, manchmal auch mehr oder weniger rot. Die Kontraste zu verholzten Zellwänden sind aber offenbar nur ausgeprägt, wenn die Schnitte erhitzt oder gekocht wurden. Das Chrysoidin wird sonst vom Cutin nur schwer aufgenommen. Wesentlich besserer Kontrast auch wieder bei Verwendung eines BG 38-Filters.

Unverholzte und nicht cutinisierte Zellwände blau.

Korkschichten ungefärbt. Dagegen sind die Mittellamellen verkorkter Zellen oft rot, da verholzt. *Kallose*, sowie *Reservezellulose* in Samen ungefärbt, selten bleiben auch die Zellwände gewisser Fasern in der primären Rinde ungefärbt.

Die Färbung dieser wie auch der übrigen verholzten Zellwände lässt sich wesentlich intensivieren, wenn die Schnitte vorher in *Eau de Javelle* (Na-hypochlorit, auch Reinigungsmittel Chlorix oder Domestos verwendbar) aufgehellt (ca. 5 min kalt) anschließend in 10% Essigsäure und dann in reichlich Wasser (Schälchen) jeweils etwa 5 min ausgewaschen werden. Holzschnitte kann man dabei auch anstelle einer Kaltbehandlung ein Mal kurz in Na-hypo-

chlorit aufkochen. Lebende Gewebe werden bei dieser Behandlung mazeriert. Die oben erwähnte Differenzierung der verholzten Zellwände von Sklerenchym, Xylem und Steinzellen bleibt aber nach dieser Vorbehandlung aus. Das *Plasma* ist meist leicht rot gefärbt. Die *Zellkerne* können rot oder blau werden. Oft färben sich die *Chloroplasten* mit und erscheinen dann oliv bis braun. Die grüne Färbung wird wiederhergestellt, wenn Wasser durchgesaugt und anschließend unter dem Deckglas kurz erhitzt wird. Hierbei wird der rote Farbstoff aus den Chloroplasten, nicht jedoch aus den Zellwänden ausgetrieben.

Dauerpräparate

Einschlussmittel

Karion flüssig, nicht kristallisierend der Firma Merck: Kristallisiert in Form von feinen Nadeln nach gewisser Zeit doch oft aus. Die Kristalle lassen sich allerdings auflösen (schmelzen) durch leichtes Erhitzen der Präparate (Heizung oder Sparflamme des Bunsenbrenners). Danach bleiben diese wieder längere Zeit klar. Besser ist eine Mischung aus 2 Teilen Karion und 1 Teil Phytohistol (Fa. Roth, Karlsruhe): Dies vermeidet das Auskristallisieren und Auswaschen des Fuchsins in Phytohistol alleine.

Schnitte vor Auflegen des Deckglases in aqua dest. übertragen: Nach dem Absaugen oder Ablaufen lassen der Farblösung die Schnitte in einen Wassertropfen hinüberschieben oder mit einem Pinsel übertragen oder auch Wasser aufgeben, absaugen und wieder Wasser aufgeben. Deckglas auflegen. Kleine Deckgläser verwenden: 18 mm oder 10 mm! Sonst schlechtes Eindringen des Einschlussmittels und vermehrte Luftblasenbildung. Falls das Deckglas bereits aufliegt, genügt es meistens, wenn Wasser durchgesaugt wird. Dabei darauf achten, dass die Chloroplasten ihre natürliche Farbe behalten, wenn nicht: Kurz unter dem Deckglas erhitzen. In manchen Fällen wird ein Abheben des Deckglases (mittels Rasierklinge) nötig sein.

Nach dem Absaugen des überschüssigen Wassers Anbringen eines Streifens des wasserlöslichen Einschlussmittels an einer Deckglaskante. Diese darf nicht die Kante sein, welche dem Objektträger aufliegt oder zu diesem eine zu geringe Distanz aufweist. Das Deckglas liegt meist mehr oder weniger gekippt, da das Objekt sich nicht in der Mitte befindet. Zur Fixie-

rung des Deckglases kann dieses an den beiden dem Streifen gegenüber liegenden Ecken mit je einem Tropfen Lack befestigt werden (evtl. auch an den übrigen Ecken). Dies kann das Entfernen des überschüssigen Einschlussmittels erleichtern und verhindert auch ein Auftreiben des Deckglases bei zu reichlicher Dosierung des Einschlussmittels.

Robuste Objekte (Holz, Schnitte durch fixierte, harte Sprosse) können auch nach dem Waschen direkt in das Einschlussmittel übertragen beziehungsweise mit einem Tropfen bedeckt werden. Dann das Deckglas auflegen. Präparat jeden Tag kontrollieren, evtl. Einschlussmittel nachgeben. Falls zuviel davon aufgegeben wurde, kann es nötig sein, das Deckglas anzudrücken, um überschüssiges Medium austreten zu lassen. Auch leichtes Beschweren des Deckglases ist möglich. Luftblasen unter dem Deckglas können entfernt werden, indem man das Präparat erhitzt – auch Kochen ist möglich, wenn das Medium nicht bereits zu sehr eingedickt ist, dabei entweichen oft bereits die Blasen – und anschließend in einem „Saugfinger“ mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe evakuiert. Präparate dabei schräg halten, so dass die Luftblasen entweichen können.

Nach 7–10 Tagen kann das überstehende Einschlussmedium mit einem nassen Pinsel oder unter Einlegen des ganzen Präparats in eine Schale mit destilliertem Wasser und Verwendung eines Pinsels abgewaschen werden.

Erneut antrocknen lassen oder abtupfen.

Lackrand in zweifacher Schicht anbringen.

Alternative Methode mit *Euparal*: Schnitte aus dem Wasser in zwei Mal gewechselten 100% Isopropanol, dann in Euparal (Brechungsindex 1,53). Lose, nicht aufgeklebte Schnitte wellen sich meist im Einschlussmedium. Dies kann durch Beschweren des Deckglases (z.B. Schraube) verhindert werden, bis das Harz einigermaßen trocken ist.

Kombination mit Sudanfarbstoffen

Zum Nachweis von cutinisierten und nicht verkorkten Zellwandschichten: Sudangelb, Sudangrün oder Sudanschwarz in Alkohol oder Alkohol und Glycerin gelöst (Gerlach, Botanische Mikrotechnik) verwenden.

Schnitte in Wasser unter einem Deckglas: An den Rand etwa die gleiche Menge Sudanlösung zugeben, so dass sie unter das Deckglas eindringt. Erhitzen und kurz aufkochen, dabei findet eine

Durchmischung beider Phasen und die Färbung der betreffenden Zellwandschichten statt.

Schnitte in Wasser übertragen, evtl. noch ein Mal erhitzen.

Wenn Cutin und Kork nicht deutlich gefärbt sind, den Vorgang wiederholen und evtl. mehr Sudanlösung verwenden.

Etwa das gleiche Ergebnis erzielt man, wenn die Schnitte zuerst in Sudanlösung unter das Deckglas gebracht werden und dann die gleiche Menge Wasser am Deckglasrand hinzugefügt wird, das sich beim Kochen wieder mit der Sudanlösung mischen muss.

Anschließend Färbung mit FCA. Die Sudanfärbung geht dabei nicht verloren. Die umgekehrte Reihenfolge (FCA, Sudanfärbung) ist jedoch nicht möglich, da der Alkohol die Farbstoffe der ersten Färbung teilweise wieder herauslöst.

Die cutinisierten Schichten und vor allem die Korkschichten heben sich nun meist deutlich besser ab. Störend ist manchmal allerdings ein möglicher Niederschlag von ausgefallenem Sudanfarbstoff, der sich aber durch eine richtige Dosierung des Mischungsverhältnisses Wasser/Sudanlösung wohl vermeiden lässt.

Anfärbung nach Aufhellen in Chloralhydrat und Na-hypochlorit

Schnitte oder dünne Totalpräparate von unfixiertem Material (Blattstücke, dünne Wurzelspitzen) in Chloralhydrat bringen, mit Deckglas abdecken.

Über der Sparflamme des Bunsenbrenners einige Male aufkochen, bis das Präparat durchsichtig ist. Zum Betrachten in Chloralhydrat lassen! Bei Zugabe von Wasser tritt sofort eine Eintrübung des Präparates ein.

Eine anschließende Färbung gelingt besonders bei dünnen Schnitten nach Auswaschen in Wasser oder auch in reichlich Farblösung (FCA, Sudanfarbstoffe u.a.) bei gleichzeitiger Färbung (kochen): Schnitte hierzu mit Pinsel oder zugespitztem Papierstreifen vom Chloralhydrat in Farblösung übertragen.

In Alkohol-Formalin-Eisessig fixiertes Material lässt sich von Chloralhydrat nicht aufhellen. Hier wird Na-hypochlorit verwendet: Na-hypochlorit kalt 5 min, dann 10% Essigsäure etwa 2 min, gefolgt von reichlich H₂O (Schälchen) 5 min.

Verfasser: Dr. Helmut Etzold, Weiherackerweg 20, D - 91080 Rathsberg, Tel.: 09131/20 43 38

1. Der MIKROKOSMOS veröffentlicht Aufsätze, Übersichtsbeiträge, Erfahrungsberichte, Kurzmitteilungen, Hinweise auf interessante neue Arbeitsverfahren oder Präparationsanleitungen sowie technische Innovationen aus allen Teilbereichen der Mikroskopie. Beiträge, die zur Veröffentlichung angeboten werden, dürfen nicht gleichzeitig anderweitig zum Druck eingereicht werden.

2. Die Redaktion bittet, Manuskripte grundsätzlich nur auf einseitig beschriebenen, fortlaufend nummerierten DIN A4-Bögen einzureichen. Jede Manuskriptseite sollte mit doppeltem Zeilenabstand beschrieben werden und jeweils 30 Zeilen mit höchstens 60 Anschlägen pro Zeile umfassen. Bitte am rechten Rand des Manuskriptes die ungefähre Platzierung der Abbildungen und Tabellen angeben. Am Ende des Manuskriptes steht die vollständige Autorenadresse. Soweit möglich sollten die Manuskripte zusätzlich zur Hardcopy als 3,5"-Diskette (nur DOS-Formate) mit der oben angegebenen Formatierung eingereicht werden.

3. Tabellen und Bildlegenden (beide jeweils fortlaufend nummerieren) bitte nicht in den Haupttext einbauen, sondern als Anhang auf eigene Manuskriptseiten schreiben.

4. Bildvorlagen sind Farbdias (für die sw-Reproduktion) jeglicher Größe, kontrastreiche sw-Fotos und druckfertige Strichzeichnungen, Graphiken (vorzugsweise in tief-schwarzer Zeichentusche angelegt oder als Laserprint). Elektronische Abbildungen nur als Tiff-Dateien auf CD-R (bis 700 MB) einreichen; bitte keine CD-RWs oder DVDs verwenden. Bitte alle Materialien namentlich kennzeichnen. Auf den Originalabbildungen nur professionelle Beschriftungen vornehmen (Endgröße nach Vergrößerung/Verkleinerung der Bildvorlage circa 3 mm); handschriftlich bitte nur auf Kopien oder durchscheinenden Deckblättern kennzeichnen. Die Bilder werden in drei verschiedenen Breiten (1spaltig, 1,5spaltig, 2spaltig) reproduziert. Es können mehrere Bilder zu Tafeln kombiniert werden.

5. Alle Bildvorlagen bleiben Eigentum des Autors und werden mit den Sonderdrucken des Beitrages wieder zurückgesandt.

6. Literaturzitate bitte in alphabetischer Reihenfolge nach folgendem Schema anordnen:

Zitate von Zeitschriftenbeiträgen:

Kreutz, M., Mayer, Ph.: *Calyptotricha pleuronemoides* – Ein Ciliat in einer Röhre. Mikrokosmos 88, 27–30 (1999).

Buchzitate:

Fioroni, P.: Evertbratenlarven des marinen Planktons. Verlag Natur und Wissenschaft, Solingen 1998.

Zitate von Buchbeiträgen:

Hausmann, K., Hülsmann, N.: Einzellige Eukaryota, Einzeller. In: Westheide, W., Rieger, R. (Hrsg.): Einzeller und Wirbellose Tiere, S. 1–72. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1996.

7. Jeder Autor erhält von seinem Beitrag vor dem Druck einen Andruck zum Gegenlesen. Korrekturen müssen sich auf Satzfehler beschränken. Umfangreiche Textnachträge oder Umstellungen sind aus Kostengründen nicht möglich. Bei stärkerer redaktioneller Bearbeitung eines Manuskriptes erhält der Autor zuvor eine Kopie des druckfertigen Manuskriptes zur Freigabe.

8. Jeder Autor erhält von seiner im MIKROKOSMOS veröffentlichten Arbeit kostenlos 25 Sonderdrucke.

9. Der Verlag honoriert jede Druckseite mit € 30,00 und Farbmikrofotos, die auf der Titelseite erscheinen, mit € 60,00.

10. Manuskripte bitte einsenden an Prof. Dr. Klaus Hausmann
Redaktion MIKROKOSMOS
Institut für Biologie/Zoologie
der Freien Universität Berlin
Königin-Luise-Straße 1–3
14195 Berlin

Mikrokosmos
5/2002

1 (6)

510543
Bibliothek des OÖ.
Landesmuseums

Museumstraße 14
4020 Linz

300229

Sie werden Augen machen



Die Welt um uns herum steckt voller Wunder. Das neueste heißt **Stemi DV4** und ist ein modernes kompaktes Stereomikroskop. Und das Wunderbare daran – es kostet wenig, obwohl es viel leistet. So die kompromisslos scharfen und licht-

starken Bilder der neuen patentierten Optik. Oder die raffinierte, einfach per Tastendruck zu bedienende Beleuchtung für Auflicht, Durchlicht oder Mischlicht. **Stemi DV4** – neuer Lichtblick für Lehre und Ausbildung in Kurssälen und Laboratorien.



Carl Zeiss · Mikroskopie · D-07740 Jena
Tel. (036 41) 64-1616 · Fax (036 41) 64-3144
mikro@zeiss.de · www.zeiss.de/mikro

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mikrokosmos, Zeitschrift für Mikroskopie](#)

Jahr/Year: 2002

Band/Volume: [91_5](#)

Autor(en)/Author(s):

Artikel/Article: [Mikrokosmos 91_5 1](#)