II 90372/95,2

ELSEVIER
URBAN & FISCHER

MIKROKOSMOS

Heft 2
95. Jahrgang
März 2006

www.elsevier.de/mikrokosmos

ISSN 0026-3680

Elsevier GmbH, A. Urban-Str. 1, D-81667 München; http://www.elsevier.de/

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, Tübinger Mikroskopische Gesellschaft e.V.

Inhalt

Artikel

65 Calciumoxalat-Kristalle in Pflanzen
Teil 1: Darstellung, Formen und Funktion
Eberhard Schnepf

76 Die Blattepidermis und ihre Spaltöffnungen – Vergleichende mikroskopische Beobachtungen
Armin Maidhof

87 Kieselgur – Eine reichhaltige Quelle fossiler Diatomeenschalen – Teil 2: Kieselgur = Kieselerde = Diatomit
Gerhard Kauer

96 Microwereld: Ein edles Mikro-Pflänzchen blüht im Verborgenen
Klaus Hausmann

98 Bärtierchen (Tardigrada) im Grundwasser der Ostfriesischen Insel Norderney
Gunnar Gad

115 Gitterkonstanten von Diatomeen
Hinrich Husemann

122 Das Leben neben dem Tod – Klein- und Kleinstlebewesen in von Menschen geschaffenen Lebensräumen
Sascha Buchczik

Rubriken

73, 86, 95
Nachrichten

85
Aus der Industrie

113
Mikro-Kids

125
Buchbesprechung

126
Aus den Arbeitsgemeinschaften

127
Mikro-Markt

Im elektronischen MIKROKOSMOS-ARCHIV
www.elsevier.de/mikrokosmos werden mit Erscheinen dieses Heftes vier Artikel über Diatomeen aus den Bänden 2 (1908/09), 22 (1928/29), 40 (1950/51) sowie 43 (1953/54) wiedergegeben.

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

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

Mehr Informationen zum MIKROKOSMOS und anderen Zeitschriften finden Sie im Internet:
www.elsevier.de

Umschlagabbildung: Spaltöffnung der Dreimasterblume *(Tradescantia albiflora)* vom tetracytischen Typ.
Siehe Artikel A. Maidhof, S. 76–84.

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

Calciumoxalat-Kristalle in Pflanzen Teil 1: Darstellung, Formen und Funktion

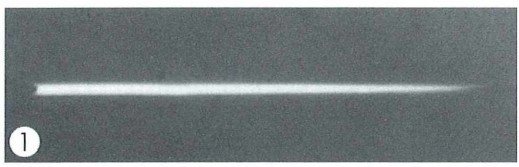
Eberhard Schnepf

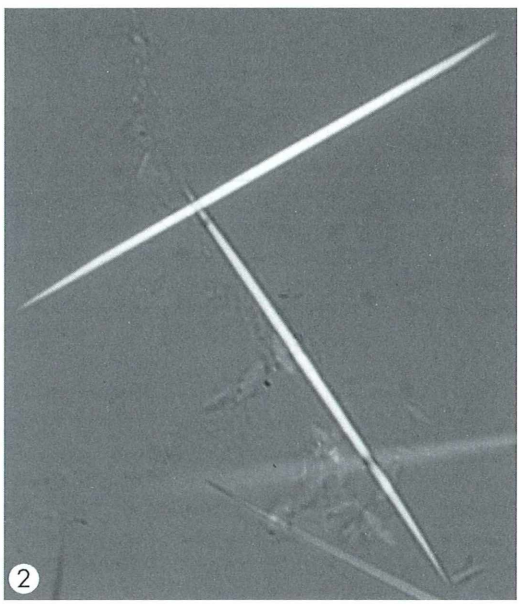
Calciumoxalat-Kristalle kommen in fast allen höheren Pflanzen vor, in unglaublich vielen unterschiedlichen Formen. Sie sind reizvolle, leicht zu untersuchende Objekte für den Mikroskopiker, wie im ersten Teil dieser kleinen Reihe gezeigt wird. Im zweiten Teil wird beschrieben, wie sie sich entwickeln und dass sie zeigen können, wie ein Blatt wächst.

Die in Abbildung 1 gezeigte Nadel sieht gefährlich aus. Aber wohl jeder MIKROKOSMOS-Leser hat schon Tausende von solchen Nadeln im Mund gehabt, so beim Essen von Weintrauben oder einer Ananas, und sie haben den Genuss beim Zerbeißen und Verschlucken nicht gestört. Sie bestehen aus kristallisiertem Calciumoxalat.

Identifizierung der Calciumoxalat-Kristalle

Die Kristalle lassen sich eindeutig mit Röntgendiffraktion identifizieren. Fast immer ist es aber ausreichend, im Objekt direkt zu prüfen, ob es sich bei einer fraglichen Struktur um einen Calciumoxalat-Kristall handelt. Die Kristalle sind stark lichtbrechend und lösen sich nicht in Essigsäure auf. Oxalsäure ist eine starke organische Säure. Calciumkarbonat-Kristalle sind meist klein und kommen bei höheren Pflanzen nur selten vor. Essigsäure zersetzt sie unter Bildung von Kohlendioxyd. Schwefelsäure wandelt Calciumoxalat- und Calciumkarbonat-Kristalle in Gips um. Das geschieht bei den Kristallen in der Rhizoidspitze von Characeen (Armleuchteralgen) und in den Zellenden von *Closterium* (Zieralgen, Desmidiaceen) nicht,





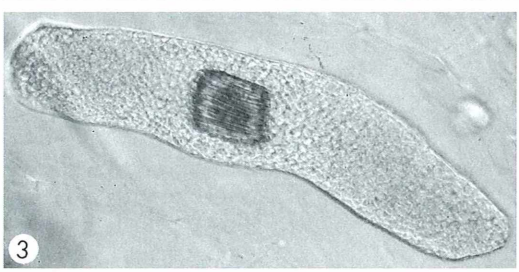


Abb. 1: *Vitis vinifera*. Spießförmige Raphide aus einer Weintraube mit ungleichen Enden. Vergr. 1440fach. – Abb. 2: *Circaea lutetiana*, Blatt. Raphiden mit zwei gleichen Enden. Vergr. 1800fach. – Abb. 3: *Impatiens niamniamensis*, Blatt. Kleines Raphidenbündel in einem großen Idioblasten Vergr. 135fach.

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

denn sie bestehen bereits aus Barium- beziehungsweise Calciumsulfat. Auch Kieselkörper lösen sich nicht in Schwefelsäure; sie haben allerdings nie eine kristalline Struktur.

Darstellung der Calciumoxalat-Kristalle

Um die Calciumoxalat-Kristalle in Pflanzen zu untersuchen, kann man Hand- oder Mikrotomschnitte verwenden. Durch Mikrotomschnitte werden sie oft zerstört. Um sie gut darzustellen, genügt es meistens die Objekte aufzuhellen, mit Chloralhydrat oder, wie bei den hier gezeigten Mikrofotos, mit einer gesättigten (etwa 95%igen) Phenol-Lösung. Vorsicht, Phenol ist Haut ätzend! Durch vorsichtiges Erhitzen der auf dem Objektträger mit einem Deckglas bedeckten Präparate beschleunigt man die Vermischung des Phenols mit dem Gewebewasser und treibt die Luft aus den Interzellularen. Die Objekte werden dann meist schön durchsichtig.
Da die Kristalle stark doppelbrechend sind, hilft die Polarisationsmikroskopie sie zu entdecken. Das ist besonders dann nützlich, wenn sie sehr klein sind, und wenn man ihre Verteilung und Entwicklung untersuchen will. Wenn man auch das umgebende Gewebe sichtbar machen will, kreuzt man die beiden Polarisationsfolien (Polarisator und Analysator) nicht ganz exakt, wie bei vielen der hier gezeigten Mikrofotos. Auch mit der Differential-Interferenzkontrast-Mikroskopie lassen sich die Kristalle meist gut darstellen.
Manche Einzelheiten über die Struktur der Kristalle, ihre Entwicklung und Umgebung lassen sich nur elektronenmikroskopisch aufklären. Aber schon die geschilderten einfachen Darstellungsmethoden erlauben viele interessante Beobachtungen.

Chemie der Calciumoxalat-Kristalle

Calciumoxalat ist in Wasser und in den in pflanzlichen Zellen vorkommenden organischen Säuren praktisch nicht lösbar. Es fällt kristallin in Kompartimenten aus, in denen Calcium-Ionen, die durch spezifische Pumpen und Kanäle die Membran passieren, auf Oxalat-Ionen treffen. Die Oxalsäure könnte durch verschiedene Stoffwechselwege entstehen. Die Hauptquelle scheint Ascorbinsäure zu sein (Horner und Wagner, 1989), aber die Enzyme, die diese in Oxalsäure umwandeln könnten, sind noch nicht identifiziert (Franceschi und Nakata, 2005).
Die natürlich vorkommenden Calciumoxalat-Kristalle bestehen aus dem Monohydrat (Whewellit) oder dem Dihydrat (Weddelit). Monohydratkristalle sind monoklin und stark doppelbrechend. Sie kommen wie die Dihydratkristalle in verschiedenen Formen vor (Küster, 1956), und es ist nicht leicht, aus der Morphologie auf die Chemie zu schließen. Hilfreich hierzu sind die Schemata von Pennisi et al. (2001). Da die Monohydratkristalle viel stärker doppelbrechend sind als die Dihydratkristalle, kann die Polarisationsmikroskopie helfen, den Kristalltyp zu identifizieren. Weitere Methoden geben Horner und Zindler-Frank (1982) an. Die Monohydratkristalle sind stabiler als die Dihydratkristalle (Webb, 1999).

Morphologie der Calciumoxalat-Kristalle und der Kristall-Idioblasten

Auf Grund ihrer Morphologie unterscheidet man seit langem verschiedene Kristallformen. Raphiden sind lange, dünne Nadeln oder schlanke Spieße, die immer in Bündeln vereinigt sind. Einzelkristalle sind prismatisch oder pyramidal. Wenn sie lang gestreckt sind, werden sie Styloide genannt. Kristallsand besteht aus Ansammlungen von winzigen, meist prismatischen Kriställchen. Solche Kriställchen oder Plättchen können zu rundlichen, morgensternartigen Drusen vereinigt sein. Sehr selten sind kugelige Sphärokristalle. Zwischen all diesen Formen gibt es Übergänge.
Oft liegen die Kristalle in spezialisierten, auch morphologisch auffallenden Zellen, den Idioblasten. Diese haben bei der Kristallbildung ein auffällig gut entwickeltes Endoplasmatisches Reticulum (wohl in Zusammenhang mit den Calcium-Transportprozessen) und eine hohe Stoffwechsel- und Synthese-Aktivität (Franceschi und Nakata, 2005; Kostman und Franceschi, 2000). Die Kristall-Idioblasten sind häufig viel größer als ihre Nachbarzellen und besitzen dann anscheinend einen durch Endomitose polyploid gewordenen Zellkern (Horner und Whitmoyer, 1972). In typischen Kristall-Idioblasten gibt es nur kleine Leukoplasten, die lichtmikroskopisch meist nicht erkennbar sind, aber keine Chloroplasten (Horner und Whitmoyer, 1972; Mazen et al., 2004).
In einer Pflanze können verschiedene Morphotypen nebeneinander vorkommen. Dabei ist

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vor

noch völlig unklar, durch was diese Mannigfaltigkeit verursacht wird. In einer Zelle wird fast ausnahmslos nur eine Form gebildet, wobei aber verschieden große Kristalle nebeneinander existieren können. Eine Pflanzenart bildet aber meistens nur Mono- oder Dihydratkristalle. Eine Ausnahme ist *Dracaena* (Drachenbaum) mit Monohydrat-Raphiden und Dihydrat-Pyramiden und -Prismen (Pennisi et al., 2001). Die spezifische Mannigfaltigkeit der Kristallformen ist ein wichtiges Hilfsmittel zur Identifizierung von Pflanzenteilen in Drogen und Tees. Die Kristalle können in fast jedem Zelltyp auftreten. Besonders häufig sind sie in Zellen, die die Leitbündel umgeben, im Mesophyll von Blättern und in speziellen Zellschichten von Samenschalen. Sie fehlen meist oder immer in Kambiumzellen, in Drüsenzellen, in Siebröhren und Geleitzellen, alles Zellen, bei denen die Vakuole – wenn überhaupt vorhanden – nicht als Ionendepot dient.

Raphiden

Die nadel- oder schlank-spießförmigen Raphiden sind immer zu Dutzenden oder Hunderten zu Bündeln vereinigt, die immer in Idioblasten liegen. Diese sind in der Regel wesentlich größer als ihre Nachbarzellen. Sie kommen bei sehr vielen Pflanzen vor, zum Beispiel beim Wein (Abb. 1), beim Hexenkraut *Circaea lutetiana* (Abb. 2), bei *Impatiens*-Arten (Abb. 3), und vor allem bei Monokotylen wie Aronstabgewächsen (Abb. 4), Wasserlinsen, Ananas und Agaven. Man findet sie dort in Blättern, Blattstielen, in der Sprossrinde und in Wurzeln, allerdings wohl nie in Epidermiszellen. Beim Wassersalat, der Aracee *Pistia*, ragen Raphiden-Idioblasten in die großen Interzellularen des Luftgewebes (Aerenchym).

Raphiden bestehen immer aus Monohydrat (Pennisi et al., 2001). In Querschnitt sind sie oft quadratisch (Horner und Whitmoyer, 1972) oder rechteckig, manchmal mit einer Furche an der Schmalseite wie bei Wasserlinsen und bei *Pistia*, können aber auch sechseckig sein wie in *Dracaena*-Blättern (Pennisi et al., 2001). Das lässt sich aber kaum mit dem Lichtmikroskop beobachten.

Die Nadeln haben meistens zwei gleich aussehende, spitze Enden (Abb. 2). Ausnahmen gibt es beim Wein (*Vitis*) und bei *Pistia* (Cody und Horner, 1983). Bei *Vitis*-Arten (Abb. 1) sind sie spießförmig, mit einem spitzen und einem breiteren, eingekerbten Ende, das in zwei Spitzen

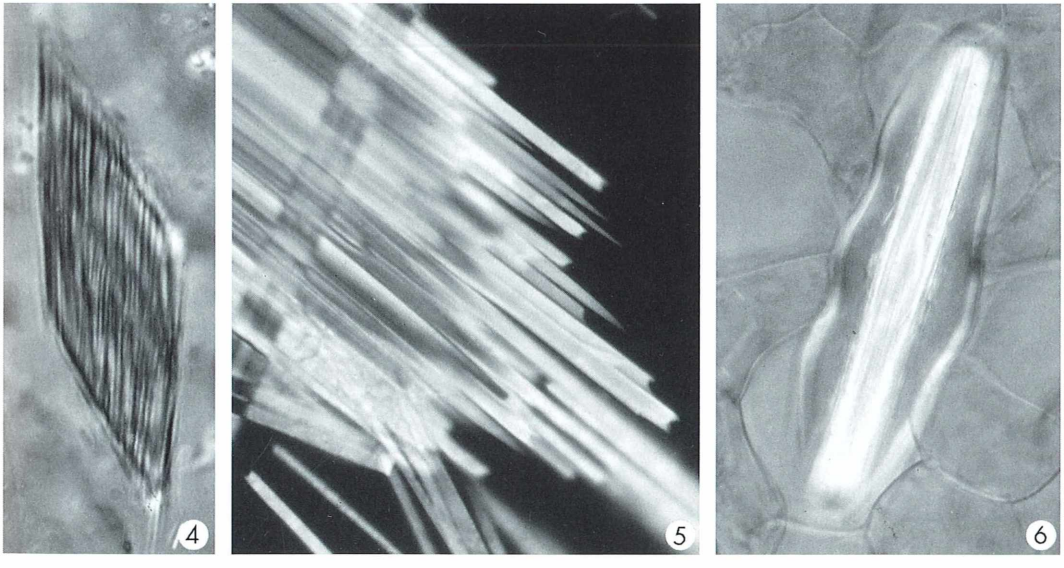


Abb. 4: *Arum maculatum,* altes Blatt. Idioblast mit Raphidenbündel. Vergr. 520fach. – Abb. 5: *Vitis vinifera,* Blatt. Endseite eines Raphidenbündel, die Raphidenenden sind teils spitz, teils breit. Vergr. 1280fach. – Abb. 6: *Philodendron rubescens,* Blatt. Raphiden-Idioblast mit dicken Seiten- und dünnen Endwänden, umgrenzt von Schwammparenchymzellen und Interzellularen. Vergr. 600fach.

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

ausläuft (Arnott und Webb, 2000). Bei *Pistia* ist das breitere Ende leicht gezackt (Kostman und Franceschi, 2000). Eine längs verlaufende, auch im Lichtmikroskop erkennbar Furche zeigt, dass es sich um Zwillingskristalle handelt (Cody und Horner, 1983). Arnott und Webb (2000) konnten die Zwillingsnatur auch bei *Vitis mustangensis*-Raphiden polarisationsmikroskopisch sichtbar machen; sie glauben, dass dadurch die Nadeln mechanisch stabiler sind. Bei *Vitis vinifera* gelang mir das nicht. Bei zahlreichen anderen, von mir untersuchten Arten sahen die beiden Enden der Raphiden immer gleich spitz aus.

Ein Raphiden-Idioblast enthält eigentlich immer nur ein Raphiden-Bündel. Das kann die Zelle fast ganz ausfüllen (Abb. 6), ist manchmal aber wesentlich kleiner als diese (Abb. 3). Nur in sehr großen und langen Idioblasten können mehrere Bündel aneinander gereiht sein und ineinander übergehen. Die Nadeln eines Bündels sind meistens, aber nicht immer, etwa gleich lang und enden auf gleicher Höhe, so dass ein Bündel in Seitenansicht als Rechteck erscheint. Es gibt aber auch Bündel, in denen die Nadeln gegeneinander verschoben sind, woraus ein Parallelogramm-Profil resultiert (Abb. 4). Manchmal scheinen sie auch unregelmäßig gepackt zu sein, was aber auch eine Folge der Präparation sein kann.

Die Raphiden vom Wein, die ja unterschiedliche Enden haben, sind weder strikt parallel noch strikt antiparallel orientiert, so dass an der Stirnseite eines Bündels spitze und breite Enden in verschiedener Zahl zu finden sind (Abb. 5), wie auch bei *Pistia* (Franceschi und Nakata, 2005; Kostman und Franceschi, 2000).

Die Raphiden liegen in einer Vakuole des Idioblasten, zumindest entstehen sie dort. Sie sind beim Wein und wohl auch bei anderen Pflanzen eingebettet in eine schleimige Matrix aus Polysacchariden, Glycoproteinen und Polypeptiden (Webb et al., 1995). Es ist nicht schwer, diese Matrix in Mikrotomschnitten färberisch nachzuweisen, beispielsweise mit Toluidinblau (Webb et al., 1995). Bei Handschnitten gelingt das weniger leicht, wohl weil die Nachweisreagenzien nur schlecht in die Idioblasten eindringen. Mit dem optischen Aufheller Tinopal (Schnepf, 2005) ließ sich diese Matrix beim Kleinblütigen Springkraut (*Impatiens parviflora*) anfärben, allerdings nur schwach und nicht in allen Idioblasten.

Die Zellwand eines Raphiden-Idioblasten sieht manchmal ganz so aus wie die Wände der Nachbarzellen. Häufig ist sie aber auffällig verdickt. Sie kann zudem verholzt oder verkorkt sein. Im Mesophyll grenzt sie auch an Interzellularen (Abb. 6). Besonders interessant sind die lang gestreckten Raphiden-Idioblasten einiger Araceen. Ihre Seitenwände sind stark verdickt (Abb. 6). Dabei sind bei *Philodendron*-Arten die Zellulose-Fibrillen nicht quer zur Längsachse oder schraubig orientiert, wie man vermuten würde, sondern weitgehend parallel zu ihr, wie sich leicht polarisationsmikroskopisch zeigen, aber nicht im Schwarzweißdruck dokumentieren lässt. Die Mikrotubuli verlaufen hingegen quer zur Längsachse, wenn die Raphiden-Idioblasten von *Pistia* heranwachsen (Kostman und Franceschi, 2000).

Die Endwände der Raphiden-Idioblasten mancher Araceen sind sehr dünn und wenig fest. Da anscheinend der Zellinhalt unter hohem Druck steht, kann es passieren, dass die Raphiden teilweise aus dem Idioblasten herausgeschossen werden, wenn das Blatt mechanisch oder durch die Aufhellung mit Phenol strapaziert wird. Das hat schon Haberlandt (1924) bei *Pistia* beobachtet und für eine Abwehrreaktion der Pflanze gehalten. Abbildung 7 zeigt solch einen Idioblasten aus dem Schwammparenchym des Blattes von *Sygonium wendlandi*. Im Palisadenparenchym dieser Blätter sind außer Drusen andere, weniger lang gestreckte und nicht schießfähige Raphiden-Idioblasten.

Prismatische oder pyramidale Einzelkristalle

Die Form und Größe der mehr oder weniger prismatischen oder pyramidalen Kristalle variiert stark. Sie liegen meist in mehr oder weniger normal aussehenden Zellen (Abb. 8), also nicht eigentlich in Idioblasten. In den Blättern des Bergahorns (*Acer pseudoplatanus*) sind sie um die Leitbündel konzentriert (Abb. 9). Die starke Doppelbrechung der Bergahorn-Kristalle (Abb. 10) deutet darauf hin, dass sie aus Monohydrat bestehen. In Begonien-Blättern gibt es Prismen aus Dihydrat (Küster, 1956).

Bei der Schwertbohne, der Fabacee *Canavalia ensiformis*, liegen Kristall-Idioblasten in der oberen und unteren Blattepidermis jeweils paarweise zusammen, ähnlich wie die Schließzellenpaare, und sie enthalten je einen länglichen Einzelkristall, der von einer Hülle aus

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vor

lignifizierter Zellulose umgeben ist (Frank, 1967). Er besteht aus Monohydrat (Horner und Zindler-Frank, 1982). Die zweite Zellschicht von Bohnen- (*Phaseolus*-)Samen enthält geknickte Zwillings-Einzelkristalle, ebenfalls aus Monohydrat (Arnold und Webb, 1983).

Styloide

Styloide unterscheiden sich von anderen Einzelkristallen dadurch, dass sie lang gestreckt, oft balken- oder lang plattenförmig sind. In *Iris*-Blättern findet man sie in Idioblasten, was aber in den aufgehellten Präparaten nicht immer gut

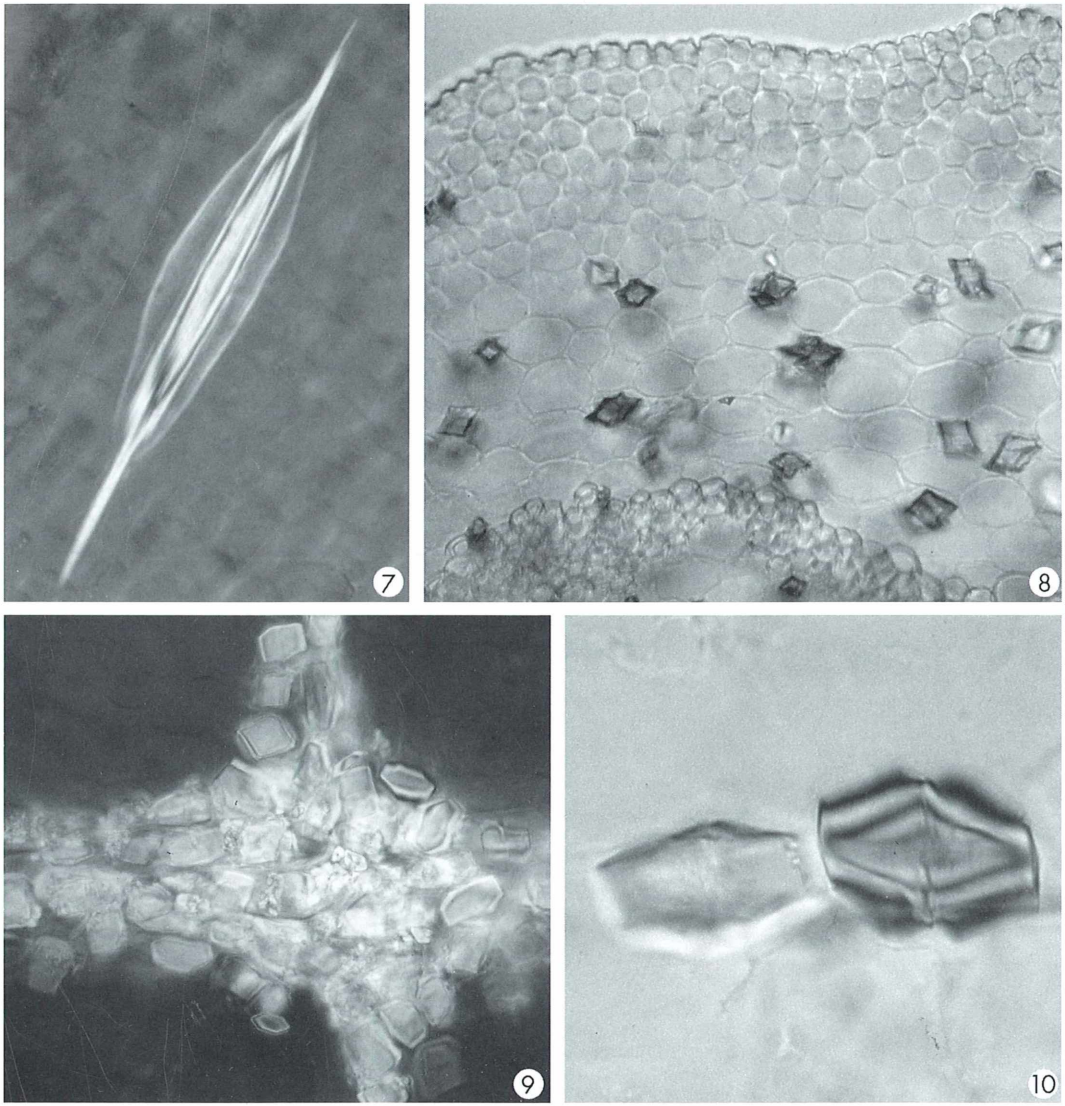


Abb. 7: *Sygonium wendlandii,* Blatt. Idioblast, bei dem Raphiden infolge der Präparation an beiden Zellenden herausgeschossen sind. Vergr. 500fach. – Abb. 8: *Acer pseudoplatanus,* Blattstiel. Rindenzellen mit Einzelkristallen. Vergr. 260fach. – Abb. 9: *Acer pseudoplatanus,* Blatt. Zellen mit Einzelkristallen umgeben das Leitbündel. Vergr. 410fach. – Abb. 10: *Acer pseudoplatanus,* Blatt. Stark doppelbrechende Zwillingskristalle. Vergr. 1100fach.

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

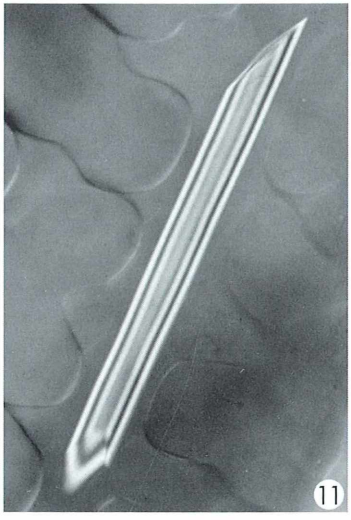
zu erkennen ist, weil diese Idioblasten relativ dünne Zellwände haben. Das Linienmuster, das sie im Polarisationsmikroskop aufweisen (Abb. 11), zeigt ihre starke Doppelbrechung an: Es handelt sich um Monohydrat (Küster, 1956). In der Regel enthält ein Idioblast nur einen Kristall.
Das ist bei den Styloiden in der trockenen, braunen äußeren Epidermis von Küchenzwiebeln anders. Hier fällt das Calciumoxalat beim Eintrocknen der Epidermis in allen Zellen aus. Es gibt also keine speziellen Idioblasten. In einer Zelle können einzelne oder mehrere balken- oder lang plattenförmige Kristalle liegen (Abb. 12), die sich manchmal auch überkreuzen (Abb. 13). Sie sind nur schwach doppelbrechend, denn sie bestehen aus Dihydrat (Küster, 1956).

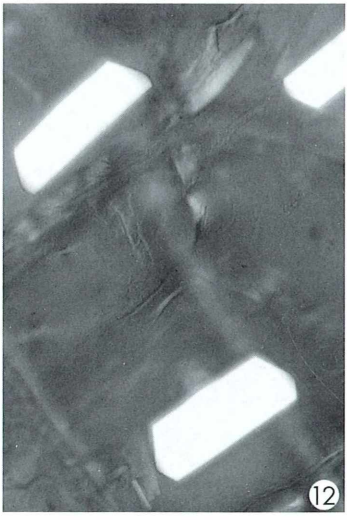
Kristallsand

Kleine Calciumoxalat-Kristalle kommen in den Vakuolen vieler Zellen vor. Oft sind es nur einige wenige, und nur mit dem Polarisationsmikroskop findet man sie. Sie sind unregelmäßig rhombisch oder prismatisch (Abb. 14). Wenn sie dicht gepackt sind, spricht man von Kristallsand. Den findet man beispielsweise in den Blättern vieler Nachtschattengewächse und von Zuckerrüben und – besonders eindrucksvoll – in Holunderblättern an den Leitbündeln und im Mesophyll (Abb. 15). Hier sind kleine Gruppen von Zellen so dicht mit Kristallsand erfüllt, dass sie völlig undurchsichtig werden (Abb. 15). Abgesehen vom Inhalt sehen beim Holunder diese Kristallsand-Zellen ganz normal aus. Das ist nicht immer so. Abbildung 16 zeigt einen Kristallsand-Idioblasten von *Impatiens*. Seine Zellwand ist dicker als die der Nachbarzellen und der Sand selbst ist von einer wandähnlichen Schicht umhüllt.

Drusen

Drusen sind weit verbreitet und häufig. Sie können in sonst ganz normalen Zellen liegen, aber auch in speziellen Idioblasten; dazu gibt es Übergänge. Die Drusenzellen können unregelmäßig im Gewebe verteilt sein (Abb. 17) aber auch Reihen oder andere Gruppen bilden. Es gibt auch Gewebe, in denen jede Zelle eine Druse hat. So enthalten alle Palisadenparenchymzellen der Blätter von *Sygonium wendlandii*, einer Aracee, je eine kleine Druse (Abb. 18), die von einer wandähnlichen Hülle umgeben ist. In seltenen Fällen wird mehr als





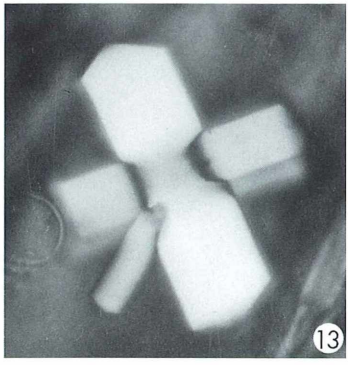
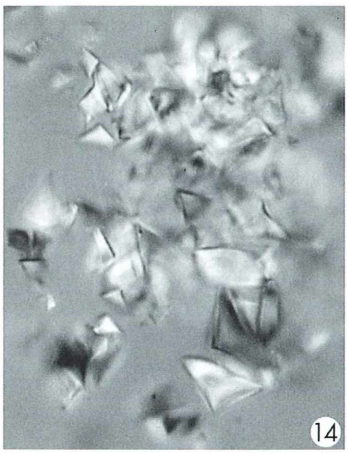
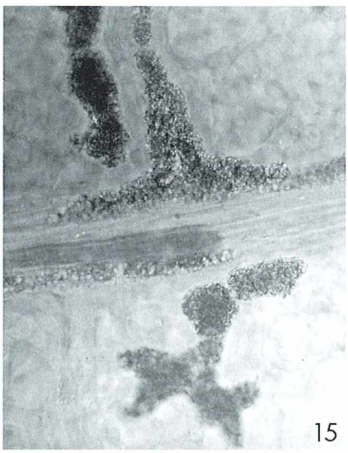


Abb. 11: *Iris germanica*, Blatt. Stark doppelbrechender Styloid. Vergr. 630fach. – Abb. 12: *Allium cepa*, äußere Zwiebelschuppe. Trockene Epidermiszellen mit Styloiden. Vergr. 470fach. – Abb. 13: *Allium cepa*, äußere Zwiebelschuppe. Trockene Epidermiszelle mit kreuzförmig entwickelten Kristallen. Vergr. 800fach.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vor

eine Druse pro Zelle gebildet. Gelegentlich, so bei *Datura* und anderen Nachtschattengewächsen, kann sich Kristallsand zu Drusen zusammenballen, und auch aus sich mehrfach überkreuzenden Styloiden können drusenähnliche Gebilde entstehen.
Häufig hat eine Druse ein nicht-kristallines Zentrum, von dem aus prismatische oder plattenförmige Teilkristalle ausstrahlen (Abb. 17 und 19). Die Drusen können aus Monohydrat oder Dihydrat gebildet werden. Aus Dihydrat bestehen die Drusen von *Begonia* (Horner und Zindler-Frank, 1982) (Abb. 19). Sie sind deutlich weniger stark doppelbrechend als die Drusen vom Efeu und anderen Pflanzen, was allerdings durch Fotos schlecht zu dokumentieren ist.





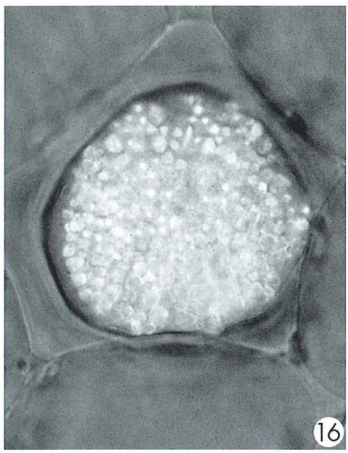
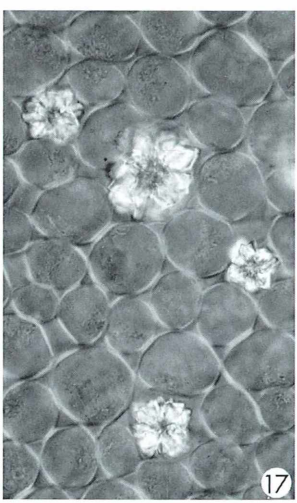


Abb. 14: *Sambucus nigra,* Blatt. Herausgekratzter Kristallsand. Vergr. 1160fach. – Abb. 15: *Sambucus nigra,* Blatt. Kristallsand-Idioblasten im Mesophyll und an den Leitbündeln. Vergr. 160fach. – Abb. 16: *Impatiens niamniamensis,* Blatt. Idioblast mit Kristallsand, der von einer Hülle umschlossen ist. Vergr. 770fach.



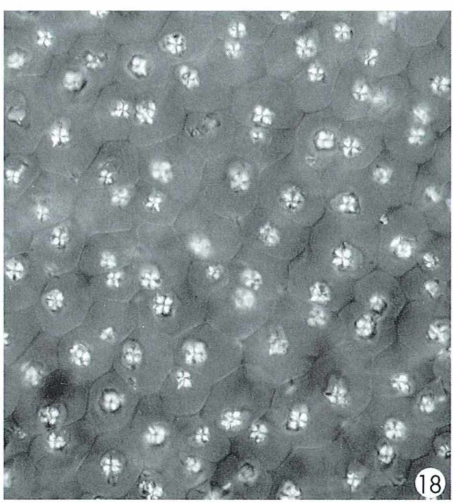


Abb. 17: *Hedera helix,* Blatt. Einzelne Zellen mit Drusen im Palisadenparenchym. Vergr. 270fach. – Abb. 18: *Sygonium wendlandii,* Blatt. Jede Palisadenparenchymzelle enthält eine kleine Druse, die von einer nicht immer gut sichtbaren Hülle umschlossen ist. Vergr. 155fach. – Abb. 19: *Begonia maculata,* Blattstiel. Drusen mit relativ schwacher Doppelbrechung. Vergr. 770fach.

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

Funktion von Calciumoxalat-Kristallen

Über die Funktion von Calciumoxalat-Kristallen wurde und wird viel spekuliert (Franceschi und Nakata, 2005; Lersten und Horner, 2004). Nultsch (1991) schreibt, dass durch sie *die im Stoffwechsel anfallende Oxalsäure, die ein starkes Zellgift darstellt, in unlöslicher Form ausfällt und damit entgiftet wird.* Dagegen spricht, dass es anscheinend einen speziellen Stoffwechselweg gibt, in dem die Oxalsäure aus Ascorbinsäure gebildet wird. Die meisten Autoren nehmen an, dass die Oxalsäure gebildet wird, um überschüssiges Calcium zu binden (Franceschi und Nakata, 2005; Lersten und Horner, 2004). Beim Laubfall und beim Ablösen der Borke wird dieses dann entsorgt.

Dafür spricht auch, dass die Zahl und Größe der Kristalle durch die Versorgung der Pflanze mit viel oder wenig Calcium gesteigert oder vermindert wird. Das wurde vielfach experimentell nachgewiesen, unter anderem von Frank (1972). Bei der Wasserlinse *Lemna* und der Fabacee *Gleditsia* werden bei viel Calcium im Medium sogar mehr und größere Idioblasten gebildet, wobei aber eine Obergrenze nicht überschritten wird (Borchert, 1986; Mazen et al., 2004). Damit steht in Zusammenhang, dass die Kristalle als Speicher von Calcium dienen können und dieses bei Mangel wieder abgeben (Franceschi, 1989; Webb, 1999). Beim Austreiben des Wilden Wein *Parthenocissus* wird Calcium aus den Kristallen mobilisiert (Mazen et al., 2004). In den Blättern von *Pistia stratoides* werden bei Calciummangel die Drusen, nicht aber die Raphiden teilweise aufgelöst. (Volk et al., 2000).

Dass in zahlreichen Fällen die Kalkoxalatkristalle sekundär auch als mechanische Schutzmittel gegen Tierfraß in Betracht kommt, namentlich wenn sie von spießförmiger Gestalt oder als Raphiden entwickelt sind, kann kaum einem Zweifel unterliegen meinte Haberlandt (1924). Er bezieht sich dabei auf Fütterungsversuche mit Schnecken. Arnott und Webb (2000) sind ebenfalls der Ansicht, dass die Raphiden den Wein vor Tierfraß schützen. Wie schon in der Einleitung erwähnt, wird aber der Mensch (und werden Stare) nicht davon abgehalten, Weintrauben und Weinblätter zu essen. Wenn man aber ein kleines (!) Blattstückchen von einer Calla (*Zantedeschia aethiopica*, Araceae) im Mund zerdrückt (Vorsicht, die Blätter sind giftig!), spürt man einen brennenden Schmerz, wie ein Selbstversuch ergeben hat. Ein Blattstückchen vom Aronstab hat vermutlich eine ähnliche Wirkung. Vermutlich erzeugen die Raphiden winzige Wunden, durch die das Gift dann eindringen kann. Genau so funktionieren die Brennhaare der Wolfsmilchgewächse *Tragia* (Thurston, 1976) und *Dalechampia* (Haberlandt, 1924), die aber viel stärker wirken. In diesem Zusammenhang ist es interessant, dass Arbeiter, die aus Agavensaft Tequila machen, oft unter einer Kontaktdermatitis leiden. Ein Milliliter Agavensaft enthält 6.000 Raphiden (Franceschi und Nakata, 2005). Auf den regelrechten Abschuss der Raphiden bei einigen Araceen ist schon oben hingewiesen worden.

Der Schutz, den Calciumoxalat-Kristalle gegen Tierfraß bieten, ist wohl aber nicht sehr hoch. In Kastanienblättern lässt sich die Miniermotte nicht durch Drusen vom Fraß abhalten, sie verschmäht diese aber. Ähnlich frisst ein Minierer in Ampferblättern nur das drusenfreie Palisadenparenchym, nicht aber das Schwammparenchym, das Drusen enthält.

Als weitere Funktionen von Calciumoxalat-Kristallen diskutieren Franceschi und Nakata (2005) die Entgiftung von Metallen wie Strontium und Kupfer, die anstelle von Calcium in die Kristalle eingelagert werden.

Die Entstehung und Entwicklung der Calciumoxalat-Kristalle und ihres Verteilungsmusters im Gewebe wird im folgenden Artikel beschrieben.

Literaturhinweise

Arnott, H. J., Webb, M. A.: Twin crystals of calcium oxalate in the seed coat of the kidney bean. Protoplasma *114*, 23–34 (1983).

Arnott, H. J., Webb, M. A.: Twinned raphides of calcium oxalate in grape (*Vitis*): Implications for crystal stability and function. Int. J. Plant Sci. *161*, 133–142 (2000).

Borchert, R.: Calcium acetate induces calcium uptake and formation of calcium-oxalate crystals in isolated leaflets of *Gleditsia triacanthos* L. Planta *168*, 571–578 (1986).

Cody, A. M., Horner, H. T.: Twin raphides in the Vitaceae and Araceae and a model for their growth. Bot. Gaz. *144*, 318–330 (1983).

Franceschi, V. R.: Calcium oxalate formation is a rapid and reversible process in *Lemna minor*. Protoplasma *148*, 130–137 (1989).

Franceschi, V. R., Nakata, P. A.: Calcium oxalate in plants: Formation and function. Annu. Rev. Plant Biol. *56*, 41–71 (2005).

Frank, E.: Zur Bildung des Kristallidioblastenmusters bei *Canavalia ensiformis* DC. I. Z. Pflanzenphysiol. *58*, 33–48 (1967).

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

Frank, E.: The formation of crystal idioblasts in *Canavalia ensiformis* DC at different levels of calcium supply. Z. Pflanzenphysiol. *67*, 350–358 (1972).
Haberlandt, G.: Physiologische Pflanzenanatomie. 6. Auflage, Engelmann Verlag, Leipzig 1924.
Horner, H. T., Wagner, B. L.: Incorporation of [14C] precursors into roots of *Yucca* to study calcium oxalate crystal formation. Amer. J. Bot. *76*, Suppl. 38 (1989).
Horner, H. T., Jr., Whitmoyer, R. E.: Raphide crystal cell development in leaves of *Psychotria punctata* (Rubiaceae). J. Cell Sci. *11*, 339–355 (1972).
Horner, H. T., Zindler-Frank, E.: Histochemical, spectroscopic, and x-ray diffraction identification of the two hydration forms of calcium oxalate crystals in three legumes and *Begonia*. Canad. J. Bot. *60*, 1021–1027 (1982).
Kostman, T. A., Franceschi, V. R.: Cell and calcium oxalate crystal growth is coordinated to achieve high-capacity calcium regulation in plants. Protoplasma *214*, 166–179 (2000).
Küster, E.: Die Pflanzenzelle. 3. Auflage, Fischer Verlag, Jena 1956.
Mazen, A. H. A., Zhang, D., Franceschi, V. R.: Calcium oxalate formation in *Lemna minor*: physiological and ultrastructural aspects of high capacity calcium sequestration. New Phytol. *161*, 435–448 (2004).
Nultsch, W.: Allgemeine Botanik. 9. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart 1991.
Pennisi, S. V., McConnell, D. B., Gower, L. B., Kane, M. E., Lucansky, T.: Intracellular calcium oxalate crystal structure in *Dracaena sanderiana*. New Phytol. *150*, 111–120 (2001).
Schnepf, E.: Optische Aufheller: Leuchtende Werkzeuge für die Mikroskopie. Teil 1: Mechanismen und Substrate der Fluochromierung. Mikrokosmos *94*, 175–180 (2005).
Thurston, E. L.: Morphology, fine structure and ontogeny of the stinging emergence of *Tragia ramosa* and *Tragia saxicola* (Euphorbiaceae). Amer. J. Bot. *63*, 710–718 (1976).
Volk, G. M., Lynch-Holen, V. J., Kostman, T. A., Goss, L. J., Franceschi, V. R.: The role of druse and raphide calcium oxalate crystals in tissue calcium regulation in *Pistia stratiotes* leaves. Plant Biol. *4*, 34–45 (2002).
Webb, M. A.: Cell-mediated crystallization of calcium oxalate in plants. Plant Cell *11*, 751–761 (1999).
Webb, M. A., Cavaletto, J. M., Carpita, N. C., Lopez, L. E., Arnott, H. J.: Intravacuolar organic matrix associated with calcium oxalate crystals in leaves of *Vitis*. Plant J. *7*, 633–648 (1995).

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

Nachrichten

Meeresbiologische Exkursionen und Tauchkurse auf Elba 2006

Das Institut für Meereswissenschaften (Hydra) auf der Insel Elba bietet im Jahr 2006 wieder eine Reihe von Meeresbiologischen Exkursionen und Tauchkursen an. Folgende Angebote stehen zur Verfügung:

Frühjahr

22.03.–01.04. Marine Lebensräume
02.04.–12.04. Allgemeine Meeresbiologie

Sommer

22.07.–01.08. Spezialkurs: Fische
01.08.–11.08. Marine Zoologie
12.08.–22.08. Marine Lebensräume
23.08.–02.09. Allgemeine Meeresbiologie

Herbst

03.09. – 13.09. Allgemeine Meeresbiologie
14.09. – 24.09. Marine Zoologie
25.09. – 05.10. Marine Lebensräume
25.09. – 05.10. Methoden der Unterwasserforschung (nur für Taucher)

Der Preis beträgt 500 €, bei den Sommerkursen 530 €. Bei der Teilnahme als Tauchschüler/in wird eine zusätzliche Prüfungsgebühr von 30 € erhoben.

Die Leistungen enthalten zehn Übernachtungen in Gruppenappartements und einen achttägigen Biokurs mit acht geführten Biotauchgängen, beziehungsweise einen achttägigen Biokurs und Tauchkurs VDTL/cedip Bronze, jeweils inklusive kompletter Leihausrüstung.
Tauchkurs Bronze (parallel zu den Exkursionsterminen): Der Preis für einen reinen Tauchkurs beträgt 440 € (Sommerkurse 470 €) inklusive der Prüfungsgebühr.

Anmeldungen:

Institut für Meereswissenschaften
HYDRA
Privates Lehr- und Forschungszentrum

Institut für Meereswissenschaften AG,
Bothmerstr. 21, D-80634 München,
Tel.: 089/13 06 01 31, Fax: 089/13 06 01,
e-mail: ifm@hydra-institute.com,
homepage:
www.hydra-institute.com/elba/elbahome.htm

Redaktion MIKROKOSMOS

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

10. Sommerworkshop in der Feldberger Seenlandschaft

Der zum zehnten Mal durchgeführte gewässerkundliche Sommerkurs in der Feldberger Seenlandschaft hat sich unterdessen zu einer Gemeinschaftsveranstaltung des Instituts für angewandte Gewässerökologie GmbH, der Technischen Universität Berlin (Institut für Technischen Umweltschutz, Arbeitskreis von PD Dr. W. Frenzel), der Arbeitsgemeinschaft BONITO e.V. und der federführenden Humboldt Universität Berlin (Institut für Chemie, Arbeitskreis von Prof. Dr. M. Linscheid) entwickelt. Jeder Mitwirkende bringt seine Erfahrungen und Kompetenzen ein, so dass immer wieder ein anspruchsvolles Programm angeboten werden kann, das bei den Teilnehmern sehr gut ankommt (Abb. 1).

Es fanden wieder zwei Kurse statt. Im 1. Kurs (28.08.05–02.09.05) konnten 16 Teilnehmer begrüßt werden, davon 11 Chemiestudenten der HU Berlin, eine Sekretärin der HU (mit romanistischer Ausbildung), ein Mitarbeiter der Grünen Liga (Landschaftsplaner), eine Studentin für Technischen Umweltschutz der TU Berlin, ein Umweltverfahrenstechnikstudent der FHTW Berlin und eine Studentin der Geoökologie von der Universität Potsdam. Im 2. Kurs (4.9.05–9.9.05) waren es 15 Teilnehmer, davon 14 Chemiestudenten und eine Geographiestudentin der HU Berlin.

Erneut bot die ehemalige Krüseliner Amtsmühle für Teilnehmer und Betreuer Quartier und Verpflegung zu günstigen Konditionen. Ausreichend Raum stand ebenfalls wieder für das aus Berlin antransportierte moderne Wasserlabor und das umfangreiche Zubehör zur Verfügung. Die günstige Lage der Mühle am landschaftlich sehr schönen und klaren Krüselinsee bot den Interessenten zusätzlich Möglichkeiten zur Erholung, zu Spaß und Spiel, war aber auch Ausgangspunkt für Wanderungen durch die herrliche, eiszeitlich geprägte Feldberger Seen- und Endmoränenlandschaft.

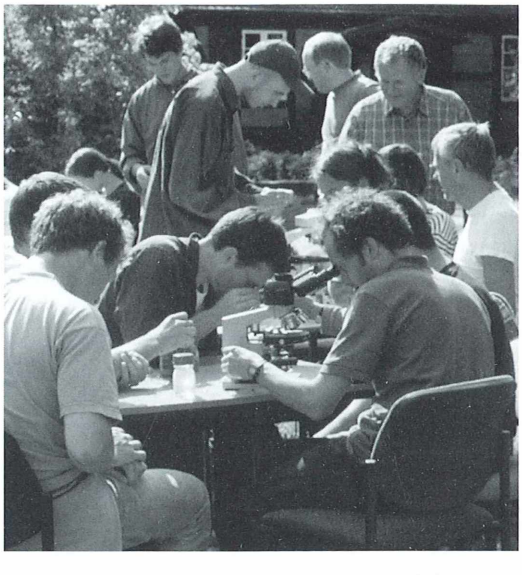


Abb. 1: Teilnehmer des 10. Sommerworkshops in der Feldberger Seenlandschaft beim Sortieren und Auswerten der Proben.

Mit insgesamt zehn sich abwechselnden Fachkräften der genannten Institute sowie der Arbeitsgemeinschaft BONITO und des Naturparks Feldberger Seenlandschaft war für beide Lehrgänge wieder eine überdurchschnittlich gute Betreuung möglich.

Das Programm bot nach dem Sich-kennen-lernen am Begrüßungsabend Einführungen in die Grundlagen der Limnologie und Umweltchemie der Binnengewässer und in die Grundprinzipien wichtiger Methoden der instrumentellen Analytik in der Umweltanalytik wie Chromatographie, Voltammetrie und Spektroskopie.

So vorbereitet, fuhren die Teilnehmer in drei Gruppen auf drei, in ihrer Entstehung und Wasserqualität recht unterschiedliche Seen. Das waren der recht klare Krüselinsee, der landschaftlich besonders reizvolle Rinnensee Schmaler Luzin und der nährstoffreiche Feldberger Haussee, der immer noch ein Sorgenkind in der Landschaft ist.

An der tiefsten Stelle des jeweiligen Sees wurden das Temperatur- und Sauerstofftiefenprofil registriert, die Sichttiefe und der Schwefelwasserstoffgehalt bestimmt und Wasserproben aus dem Epi-, Meta- und Hypolimnion sowie eine Sedimentprobe für die chemischen Untersuchungen genommen. Die Proben wurden im Laufe der Woche mit Atomabsorptionsspektroskopie, Fließinjektionsanalyse, Inversvoltammetrie, Photometrie, Ionenchromatographie und Gaschromatographie auf ihre Gehalte an Härtebildnern, Nährstoffen, Schwermetallen, verschiedenen Anionen und Mineralölkohlenwasserstoffen untersucht. Außerdem wurden der CSB (chemischer Sauerstoffbedarf), BSB_5 (biologischer Sauerstoffbedarf in 5 Tagen), der pH-Wert und die Leitfähigkeit bestimmt.

Eine Wanderung durch die Feldberger Seenlandschaft, die besonders auf die Interessen der Lehrgangsteilnehmer abgestimmt war, wurde von Fachkräften der Naturpark-Verwaltung geleitet. Dabei konnten die Teilnehmer vom Feldberger Hüttenberg und vom Hauptmannsberg die vielgestaltigen oberen und unteren Seen gut überblicken. Hinweise auf die eiszeitliche Entstehung der Landschaft, den Verlauf der Endmoränen und der Schmelzkerbe sowie auf die Tier- und Pflanzenwelt trugen zur besseren Kenntnis der Genese dieser Landschaftszelle bei.

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

Ein Diavortrag, den Dipl.-Biol. Wolfgang M. Richter, wissenschaftlicher Leiter der Arbeitsgemeinschaft BONITO, hielt, vermittelte anschließend den Teilnehmern einen Einblick in die seit 1959 in der Feldberger Seenlandschaft ausgeführten seenkundlichen, aber auch heimatkundlichen Arbeiten. Diese verfolgten immer den Zweck, die Seenlandschaft nicht nur kennen zu lernen sowie über und unter Wasser fotografisch zu dokumentieren, sondern sie auch vor schädlichen Beeinflussungen zu schützen. Besonderes Interesse erweckten die im Verlaufe von 45 Jahren vom Vortragenden aufgenommen Unterwasserfotos, die wertvolle Dokumente zur Gewässerentwicklung sind.

In einer historischen Geräteausstellung konnte von den Lehrgangsteilnehmern wieder das seinerzeit selbst gefertigte Untersuchungsgerät der Gruppe besichtigt werden. PVC-Ruttnerschöpfer, Sauerstoffkolorimeter, Strömungsmesser aus Stromzählern, Unterwasserkameras und vieles mehr war da aufgebaut und wurde erklärt.

Der letzte Tag war für die gewässerbiologischen Untersuchungen vorgesehen. Nach dem einführenden Vortrag von Dr. Lothar Täuscher wurden der Krüselinsee und der Haussee mit dem Ziel bereist, Plankton zu schöpfen und vorkommende Makrophyten festzustellen (Abb. 2). BONITO zeigte dabei den Einsatz eines Schließnetzes für unterschiedliche Tiefen sowie eine Küvette, mit der man schon im Boot eine Grobübersicht vom Fang erhalten kann. Anschließend bestimmte Herr Täuscher die eingesammelten Wasserpflanzen und ordnete sie der Wasserqualität des jeweiligen Gewässers zu. Dann wurde der lichtmikroskopische Gerätepark genutzt, um Vertreter des Phyto- und Zooplanktons kennen zu lernen (Abb. 3). Zum Schluss wurden alle Ergebnisse zusammengefasst, den Teilnehmern vorgestellt und mit ihnen ausführlich diskutiert. Anhand dieser Ergebnisse wurde eine Beurteilung der Gewässer versucht, wohl wissend, dass eine Untersuchungswoche dafür nicht ausreicht.

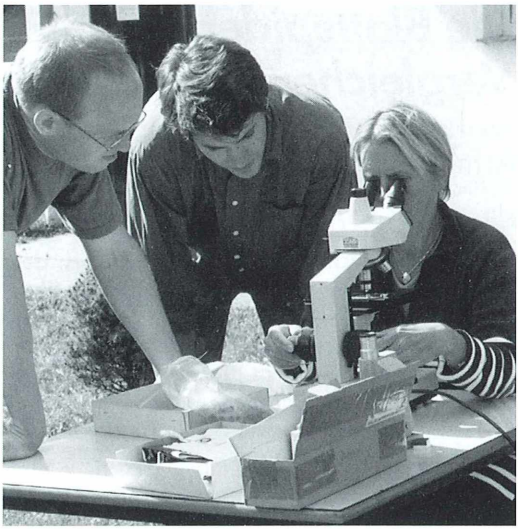


Abb. 3: Im Freien lässt es sich auch prima mikroskopieren.

Abb. 2: Dr. Lother Täuscher demonstriert den Teilnehmerinnen Makrophyten während einer Probennahmefahrt.

Der 11. Sommerworkshop 2006 in der Feldberger Seenlandschaft (Krüseliner Mühle) findet erneut in zwei Lehrgängen vom 03.09. bis 08.09.2006 und vom 10.09. bis 15.09.2006 statt.

Informationen unter:
www.hu-berlin.de/linscheid/sommer/index.html

Dank gilt allen, die sich – auch über ihre beruflichen Verpflichtungen hinaus – wieder bei dieser Veranstaltung engagierten. Der Dank geht an die mitwirkenden Institutionen genau so wie an die Sponsoren: Deutsche Metronom GmbH & Co., Dionex GmbH, Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH, Protekum-Umweltinstitut GmbH und das Landesamt für Forsten und Großschutzgebiete in Mecklenburg-Vorpommern.

Dipl. Biol. Wolfgang Richter, Himmelpforten,
und Dr. Georg Kubsch, Berlin

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

Die Blattepidermis und ihre Spaltöffnungen – Vergleichende mikroskopische Beobachtungen

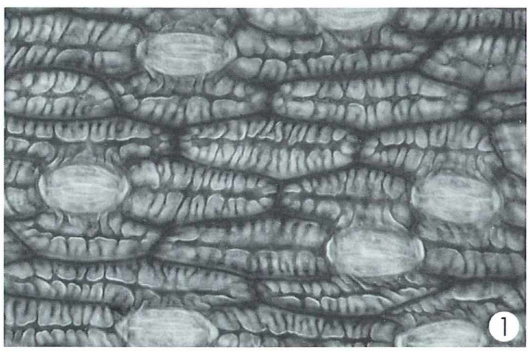
Armin Maidhof

Die Epidermis – das Hautgewebe – der höheren Pflanzen entsteht aus der äußersten Zellschicht des Vegetationspunktes, dem so genannten Dermatogen, und ist in der Regel einschichtig ausgebildet. Sie überzieht den gesamten Vegetationskörper – mit gewissen Einschränkungen bei der Wurzel – und stellt das primäre Abschlussgewebe zur Umwelt dar. Dadurch kommt ihr eine Schutzfunktion vor Verletzungen und Austrocknung zu. Durch die meist flächige Ausbildung der Blattspreite und die damit verbundene große Gesamtfläche ist die Blattepidermis der Hauptumschlagsplatz für Wasserdampf und Gas in Form von Sauerstoff und Kohlendioxid.

Entsprechend den genannten Funktionen weist die Epidermis charakteristische Eigenschaften auf. Die Zellen sind lückenlos ohne Ausbildung von Interzellularräumen aneinandergefügt. Die nach außen grenzenden Zellwände sind mehr oder weniger stark verdickt. Ihnen ist eine besondere Schicht aufgelagert, die Kutikula. Sie besteht aus Estern höherer Fettsäuren (Kutin, Wachs), die der Epidermis eine Wasser abweisende und Luft undurchlässige Eigenschaft verleihen. Die Kutikulaschicht ist häufig durch Falten oder Leisten verstärkt, wodurch die mechanische Festigkeit erhöht und die Schutzwirkung verbessert wird (Abb. 1 und 2).

Widerstreit der Notwendigkeiten

Die sehr schlecht Wasser durchlässige und gasdichte Außenmembran steht den lebensnotwendigen Vorgängen der Wassertranspiration und des Gasaustausches entgegen. Diese Funktionen werden durch besondere Zellformen der Epidermis gewährleistet, die so genannten Schließzellen. Sie treten immer paarweise auf. Zwischen zwei bohnenförmig gekrümmten Schließzellen bildet sich ein spindelförmiger Spalt aus – Porus oder Zentralspalt genannt, – über den ein direkter Kontakt des Innenraums einer Pflanze mit der Außenwelt besteht (Abb. 3). Das System Schließzellen und Porus wird als Spaltöffnung oder Stoma bezeichnet. Durch besondere anatomische Einrichtungen, kombiniert mit physiologischen Vorgängen, ist die Öffnungsweite beziehungsweise der Verschluss der Spaltöffnungen von der Pflanze steuerbar, so dass Wasserdampfabgabe und Gasaustausch den Umweltbedingungen entsprechend geregelt werden können. Auf der Blattunterseite treten die Spaltöffnungen meist in größerer Zahl auf als an der Ober-



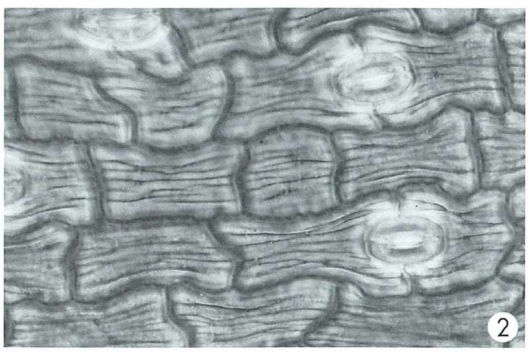


Abb. 1: Afrikanische Schmucklilie (*Agapanthus africanus*). Epidermiszellen mit Kutikularleisten. Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 250fach. – Abb. 2: Karthäuser-Nelke (*Dianthus carthusianorum*). Epidermiszellen mit Kutikularfalten. Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 250fach.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte

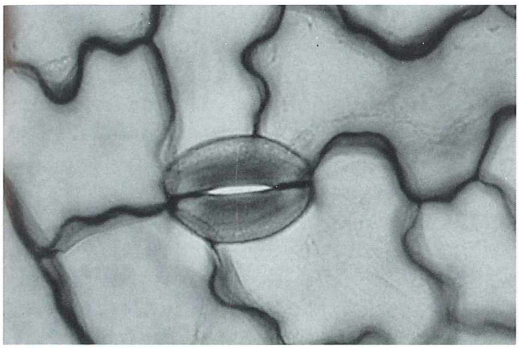


Abb. 3: Spornblume (*Kentranthus ruber*). Spaltöffnung aus zwei bohnenförmigen Schließzellen mit Zentralspalt. Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 950fach.

seite, auf der sie auch vollständig fehlen können. Pro Quadratmillimeter Blattfläche lassen sich im Durchschnitt 100 bis 500 Spaltöffnungen auszählen. Der Raps gehört mit circa 700 Spaltöffnungen pro mm^2 auf der Blattunterseite zu den Spitzenreitern. Die Sonnenblume weist mit durchschnittlich 325 Spaltöffnungen pro mm^2 eine hohe Dichte auf der Blattunterseite auf, während die Blattoberseite nur die Hälfte der Spaltöffnungsdichte der Unterseite erreicht.

Mechanische Gewinnung von Untersuchungsmaterial

Die Herstellung von Epidermispräparaten zur mikroskopischen Untersuchung erfordert keinen oder nur geringen experimentellen Aufwand, so dass auch der Anfänger leicht zum Erfolg kommt. Die einfachste und schnellste Methode zur Gewinnung von Beobachtungsmaterial ist der Blattabzug. Dazu spannt man das Blatt mit Daumen und Mittelfinger über den Zeigefinger, schneidet es mit einer scharfen Rasierklinge etwas ein und zieht mit einer Pinzette die Epidermis ab. Man überträgt das Häutchen mit der Außenseite nach oben auf einen Objektträger in einen Tropfen Wasser, legt ein Deckglas auf und kann mit der mikroskopischen Beobachtung beginnen. Falls es erforderlich ist, kann die Wasserbenetzbarkeit des Häutchens durch Zugabe eines Detergens (Haushalts-Spülmittel) erhöht werden.
Gelingt der Blattabzug in der geschilderten Weise nicht, so kann folgende Variation versucht werden: Man schneidet die Mittelrippe des Blattes längs ein, fasst mit einer Pinzette in den Einschnitt und versucht die Epidermis zum Blattrand hin abzuziehen.
Eine weitere Möglichkeit zur Gewinnung von Beobachtungsmaterial ist der Flächenschnitt. Hierzu spannt man das Blattstück ebenfalls über den Zeigefinger und trägt mit einer scharfen Rasierklinge möglichst dünne Schnitte ab. Diese Methode erfordert etwas Übung. Sind die Schnitte zu dick, so stört das unter der Epidermis liegende Mesophyll.

Chemische Isolierung kombiniert mit mechanischem Abschaben

Falls keine der genannten Vorgehensweisen zur Gewinnung von Untersuchungsmaterial führt, kann eine chemische Isolierung, eventuell kombiniert mit mechanischem Abschaben des Mesophylls, versucht werden. Für die chemische Isolierung existieren sehr aggressive Methoden (Kochen in Natron- beziehungsweise Kalilauge, Behandlung mit Kaliumchlorat-Salpetersäuregemischen). Diese Anwendungen sind nicht ungefährlich und sollten dem erfahrenen Fachmann mit entsprechender Laboreinrichtung überlassen bleiben. Eine schonende, auch für den Hobby-Mikroskopiker vertretbare Methode ist die Behandlung von etwa 0,5–1 cm^2 großen Blattstücken mit 3%iger Wasserstoffperoxidlösung, die durch Zugabe von 1% Kalium- oder Natriumphosphat (= di-Alkali-Hydrogenphosphat) alkalisiert wird. Dabei stellt sich ein pH-Wert von 8–9 ein. Vorher werden die Blattstücke mit 70–96%igem Ethanol 1–2 Tage fixiert. In der alkalischen Wasserstoffperoxidlösung verbleiben die Blattstücke bis sie zerfallen oder sich das Mesophyll mechanisch leicht abschaben lässt. Das kann mehrere Tage dauern. Das Abschaben erfolgt zweckmäßigerweise unter einer Präparierlupe mit einer Lanzettnadel oder einer stumpfen Skalpellklinge. Das Abkratzen des Mesophylls kann bei weichen Blättern in fixiertem Zustand auch ohne chemische Behandlung versucht werden. Die gewonnenen Epidermishäutchen lassen sich nach Auswaschen der Wasserstoffperoxidlösung in Wasser untersuchen.

Dauerpräparate

Gelungene Blattabzüge oder Flächenschnitte können zu Dauerpräparaten verarbeitet werden.

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

Hierzu muss Frischmaterial noch in 70%igem Ethanol (Brennspiritus) für 15–30 Minuten fixiert werden. Als Färbung ist Astrablau-Safranin oder Safranin-Fastgreen zu empfehlen. Für sehr zarte Epidermiszellen ist Anilinblau-Eosin geeignet. Epidermiszellen sehr junger Blätter, deren Zellwände noch überwiegend aus Pektin bestehen, färben sich gut mit Methylenblau. Als Einschlussmittel dient Euparal, Malinol oder ein anderes Harz, wobei allerdings Entwässerung der Objekte über eine Alkoholreihe unterschiedlicher Konzentration erforderlich ist. Die epidermalen Auflagerungen an den Zellaußenwänden (Kutin, Wachs) lassen sich durch Anfärben mit Sudan-III nachweisen. Sudan-III gefärbte Objekte müssen in Glyzerin oder Glyzeringelatine eingebettet werden, da bei der Entwässerung der Objekte Sudan-III ausgewaschen wird. Ausführliche Hinweise zur botanischen Mikrotechnik findet man bei Gerlach (1984).

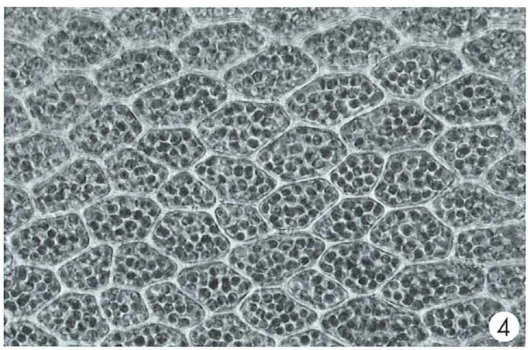
Was beobachtet man?

Trotz der einheitlichen Funktion weist die Blattepidermis Unterschiede in Form, Anordnung und Sonderbildungen ihrer Zellen auf, so dass der Mikroskopiker ein abwechslungsreiches Beobachtungsfeld in den verschiedenen systematischen Einheiten vorfindet.

Moose und Farne

Die Moose (Bryophyta) weisen als niedere Pflanzen nur geringe Zelldifferenzierungen auf. Es können rund 10 verschiedene Zellsorten gezählt werden, wodurch nur ein einfacher Pflanzenaufbau möglich ist. So bestehen die Blättchen der Laubmoose überwiegend aus einer Zellschicht, deren Zellen zahlreiche Chloroplasten enthalten (Abb. 4). Wegen der Einschichtigkeit des Blattes kann noch nicht von einer Epidermis gesprochen werden. Die Zellwände sind zart und besitzen nur eine dünne Kutikula, so dass Wassertranspiration und Gasaustausch über die Zellaußenwände des Blattes erfolgen können. Spaltöffnungen treten bei der haploiden Moospflanze (Gametophyt) noch nicht auf. An den Sporenkapseln (diploider Sporophyt) werden hingegen in geringer Zahl Spaltöffnungen ausgebildet.

Die entwicklungsgeschichtlich höher stehenden Farne (Pteridophyta) zeigen bereits eine stärkere Differenzierung in Zell- und Gewebetypen. Es lassen sich circa 25 verschiedene Zellarten feststellen. Das Farnblatt besteht aus mehreren Zellschichten mit unterschiedlichen Aufgaben, so auch aus einer unteren und oberen Epidermis. Die Epidermiszellen sind unregelmäßig geformt und enthalten Chloroplasten. Eingestreut zwischen den Epidermiszellen liegen, an ihrer speziellen Anatomie erkennbar, zahlreiche Schließzellen, die ebenfalls Chloroplasten enthalten (Abb. 5). Das Vorkommen von Schließzellen beim Farnblatt weist daraufhin, dass hier die Epidermis wasser- und luftundurchlässig ist. Aus entwicklungsgeschichtlicher Sicht treten bei den Farnen die ersten Spaltöffnungen in Blättern auf.



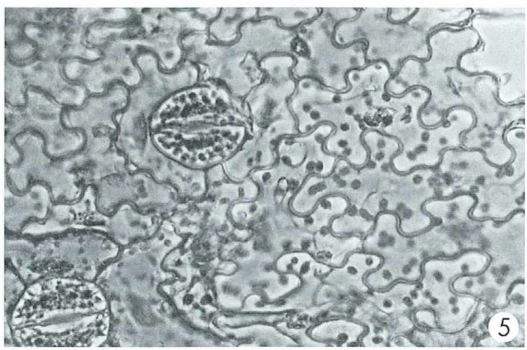


Abb. 4: Laubmoos (*Mnium* spec.). Blättchen aus einschichtigem Zellnetz mit zahlreichen Chloroplasten, aber ohne Spaltöffnungen. Lebendaufnahme, Hellfeld, Vergr. 250fach. – Abb. 5: Frauenfarn (*Athyrium felix-femina*). Schließzellen und Epidermiszellen der Blattunterseite enthalten Chloroplasten. Fastgreen, Hellfeld, Vergr. 250fach.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte

Angiospermen

Die höchste Stufe der Zell- und Gewebsdifferenzierung hat sich bei den bedecktsamigen Pflanzen (Angiospermae) entwickelt. Es sind etwa 75 unterschiedliche Zelltypen beschrieben. Diese Vielfalt lässt auch eine Variabilität in der Ausbildung der Blattepidermis und ihren Spaltöffnungen erwarten. Bei den einkeimblättrigen (Monocotyledoneae) und zweikeimblättrigen Pflanzen (Dicotyledoneae) zeigen sich unter dem Mikroskop auffallende Unterschiede.

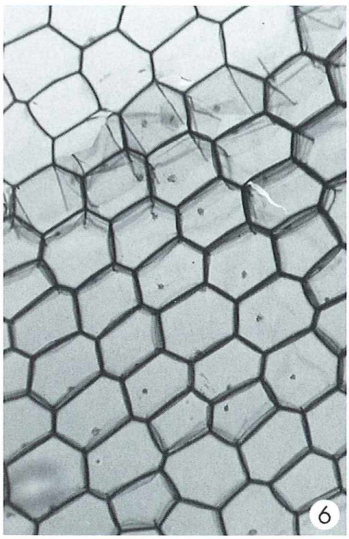
Monokotyle Pflanzen

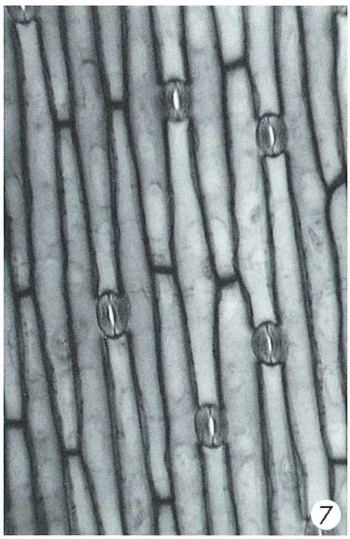
Bei den monokotylen Pflanzen sind die Epidermiszellen von der Fläche her gesehen isodiametrisch polygonal (Abb. 6) oder polygonal und in der Längsachse mehr oder weniger stark gestreckt, wobei die Längsachsen parallel liegen (Abb. 7). Die Schließzellen entwickeln sich an der Schmalseite zwischen zwei benachbarten Zellen. Dadurch kommt es zu einer reihenförmigen Anordnung und einheitlichen Ausrichtung der Spaltöffnungen. Die Längsachsen der Spaltöffnungen und der Epidermiszellen verlaufen mit der Längsachse der Blätter parallel.

Eine Besonderheit der Epidermis bei den Süßgräsern (Gramineae) ist das Auftreten von so genannten Kurzzellen zwischen lang gestreckten Zellen, den Langzellen (Abb. 8). Die Kurzzellen enthalten artspezifisch Kieselsäure oder Korksubstanz und werden entsprechend als Kieselbeziehungsweise Kork-Kurzzellen bezeichnet. Den Hauptteil bilden die in Blattlängsrichtung gestreckten Langzellen mit stark gefältelten Längswänden. An den Schmalseiten der Langzellen sind die Spaltöffnungen in Richtung der Blattachse in Reihen angeordnet.

Dikotyle Pflanzen

Die Epidermiszellen zahlreicher dikotyler Pflanzen sind abgeflacht und ihre seitlichen (antiklinen) Zellwände sind häufig gewellt, so dass sie wie die Steine eines Puzzlespiels stark miteinander verzahnt sind (Abb. 9). Die mechanische Belastbarkeit der Oberhaut ist durch die Verzahnung erhöht. Der kurvige Verlauf der Zellgrenzen wird durch ungleiche Wachstumsvorgänge der antiklinen Zellwände gegenüber den durch Kutinauflagerung mehr oder weniger starren periklinen Außenwänden verursacht. Die Spaltöffnungen sind meist unregel-





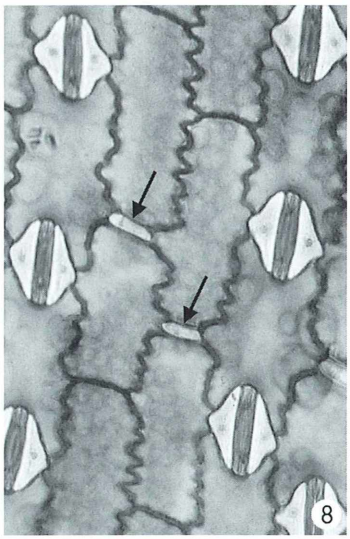


Abb. 6: Dreimasterblume (*Tradescantia albiflora*). Polygonal isodiametrische Epidermiszellen der Blattoberseite. Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 40fach. – Abb. 7: Schneeglöckchen (*Galanthus nivalis*). Epidermiszellen und Spaltöffnungen (Amaryllideentyp) sind parallel ausgerichtet. Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 250fach. – Abb. 8: Mais (*Zea mais*). Epidermiszellen und Spaltöffnungen sind parallel ausgerichtet; zwischen den Langzellen sind Kurzzellen eingelagert (Pfeile). Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 250fach.

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

mäßig zwischen den Epidermiszellen eingestreut ohne parallele Ausrichtung. Auf der Blattoberseite können sie ganz fehlen (Abb. 10). Von diesem weit verbreiteten Erscheinungsbild können zahlreiche Abweichungen beobachtet werden. So besteht beim Neapolitanischen Alpenveilchen (*Cyclamen neapolitanicum*) die Unterseite der Blattepidermis aus stark verzahnten Zellen und Spaltöffnungen, während die Blattoberseite aus polygonalen Zellen gebildet wird und keine Spaltöffnungen aufweist (Abb. 11 und 12). Bei der Stieleiche (*Quercus robur*) setzt sich die Blattepidermis der Ober- wie der Unterseite aus annähernd isodiametrischen Zellen ohne wellenartige Verzahnung zusammen (Abb. 13). Diese isodiametrische Ausbildung der Epidermiszellen ist bei den Laubblättern der Bäume weit verbreitet. Dies überrascht insofern, als man bei der starken mechanischen Beanspruchung der Baumblätter durch Wind und Wetter eine besonders intensive Verzahnung der Epidermiszellen erwarten würde.

Nelkengewächse (Fam. Caryophyllaceae) der Gattung *Dianthus* mit länglichen, grasähnlichen Blättern zeigen wie die einkeimblättrigen Pflanzen bevorzugt längs gestreckte, parallel angeordnete Epidermiszellen, sowie reihenförmig angeordnete und ausgerichtete Spaltöffnungen (Abb. 14). Bei den typischen flächig verbreiterten Blattspreiten der meisten Dikotylen mit unregelmäßig geformten Epidermiszellen ist eine einheitliche Ausrichtung der Spaltöffnungen selten. Eine Tendenz hierzu kann bei Primelgewächsen (Fam. Primulaceae) und auch bei den Nelkengewächsen beobachtet werden (Abb. 15). Zu Inseln zusammengelagerte Spaltöffnungen sind bei Steinbrechgewächsen der Gattung *Saxifraga* charakteristisch (Abb. 16).

Einteilung der Spaltöffnungen

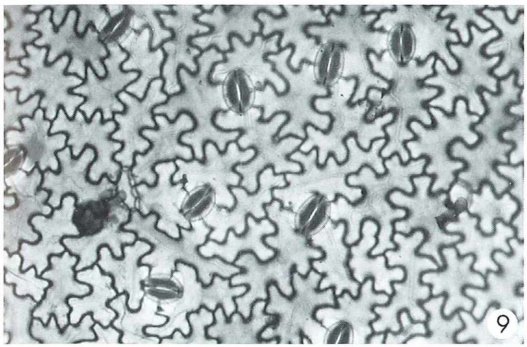
Sowohl bei den einkeimblättrigen als auch bei den zweikeimblättrigen Pflanzen sind die Schließzellen häufig von zwei oder mehreren Nebenzellen eingerahmt (Abb. 17). Die Nebenzellen unterscheiden sich meistens in Form und Färbbarkeit von den übrigen Epidermiszellen. Sie sind funktionell mit den Schließzellen verbunden und unterstützen die Spaltöffnungsfunktion. Schließzellen und Nebenzellen bilden zusammen den Spaltöffnungsapparat.

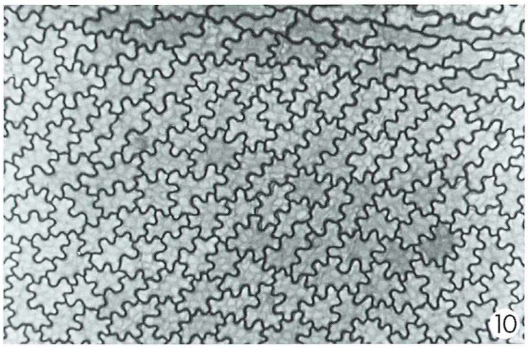
Funktionstypen

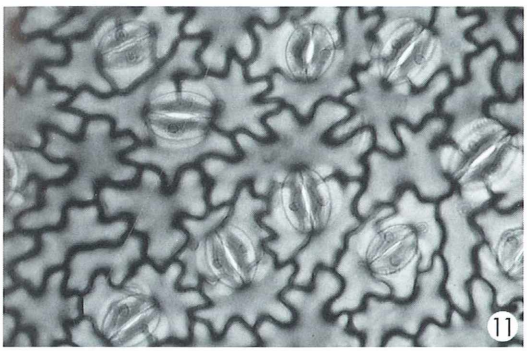
Die für das Schließen beziehungsweise Öffnen des Zentralspaltes verantwortlichen Turgorschwankungen wirken sich durch Besonderheiten im feinanatomischen Aufbau der Schließzellen unterschiedlich auf die Bewegungsrichtung der Zellwände aus. Nach dem Bau und der Bewegungsrichtung der Schließzellen werden die Spaltöffnungen in verschiedene Funktionstypen eingeteilt. Die wichtigsten sind der Amaryllideen-, Helleborus- und Gramineentyp. Durch Verdickungsleisten, die den Zellwänden der Schließzellen in unterschiedlicher Weise aufgelagert sind, verläuft die Bewegungsrichtung beim Amaryllideentyp (Abb. 7) parallel zur Epidermisoberfläche, während sie beim Helleborustyp (Abb. 20) annähernd senkrecht

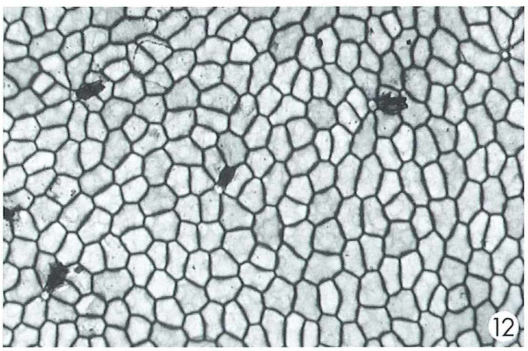
Abb. 9: Ähriger Ehrenpreis (*Veronica spicata*). Epidermiszellen (Blattunterseite) mit stark verzahnten antiklinen Zellwänden, Spaltöffnungen unregelmäßig verteilt. Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 160fach. – Abb. 10: Waldmeister (*Galium odoratum*). Epidermiszellen (Blattoberseite) mit gefalteten antiklinen Zellwänden, ohne Spaltöffnungen. Etzolds Farbgemisch, Hellfeld, Vergr. 60fach. – Abb. 11: Neapolitanisches Alpenveilchen (*Cyclamen herderifolium*). Untere Blattepidermis mit Spaltöffnungen und verzahnten Zellen. Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 250fach. – Abb. 12: Neapolitanisches Alpenveilchen (*Cyclamen herderifolium*). Obere Blattepidermis mit polygonalen und annähernd isodiametrischen Zellen. Spaltöffnungen fehlen. Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 60fach. – Abb. 13: Stieleiche (*Quercus robur*). Untere Blattepidermis aus nicht verzahnten Zellen, mit Spaltöffnungen. Kongorot, Hellfeld, Vergr. 250fach. – Abb. 14: Karthäuser-Nelke (*Dianthus carthusianorum*). Epidermiszellen und Spaltöffnungen längs ausgerichtet und in Reihen angeordnet. Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 160fach. – Abb. 15: Gemeiner Gilbweiderich (*Lysimachia vulgaris*). Untere Blattepidermis aus unterschiedlich großen, verzahnten Zellen und trotzdem annähernd längs ausgerichteten Spaltöffnungen. Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 160fach. – Abb. 16: Trauben-Steinbrech (*Saxifraga paniculata*). Spaltöffnungen sind zu kleinen Inseln angeordnet. Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 160fach. ▶

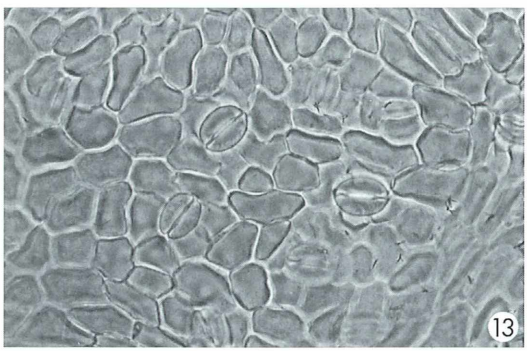
© Elsevier GmbH. Alle Rechte

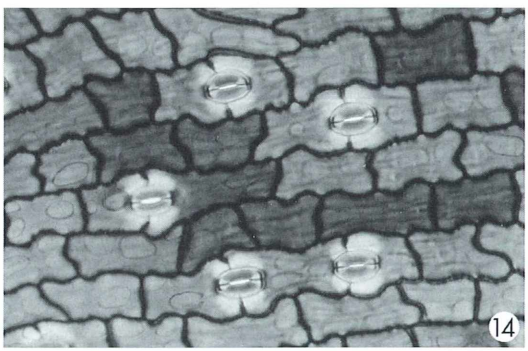

9

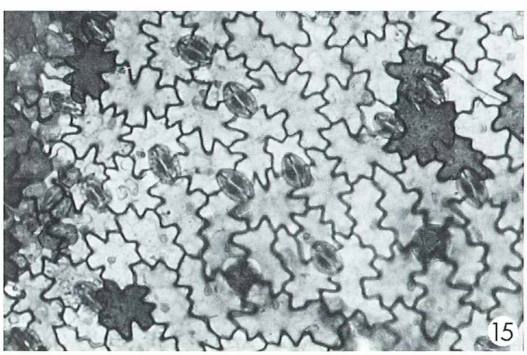

10

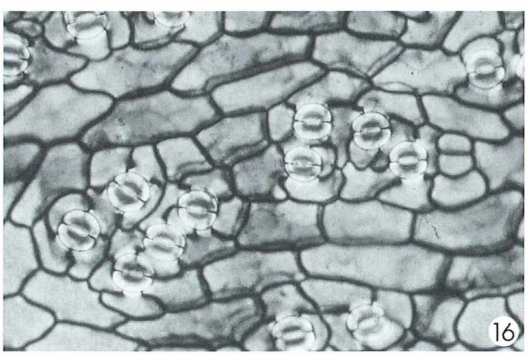

11


12


13


14


15


16

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

zur Epidermisoberfläche erfolgt. Beim Gramineentyp besitzen die Schließzellen hantelförmige Gestalt mit stark verdicktem Mittelteil. Beim Mais liegen ihren Längsseiten Nebenzellen an, die nahezu dreieckig ausgebildet sind (Abb. 18). In den ampullenartig erweiterten, dünnwandigen Enden der Schließzellen (Abb. 19) führen die Turgorschwankungen zu einer Bewegungsrichtung parallel zur Blattoberfläche. Amaryllideen- und Helleborustyp kommen sowohl bei monokotylen als auch bei dikotylen Pflanzen vor, während der Gramineentyp für die Süßgräser (Fam. Poaceae) und Sauergräser (Fam. Cyperaceae) bezeichnend ist. Mit Ausnahme des Gramineentyps lässt sich eine Zuordnung zu den Funktionstypen nur an Hand von Blattquerschnitten unter Zuhilfenahme eines Lehrbuchs der Botanik abklären (Sitte et al., 1998).

Morphologische Typen

Auf Grund der Anordnung der Nebenzellen zu den Schließzellen wird eine Reihe von morphologischen Spaltöffnungstypen unterschieden. Diese spielen als Bestimmungsmerkmal bei der pharmazeutischen Drogenanalyse von Pflanzenzubereitungen eine bedeutende Rolle. Die wichtigsten Typen sind:

Anomocytischer Typ: Die den Schließzellen benachbarten Zellen sind von den übrigen Epidermiszellen in Form und Größe nicht verschieden. Dieser Typ ist bei den Hahnenfußgewächsen (Ranunculaceen) weit verbreitet (Abb. 20).

Anisocytischer Typ: Die Schließzellen sind von meist drei Nebenzellen umgeben, von denen eine deutlich kleiner als die beiden anderen ist. Bei den Kreuzblütlern (Brassicaceen) ist dieser Aufbau häufig (Abb. 21).

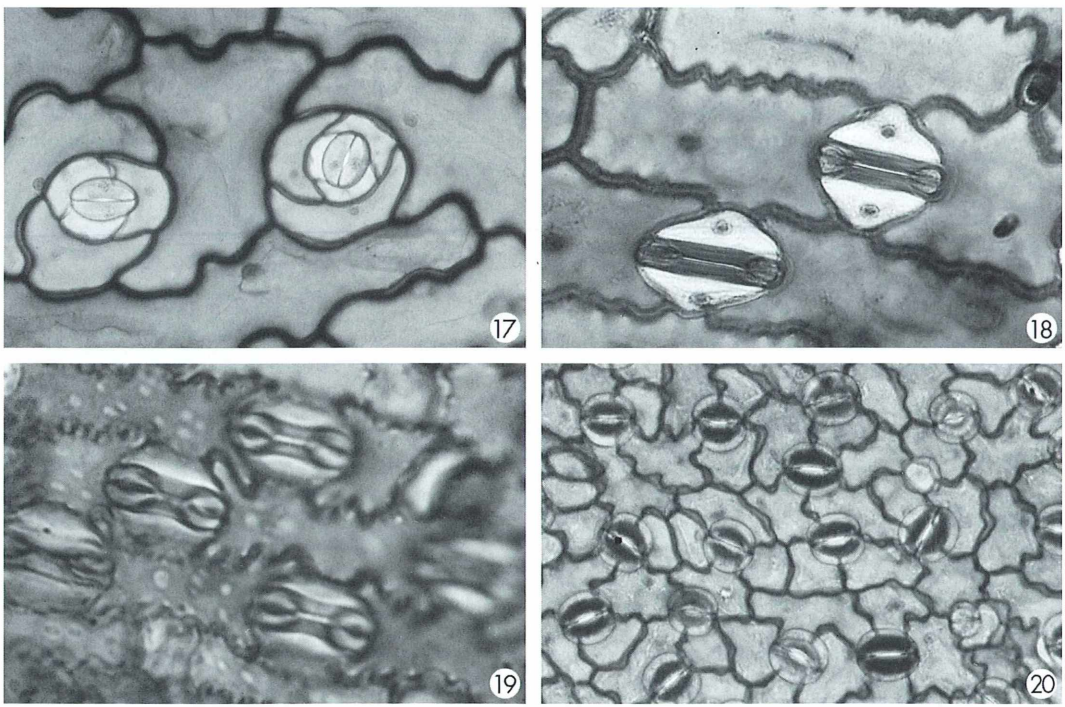


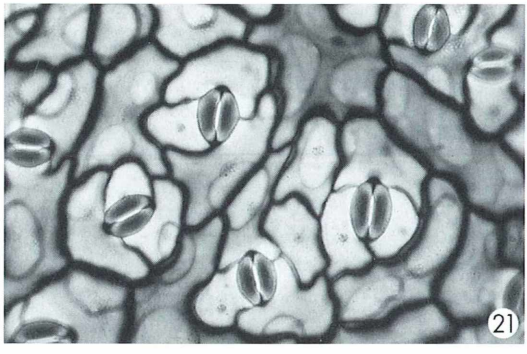
Abb. 17: Kaukasus-Fetthenne (*Sedum spurium*). Spaltöffnungen von Nebenzellen spiralig umgeben (cyclocytischer Typ). Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 250fach. – Abb. 18: Mais (*Zea mais*). Schließzellen mit seitlich anliegenden dreieckigen, ungefärbten Nebenzellen. Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 950fach. – Abb. 19: Gemeines Schilfrohr (*Phragmites communis*). Schließzellen mit verstärktem Mittelteil und ampullenartig erweiterten dünnwandigen Enden. Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 1500fach. – Abb. 20: Christrose (*Helleborus niger*). Spaltöffnungen vom anomocytischen Typ. Funktionell werden die Spaltöffnungen der Christrose auf Grund der Schließzellen-Bewegung zum Helleborustyp gerechnet. Astrablau, Hellfeld, Vergr. 160fach.

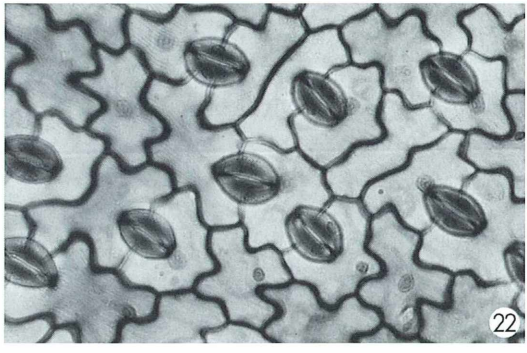
© Elsevier GmbH. Alle Rechte

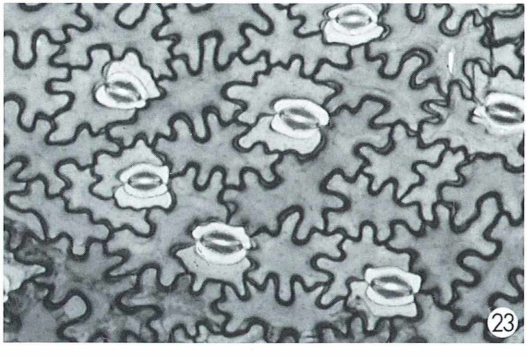
Diacytischer Typ: Die Schließzellen sind von zwei Nebenzellen umgeben, deren gemeinsame Zellwand senkrecht zur Achse der Schließzellen steht. Diese Anordnung der Nebenzellen ist bei den Lippenblütlern (Lamiaceen) und Nelkengewächsen zu beobachten (Abb. 22).
Paracytischer Typ: Zwei Nebenzellen liegen auf beiden Seiten parallel zur Längsachse der Schließzellen, ein bei den Rötegewächsen (Rubiaceen) häufiges Zellmuster (Abb. 23).
Tetracytischer Typ: Die Schließzellen besitzen vier Nebenzellen, von denen die lateralen Nebenzellen parallel, die zwei polaren Nebenzellen rechtwinklig zur Schließzellenachse liegen. Dieser Aufbau ist typisch für die Familie der Commelinaceen mit den Gattungen *Tradescantia* und *Zebrina* (Abb. 24).
Cyclocytischer Typ: Die Nebenzellen umgeben die Schließzellen als Ring aus vier oder mehr schmalen Zellen. Diese Anordnung ist bei den Dickblattgewächsen (Crassulaceen) weit verbreitet (Abb. 17).

Ökologische Aspekte

Auf eine Besonderheit ist bisher noch nicht hingewiesen worden. Während bei den Farnen die Epidermiszellen und Schließzellen Chloroplasten enthalten und somit zur Photosynthese fähig sind, beschränkt sich das Vorkommen von Chloroplasten bei den Bedecktsamern auf die Schließzellen. Die Epidermiszellen selbst sind frei von Chloroplasten. Die Photosynthese wird hier fast vollständig von besonderen Assimilationsgeweben im Blattinneren übernommen. Auch hier gilt: Keine Regel ohne Ausnahme. Bei untergetauchten Wasserpflanzen treten Chloroplasten in den Epidermiszellen auf. Ihre Außenwände sind durchlässig, da sie nicht von Kutinauflagerungen bedeckt sind. Im Lebensraum Wasser ist dieser Verdunstungsschutz unnötig. Dadurch können Unterwasserpflanzen über ihre gesamte Oberfläche die im Wasser gelöste Kohlensäure aufnehmen und Sauerstoff abgeben. Auch auf Spaltöffnungen kann daher verzichtet werden.







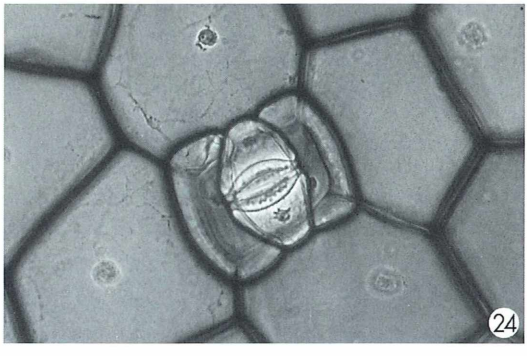


Abb. 21: Raps (*Brassica napus*). Spaltöffnungen vom anisocytischen Typ. Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 250fach. – Abb. 22: Seifenkraut (*Saponaria officinalis*). Spaltöffnungen vom diacytischen Typ. Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 250fach. – Abb. 23: Waldmeister (*Galium odoratum*). Blattunterseite, Spaltöffnungen vom paracytischen Typ, Nebenzellen ungefärbt. Etzolds Farbgemisch, Hellfeld, Vergr. 160fach. – Abb. 24: Dreimasterblume (*Tradescantia albiflora*). Spaltöffnung vom tetracytischen Typ. Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 160fach.

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

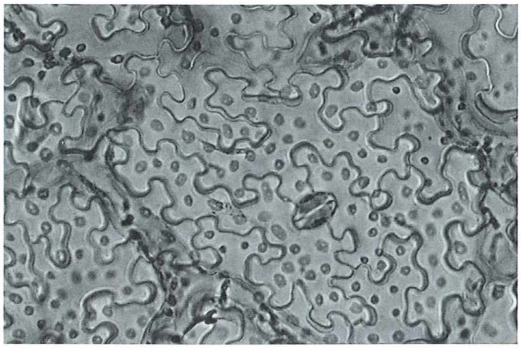


Abb. 25: Kleinblütiges Springkraut (*Impatiens parviflora*): Epidermiszellen mit zahlreichen Chloroplasten. Astrablau-Safranin, Hellfeld, Vergr. 250fach.

Aber auch bei Landpflanzen unter den Angiospermen treten an besonderen ökologischen Standorten Arten mit Chloroplasten in der Blattepidermis auf. So enthalten die Epidermiszellen von Schattenpflanzen, besonders an feuchten Standorten, zahlreiche Chloroplasten (Abb. 25). Dieser Umstand weist auf die Hygrophytennatur einer Pflanze hin (Hygrophyten: Pflanzen feuchter Standorte).

Anregungen

Die geschilderten Beobachtungen sind natürlich nur ein Ausschnitt aus der Vielfalt von Befunden. Sie können als Anregung für weitere Untersuchungen genommen werden. So lässt sich der ökologische Aspekt durch Vergleich der Epidermis von Pflanzen trockener und feuchter Standorte (Xerophyten, Hygrophyten) mit Pflanzen an gemäßigten Wuchsorten (Mesophyten) vertiefen. Dafür sind Blattquerschnitte allerdings unumgänglich, um die Art der Einbindung der Spaltöffnungen in die Epidermiszellschicht beurteilen zu können. Weiterhin bietet sich an, die Behaarung der Epidermis in die Untersuchung einzubeziehen. Die Haare sind vielfältig differenzierte Derivate der Epidermiszellen. Sie stehen ebenfalls im Dienste der Anpassung an unterschiedliche Umweltbedingungen. Es eröffnet sich hier eine Fundgrube für mikroskopische Beobachtungen.

Literaturhinweise

Braune, W., Leman, A., Taubert, H.: Pflanzenanatomisches Praktikum I. 7. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1994.

Flindt, R.: Biologie in Zahlen. 4. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1995.

Gerlach, D.: Botanische Mikrotechnik. Eine Einführung. 3. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1984.

Rohweder, O., Endress, K. P.: Samenpflanzen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1983.

Sitte, P., Ziegler, H., Ehrendorfer, E., Bresinsky, A.: Strasburger Lehrbuch der Botanik. 34. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1998.

Trolldenier, G.: Spaltöffnungen – Lebenswichtige Organe der Pflanzen. Mikrokosmos 57, 117–126 (1968).

Wanner, G.: Mikroskopisch-Botanisches Praktikum. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2004.

Verfasser: Dr. Armin Maidhof, Im Sampel 54, D-55246 Mainz-Kostheim

euromex
MICROSCOPES HOLLAND

Mikroskope
Stereomikroskope
Mikrotome
Kaltlichtbeleuchtung
Refraktometer

STEREOMIKROSKOP E-REIHE

- neueste Technologien
- hochwertige Optik
- präzise Metallverarbeitung
- sorgfältige Montage
- relativ niedrige Preise

MIKROSKOP F-REIHE

Fordern Sie unseren Prospekt an

euromex microscopen b.v.
Papenkamp 20, 6836 BD Arnheim, Niederlande
Tel.: +31.26.323.4473, Fax +31.26.323.2833
email: euromex@tref.nl, web: http:/www.euromex.nl

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

Aus der Industrie

SPIM – ein neues Mikroskopierverfahren von Carl Zeiss

Das neue Hightech-Mikroskopverfahren SPIM (Selective Plane Illumination Microscopy) erlaubt faszinierende Einblicke in lebende Organismen und ermöglicht die Beobachtung von Vorgängen auch in tiefer liegenden Gewebeschichten. Ausgangspunkt der Entwicklung ist das Theta-Mikroskop aus den 1990er Jahren, das für die Untersuchungen großer Präparate mit hoher dreidimensionaler Auflösung konzipiert war. Das fundamentale, lichtmikroskopische Prinzip ist die Fluoreszenzdetektion in einem 90°-Winkel gegenüber der Beleuchtungsachse (Abb. 1). SPIM bindet nun die Technologie der gezielt beleuchteten Ebene im Präparat in das Theta-Prinzip ein und ermöglicht somit optisches Schneiden.

Die Probe befindet sich im SPIM-Verfahren nicht mehr wie üblich auf dem Objektträger, sondern in einer mit Flüssigkeit gefüllten Probenkammer und bleibt darin auch während der Messung weiter lebensfähig. Drehungen der Probe ändern die Beleuchtungs- und Detektionsachsen im Bezug zur Probe, und so können bisher versteckte beziehungsweise überdeckte Probenstellen sichtbar gemacht werden. Komplexe Entwicklungsprozesse wie die Entstehung der Augen und des Gehirns von Fischembryonen oder anderen Musterorganismen können beobachtet und dokumentiert werden (Abb. 2).

Bei der auf dem Theta-Prinzip basierenden SPIM-Methode wird die Probe von der Seite beleuchtet und nicht wie bislang in der Beobachtungsrichtung von oben durch das Objektiv. Mit der klassischen Anordnung erzielen Forscher zwar exzellente Auflösungen in der Ebene des Objektträgers, aber die Auflösung senkrecht zum Objektträger ist schlechter. Mit dem SPIM Verfahren wird nun in der Probe mit dem Laser ein extrem dünnes „Lichtblatt" erzeugt, so dass man ein optisches Schnittbild erhält.

Eine besondere Eigenschaft des SPIM ist, dass immer nur eine Ebene beleuchtet und beobachtet wird. Das steht im Gegensatz zu einem konventionellen oder auch konfokalen Mikroskop, in dem für jede Ebene immer die gesamte Probe belastet wird. Müssen zum Beispiel 100 Ebenen aufgenommen werden, um die Probe zu erfassen, dann sinkt die Strahlenbelastung

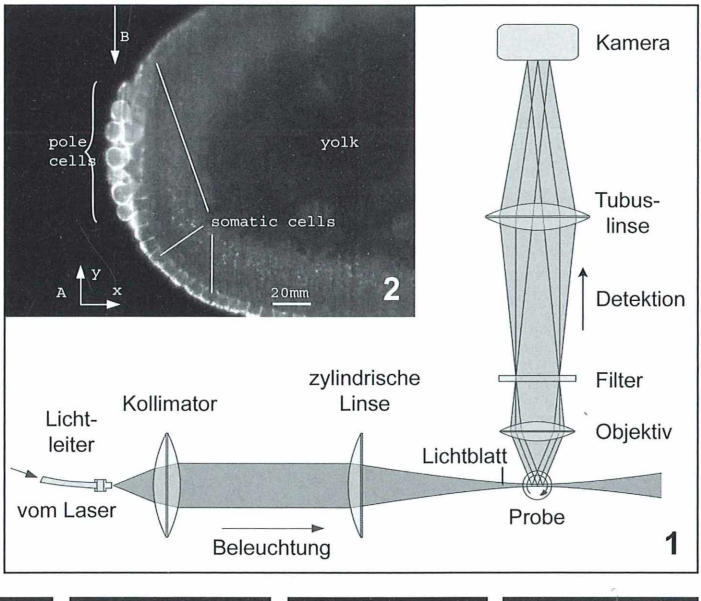


Abb. 1: SPIM-Prinzip: Strahlengang und optische Komponenten. – Abb. 2: Embryo einer Fruchtfliege *(Drosophila)* mit Polzellen, x-y-Ebene.

Abb. 3: Aufnahmeserie von einem Medakafisch-Embryo, Kopfbereich, unterschiedliche Aufnahmewinkel. Das letzte Bild der Serie zeigt die Fusion der Datensätze.

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

der Probe in einem SPIM auf 1% der bislang erforderlichen Leistung. Dieser Vorteil kann genutzt werden, um den Beobachtungszeitraum wesentlich zu erhöhen. Die Schnittbilder können durch Bewegen und Drehen der Probe von verschiedenen Seiten aufgezeichnet werden. Dabei werden auch verdeckte Regionen sichtbar und man kann tiefer ins Gewebe hineinsehen. Das gesamte Verfahren arbeitet sehr schnell und die erzeugte Bildinformation kann per Bildverarbeitungssoftware zu einem hoch aufgelösten 3D-Bild zusammengesetzt werden. Es ist die perfekte Ergänzung von konfokalen und Multiphoton-3D-Abbildungssystemen.

Weitere Informationen unter: www.embl.de/External Info/stelzer und www.zeiss.de/mikro, beziehungsweise im Journal *Innovation* 15, 2000 von Carl Zeiss (weitere Bildbeispiele)

Nachrichten

Bodman 2006: Limnologie und Mikroskopie am Bodensee (24.09.–01.10.2006)

Liebe Planktonfreunde,

wie in jedem Jahr seit 1988 treffen sich auch im Jahr 2006 Mikroskopiker zur Untersuchung von Plankton und Benthos des Bodensees sowie verschiedener kleinerer Gewässer in der Umgebung von Bodman-Ludwigshafen. Wir werden verschiedene Einrichtungen besuchen, um von professionellen Limnologen und anderen Biologen die neuesten Erkenntnisse über unsere Thematik zu erfahren. Auch der Erfahrungsaustausch mit anderen Mikroskopikern kommt beim täglichen Arbeiten nicht zu kurz.

Die wissenschaftliche Leitung wird auch in diesem Jahr von Herrn Dr. Heinz Streble übernommen. Alle Teilnehmer können von seinem umfassenden Wissen und Erfahrungsschatz profitieren. Wir kennen von Herrn Dr. Streble die vielen Veröffentlichungen im MIKROKOSMOS und insbesondere das für uns Planktonfreunde unentbehrliche Bestimmungsbuch, den *Wassertropfen*, der bereits die 9. Auflage erreicht hat.

In diesem Jahr konnten wir wieder Herrn Rupert Lenzenweger für unsere Veranstaltung gewinnen. Vielen Mikroskopikern ist er als hervorragender Kenner der Desmidiaceenflora bekannt.

Wie immer werden wir von Herrn Walter Weiß, Göppingen, unterstützt. Durch die Bereitstellung der Medien, wie beispielsweise einer Videoanlage, können die beobachteten Organismen allen Teilnehmern gezeigt werden. Hierfür danken wir sehr.

Wir haben das Haus Greth in Bodman für unsere Gruppe in der Zeit vom 24.09. bis 01.10.2005 angemietet. Die Kosten und das genaue Programm der Planktonwoche stehen ab Anfang April 2006 fest.

Haben Sie Interesse oder Fragen zu dieser Veranstaltung, so schreiben Sie oder rufen Sie an:
Günter Beyer-Meklenburg,
Fischbänkenstraße 17, D-16816 Neuruppin,
Telefon (abends ab ca. 20.00 Uhr) 03391/358783.

Hiddensee: Natur erleben – Verborgenes mikroskopieren

Zum Herbst hin, in der Zeit vom 8. bis 14. Oktober 2006, gibt es die Gelegenheit, im Verlaufe einer knappen Woche den Charme der Ostsee-Insel Hiddensee, die seit eh und je ein Geheimtipp für Insider ist, mit allen Sinnen kennen zu lernen, durch Wanderungen, durch Radtouren, durch Vogelexkursionen und natürlich durch Mikroskopieren. Untergebracht in rustikalen Mehrbett-Bungalows der Biologischen Station der Universität Greifswald können in einem naturnahen Ambiente in einem eigens für mikroskopische Arbeiten eingerichteten Kursraumgebäude die Proben, die im Verlaufe verschiedener Exkursionen genommen werden, untersucht werden. Wer sein eigenes Untersuchungsinstrument bevorzugt, sollte es mitbringen.

Die Gesamtkosten für die Unterbringung sowie Kursraumbenutzung sind moderat und belaufen sich auf 100,00 €. Für die Selbstverpflegung steht ein Bungalow mit ausgerüsteter Küche und Essraum zur Verfügung. Die verbindliche Anmeldung muss bis zum 15. April 2006 schriftlich bei Klaus Hausmann, Freie Universität Berlin, Institut für Zoologie, Königin-Luise-Str. 1–3, D-14195 Berlin, erfolgen. Es stehen 14 Arbeitsplätze zur Verfügung, die chronologisch nach Eingang der genannten Gebühr auf das Konto Hausmann, Commerzbank Berlin, BLZ 100 400 00, Konto-Nr. 144 02 47 00, vergeben werden. Es gibt keine Möglichkeit der Teilnahme für Interessenten, die nicht in der Station untergebracht sind.

Klaus Hausmann, Berlin

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

Kieselgur – Eine reichhaltige Quelle fossiler Diatomeenschalen Teil 2: Kieselgur = Kieselerde = Diatomit

Gerhard Kauer

Dem Wunsch, möglichst einfach an möglichst zahlreiche Diatomeenschalen heranzukommen, kann mit Kieselgur entsprochen werden. Diatomeen leben schon seit mindestens 150 Millionen Jahren, also schon zur Zeit des Jura, auf unserer Erde. Daher ist es nicht verwunderlich, diese auch als Fossilien vorzufinden. Vor unvorstellbar langer Zeit also lebten diese Algen schon in den damaligen Meeren und Seen. Sie vermehrten sich und bildeten als abgestorbenes Material gewaltige Ablagerungen am Grund längst vergangener Gewässer.

Der gegen Zerfall inerte Panzer aus Kieselsäure hat sich jedoch bis in unsere Zeit erhalten und bietet eine einzigartige Gelegenheit – auch für den Freizeit-Mikroskopiker – vergangenes Leben in seiner Schönheit und Vielfalt bis in kleinste Details zu betrachten.

Kieselgur – eine nahezu unerschöpfliche Quelle fossiler Diatomeenschalen

Derartige Ablagerungen, aus denen man sehr leicht die schönsten Panzer isolieren kann, werden heute in großem Maßstab als so genannte Kieselgur (Kieselerde, Polierschiefer, Tripel, Bacillarienerde, Diatomit) gefördert.
Das Vorkommen erstreckt sich in unserer Heimat vor allem im Raum der Lüneburger Heide und Berlin, aber auch Gesteine der fränkischen Schweiz (Region bei Bamberg) sind eine reichhaltige Quelle fossiler Algen. Dies ist auch kein Wunder, zumal diese Gegend zur Zeit des Jura ein flaches, warmes und wahrscheinlich nährstoffreiches Meer war, das unseren Diatomeen sicher ein guter Lebensraum gewesen ist.
Die Industrie verwendet Kieselgur zur Verpackung von Säuren (wegen der guten Absorptionseigenschaften), als Grundlage von Dynamit, oder auch bei der Bier- und Weinherstellung. Für mikroskopische Zwecke kann man kleinere Mengen Kieselgur in der Apotheke für wenig Geld erwerben. Es ist in trockenem Zustand erwiesenermaßen sehr lange haltbar. So ist meine Kieselgurquelle seit vielen Jahren der Inhalt einer Flasche aus den Lehrmitteltagen des Franckh-Kosmos-Verlags der späten 1950er Jahre, einem Erbstück meines Vaters, der ebenfalls schon seine Diatomeenschalen für entsprechende Untersuchungen daraus gewann (Abb. 1).

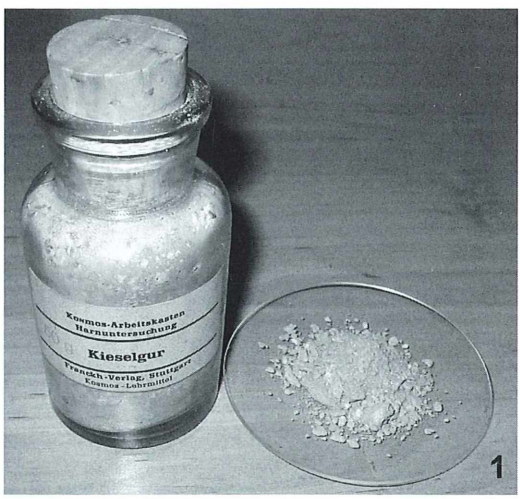


Abb. 1: Eine mögliche Quelle fossiler Diatomeenschalen ist die Kieselgur (Bacillarienerde). Man erkennt die spröde, staubtrockene Konsistenz der Probe auf dem Uhrglas. Das Gestein muss während der Präparation entfernt werden, um die Schalen frei zu legen.

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

Oxidationsmittel Wasserstoffperoxid

Um nun an die Schalen der im Kieselgur enthaltenen Diatomeenschalen heranzukommen, muss man das Sediment, in das die Panzer über Jahrmillionen hinweg eingeschlossen waren, entfernen. Dabei soll das angestrebte Verfahren möglichst schonend sein, damit eventuell eingeschlossene, zerbrechliche Formen nicht bei der Freilegung Schaden nehmen. Am besten ist hierzu eine chemische Ablösung des Sediments geeignet, wobei man sich die außerordentliche Stabilität der Kieselsäure-Panzer gegen Oxidation zu Nutze macht. Als Oxidationsmittel kann man 30%iges H_2O_2 verwenden. Allerdings ist bei der Handhabung dieser Chemikalie wirklich größte Vorsicht geboten.

Wasserstoffperoxid in dieser Konzentration wirkt verheerend, wenn es auf die Haut oder gar ins Auge gebracht wird. Es ist stark oxidierend, was sich entsprechend schmerzhaft als sehr schnell eintretende, weißliche Verätzung bemerkbar macht. Ein Tropfen in das Auge gebracht, kann im ungünstigsten Fall tatsächlich zur Erblindung, auf jeden Fall aber zu bleibenden oder schwer heilenden Schädigungen führen. Am besten setzt man sich daher bei der Handhabung eine Schutzbrille auf, wie sie im chemischen Zubehörhandel für wenig Geld erhältlich ist. Auch für Brillenträger sind bestimmte Modelle solcher Schutzbrillen verfügbar. Die Hände kann man mit dünnen Gummihandschuhen (z.B. Rotiprotect, Firma Roth), wie sie üblicherweise in Labors im Einsatz sind, bestens schützen. Sie sind ebenfalls nicht teuer (ca. 10 € pro Karton zu 100 Stück) und können, wie die Schutzbrille auch, über den Laborfachhandel bezogen werden.

Besitzt man die Chemikalie, dann ist darauf zu achten, dass H_2O_2 leicht gast, das heißt Sauerstoff freisetzen kann, indem es zu H_2O und O_2 zerfällt. Daher sollte die Flasche, in der man Wasserstoffperoxid aufbewahrt, auf keinen Fall ganz dicht verschlossen werden. Besser ist es, den Schraubdeckel nur relativ locker festzudrehen, damit ein eventueller Druckausgleich stattfinden kann. Zweckmäßigerweise dreht man den Deckel nach Verschrauben wieder mit einer viertel bis halben Umdrehung auf. Zusätzlich sollte man die Flasche noch gegen versehentliches Umfallen sichern.

Auf jeden Fall muss bei der Entnahme des Wasserstoffperoxids aus der Vorratsflasche eine saubere Pipette verwendet werden. Das H_2O_2 in dieser 30%igen Konzentration ist so instabil, dass schon gröbere Oberflächenstrukturen zusammen mit dem Unterdruck in einer Saugpipette genügen, um eine gehörige Menge Sauerstoffgas freizusetzen. Als Pipette wird am besten eine Saugkolbenpipette mit gut gedichtetem Schliffteil verwendet; zumindest aber sollte man eine Pipette mit Peleusball benutzen. Auf keinen Fall darf die Flüssigkeit über die Pipette mit dem Mund angesaugt werden. Auch dürfen keine Staubpartikel (in höherer Konzentration) oder sonstige, auch chemische Verunreinigungen (insbesondere Alkali- oder Schwermetalle) in das Aufbewahrungsgefäß für Wasserstoffperoxid gelangen, weil die Flasche sonst wegen vermehrter Sauerstoffproduktion tatsächlich bersten könnte. Aus diesem Grund sollte das Aufbewahrungsgefäß auch nicht ganz, sondern

Abb. 2a–d: Diatomeenschalen. Linke Aufnahme jeweils Hellfeld-Durchlicht, Zeiss Universal, Objektiv Epiplan HD, 80x, N.A. 0,95, Optovar 1,0, Okular 10x, über Bildverarbeitung der Vergrößerung des Elektronenmikroskops angeglichen. Medium Luft. Rechts rasterelektronenmikroskopische Aufnahme. a: Diatomeenschalen bei 3500facher Vergrößerung. Man erkennt deutlich, wie übereinander liegende Schalen im Durchlicht Projektionen erzeugen, die unter Umständen als Strukturen fehl interpretiert werden können – b: Diatomeenschalen bei 2000facher Vergrößerung. In der pennaten Algenschale erkennt man im Rasterelektronenmikroskop deutlich eine kleinere centrale Alge (bei 13 Uhr) beziehungsweise Fragmente von anderen Diatomeen (bei 11 Uhr). In der lichtmikroskopischen Aufnahme erzeugen diese klare Artefakte: Die kleine centrale Schale generiert eine kreisförmige Struktur, das längs gestreckte Fragment einen strukturlosen Oberflächenbereich, in dem lichtoptisch keine Rippen zu erkennen sind. – c: Diatomeenschalen bei 5000facher Vergrößerung. Es ist klar zu erkennen, dass die Aussparungen der Schale über lichtoptische Beugungseffekte zu rippenförmigen Strukturen führen. – d: Diatomeenschalen bei 15000facher Vergrößerung. Die Durchsichtigkeit der Diatomeenpanzer erzeugt in Verbindung mit Beugungseffekten im Lichtmikroskop eine wellige Außenoberfläche. Tatsächlich sind die Ränder der Diatomeenschale jedoch glatt. ▶

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

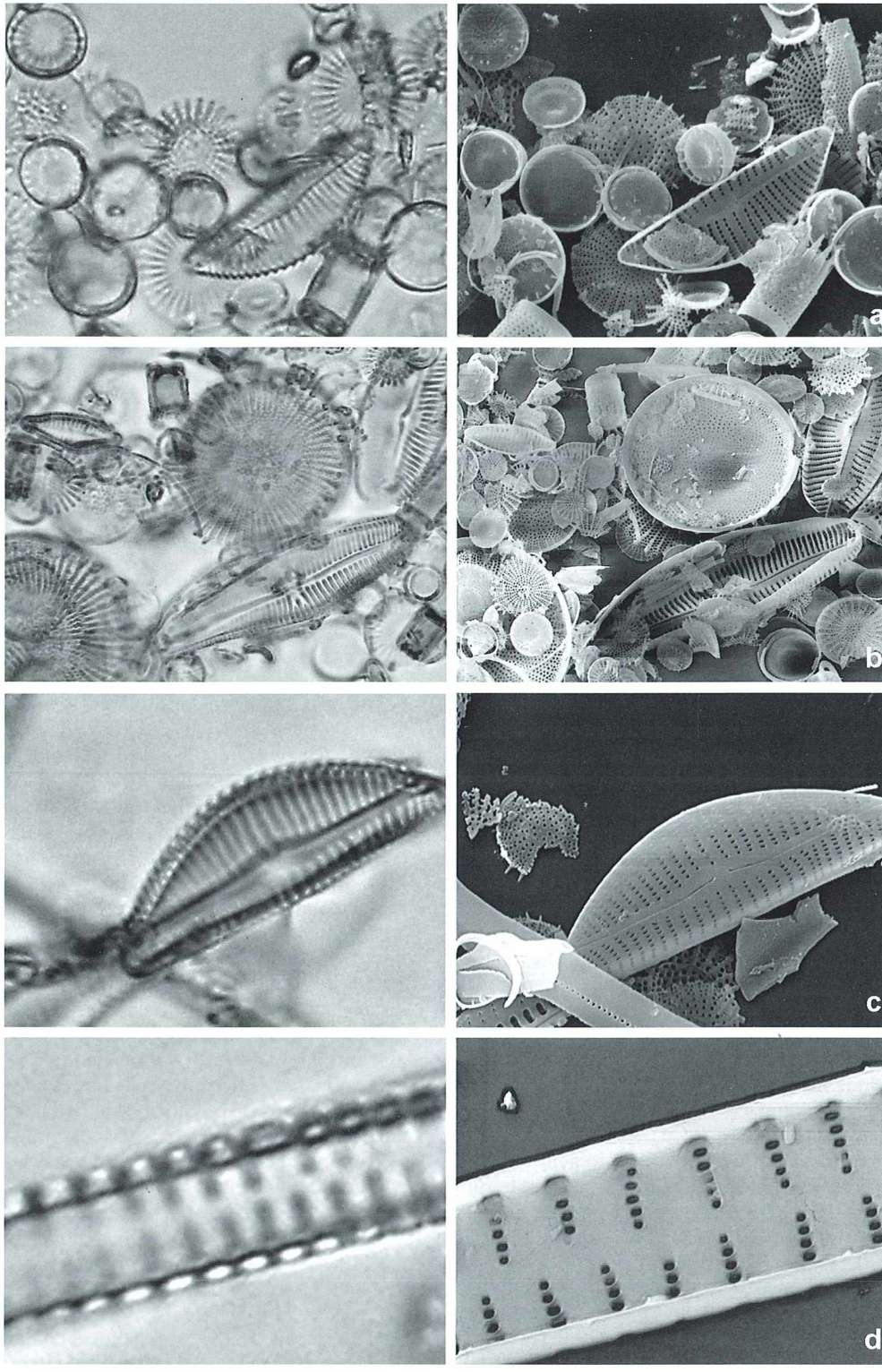


Abb. 2a–d

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

nur bis etwas über die Hälfte gefüllt werden. Wasserstoffperoxid zerfällt ebenfalls unter Einfluss von Licht in Wasser und Sauerstoff. Man sollte es daher am besten im Dunkeln aufbewahren.
Beim Aufziehen der Pipette mit H_2O_2 erkennt man oft eine mehr oder minder starke Sauerstoffentwicklung in der Pipette. Dies lässt sich sehr gut dadurch einschränken, wenn nicht gar vermeiden, wenn die Flüssigkeit möglichst langsam aus dem Vorratsgefäß in die Pipette gesaugt wird.

Herauslösen der Diatomeenpanzer aus der Kieselgur

Um die Diatomeenpanzer freizulegen, gibt man einfach das Wasserstoffperoxid (30%ig) zu einer abgemessenen Menge Kieselgur. Die Aufenthaltsdauer im H_2O_2 richtet sich natürlich nach der Kieselgureinwaage.
Bewährt hat sich folgender Ansatz zur Präparation: Ein 30 ml fassender Erlenmeyerkolben wird mit einer etwa 2 cm starken Lage Kieselgur beschickt und mit 20 ml H_2O_2 aufgefüllt. Zur Bemessung der Volumina ist zu sagen, dass in jedem Fall ein erheblicher Überschuss an Wasserstoffperoxid einer entsprechenden Trockeneinwaage an Kieselgur gegenüberstehen sollte.
Zunächst erfolgt heftige Sauerstoffentwicklung, die eventuell sogar die Suspension auf- und überschäumen lassen kann. Daher sollte man den Versuch auf einer entsprechenden Unterlage durchführen. Sehr gut geeignet ist hierfür eine große Petrischale, in die man den kleinen Erlenmeyerkolben stellt, oder eine alte Fliese im Format 20 × 20 cm, die im mikroskopischen Hobbyalltag auch bei Färbungen oder anderen Präparationen gute Dienste leisten kann. Das Sediment hat je nach eingesetzter Kieselgur zunächst eine grünlich-graue Farbe. Wenn das Wasserstoffperoxid die Schalen der Diatomeen während der nun folgenden Oxidation freilegt, indem die um die Schalen befindliche Erde weggelöst wird, wechselt das Sediment am Boden des Gefäßes im Lauf der Zeit seine Farbe. Es wird letztlich schneeweiß. Dies ist die Masse der nunmehr nach Millionen von Jahren wieder völlig freigelegten Schalen längst gestorbener Bacillariophyceen. Allerdings dauert der ganze Vorgang, je nach Beschaffenheit der Kieselgur, mehrere Wochen, manchmal sogar Monate (insbesondere bei größeren Mengen Kieselerde).
Die Freilegung der Schalen durch Oxidation kann anhand der zunächst kräftigen, später geringeren Sauerstoffentwicklung beobachtet werden. Es empfiehlt sich, die Suspension, zum Beispiel mit einem Glasstab, des Öfteren umzurühren oder mit der Saugpipette den Überstand aufzuziehen und mit mäßigem Strahl in das Sediment zu richten, um dieses zu verwirbeln. Weil anfangs noch relativ viel Sediment mit den darin befindlichen Schalen verbacken ist, sinken die Schwebstoffe recht bald wieder auf den Boden des Gefäßes zurück. Gerade zu Beginn der Behandlung wird das Wasserstoffperoxid in seiner Wirkung relativ rasch erschöpft sein, was sich an der verminderten Sauerstoff-Entwicklung beobachten lässt. Daher wird man (einige Tage nach der ersten Applikation) zweckmäßigerweise vor erneutem Umrühren zunächst den trüben, oft grünlich verfärbten, Überstand abgießen und durch neues Wasserstoffperoxid ersetzen. Auch hier ist der Einsatz von Gummihandschuhen und Schutzbrille ratsam. Recht gut lässt sich in diesem Schritt auch eine kleine Tischzentrifuge einsetzen, um die Sedimentbildung zu optimieren (rund 2.000 Umdrehungen pro Minute sind völlig ausreichend). Wenn man geschickt ist, kann man den aus der Pipette tretenden Strahl frischen Wasserstoffperoxids so bemessen, dass das dekantierte Sediment gut durchgewirbelt wird. Dies ist besonders bei schon weiter fortgeschrittenen Präparaten empfehlenswert, bei denen nun immer weniger ersichtlich ist, wie viel von dem Sediment noch an den zu befreienden Schalen hängt. Erst wenn das Sediment im Gefäß schneeweiß und der Überstand fast farblos ist, kann man sicher sein, dass nun tatsächlich der größte Teil der Schalen freiliegt. Dieser Endzustand kann, wie erwähnt, länger auf sich warten lassen. Allerdings hat man nach erfolgter Präparation so enorm viel Material für entsprechend ausgiebige Untersuchungen zur Verfügung, dass man für sehr lange Zeit in der Materialbeschaffung für fossile Diatomeenschalen ausgesorgt hat.

Waschen tut Not

Das nunmehr weiß vorliegende Schalenmaterial muss auf jeden Fall vor der weiteren Verarbeitung gewaschen werden, um das H_2O_2 aus

dem Versuchsansatz gänzlich zu entfernen. Zunächst wird der Überstand (mit Wasserstoffperoxid) von den am Boden des Gefäßes abgesetzten Schalen wie in den vorherigen Arbeitsschritten auch dekantiert. Nun wird allerdings anstelle von H_2O_2 eine entsprechende Menge Wasser hinzupipettiert und das weiße Sediment gut darin aufgeschlämmt. Man verwendet am besten deionisiertes (voll entsalztes) Wasser, wie man es auch zum Auffüllen von Autobatterien kennt und für wenig Geld beispielsweise aus Baumärkten beziehen kann. Wenn man möchte, kann man dem Waschwasser nach dem ersten oder zweiten Waschvorgang mit H_2O eine kleine Menge Ammoniaklösung zufügen. Das in Spuren eventuell noch vorhandene Wasserstoffperoxid zerfällt daraufhin rasch. Der Ammoniakzusatz sollte nicht beim ersten Waschvorgang zugegeben werden, weil eventuell noch zu viel H_2O_2 im Sediment vorhanden ist. Hat man eine kleine Zentrifuge zur Hand, dann kann der gesamte Waschvorgang erheblich beschleunigt werden, indem niedrigtourig abzentrifugiert, der Überstand an Wasser dekantiert und erneut mit Wasser nachgewaschen wird. Insgesamt sollte der Vorgang auf diese Weise mindestens drei- bis viermal wiederholt werden. Besitzt man keine Zentrifuge, so muss man zwischen den einzelnen Waschgängen so lange warten, bis die Schwerkraft die Sedimentation bewerkstelligt hat, der Überstand klar ist und erneut vorsichtig dekantiert werden kann. Liegt das Material auf diese Weise gewonnen vor, so wird das Wasser in einem abschließenden Schritt durch 70%igen Alkohol ersetzt, oder man setzt dem Wasser einen kleinen Thymolkristall hinzu, um Schimmelbildung im Lauf der Zeit zu vermeiden. Der Vorrat an fossilen Diatomeenschalen kann somit – gut verschlossen – für sehr lange Zeit aufbewahrt und für viele Untersuchungen zur Verfügung stehen.

Herstellung von Dauerpräparaten für die Lichtmikroskopie

Um nun die Diatomeenschalen lichtmikroskopisch zu untersuchen, kann man einen Tropfen der gewonnenen Suspension auf einen fettfreien Objektträger geben und die Flüssigkeit verdunsten lassen. Allerdings wird hierbei möglicherweise das Problem auftreten, dass über die Pipette zu viele Diatomeenschalen aus dem Vorratsgefäß aufgezogen werden. Aufgrund der dann vorliegenden Masse an Objekten kann somit kaum vernünftig mikroskopiert werden. Zweckmäßigerweise verdünnt man die Probe vor dem Auftragen auf den Objektträger. Sehr gut bewährt haben sich hierfür Eppendorf-Caps (1.000 µl Volumen), weil man diese sehr gut nach der Verdünnung durchmischen kann (Vortex-Gerät oder mehrfaches Aufziehen und Entleeren über die Pipette). Wieviel Wasser der Probe zugesetzt werden muss, hängt von der individuellen Präparation und dem Ausgangsmaterial ab. Für meine Diatomeenerde aus der oben erwähnten Franckh'schen Probensammlung ist die Verdünnung 90 µl präparierte Probe plus 910 µl Wasser sinnvoll. Ist das Wasser völlig verdunstet, haften die Schalen auf der Glasoberfläche. Besonders gut kann dieser Vorgang im Trockenschrank (bei ca. 40 °C) über Nacht bewerkstelligt werden. Anschließend legt man ein Deckglas auf und umrandet mit Deckglaslack. Die so hergestellten Präparate sind also von Luft als Medium umschlossen und lassen sich bereits gut mikroskopieren. Die feinsten Strukturen erkennt man allerdings erst, wenn man in ein Medium einbettet, das einen höheren Brechungsindex als 1,58 aufweist. Ein sehr gutes Diatomeen-Einschlussmittel ist beispielsweise das nach Weinzierl (Rosenfeldt, 1984). Allerdings stehen anhand der im Versuch gewonnenen Menge an fossilem Material so viele Diatomeenschalen zur Verfügung, dass man ausgedehnte Untersuchungen mit den unterschiedlichsten Einschlussharzen vornehmen kann. Auf diese Weise kann man auch den Einfluss des vom jeweilig verwendeten Einschlussmittel vorgegebenen Brechungsindexes auf die beobachtbaren Strukturen untersuchen. Zur wasserfreien Einbettung lässt man einen Tropfen der Suspension, wie oben beschrieben, auf einem fettfreien Objektträger eindunsten. Anschließend gibt man auf ein Deckglas einen ausreichenden Tropfen des Einschlussmittels und legt dann das Deckglas, mit dem Tropfen nach unten auf die nun völlig trockene und weiß erscheinende Stelle mit den Diatomeenpanzern. Nachdem das Einschlussmittel erhärtet ist, kann auch hier mit Deckglaslack umrandet werden.

Herstellung von Vergleichspräparaten für die Rasterelektronenmikroskopie

Die bisher aus Kieselgur gewonnenen Schalen sollen nun auch der rasterelektronenmikrosko-

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

pischen Untersuchung zugänglich gemacht werden. Es kann ein direkter Vergleich am gleichen Präparat und an den gleichen Schalen angestellt werden. So stehen lichtoptisch gewonnene Abbildungen denen gegenüber, die mit Hilfe des höher auflösenden Rasterelektronenmikroskops (REM) erstellt wurden. Durch die Technologie des Elektronenstrahl-Rasterverfahrens zeigen die Abbildungen ferner eine enorme Schärfentiefe. Zu einer exakten Gegenüberstellung werden im Präparat einige Diatomeenschalen exemplarisch unter dem Lichtmikroskop ausgewählt und genau diese dann anschließend auch im REM untersucht. Das zur Verfügung stehende REM kann nur Objekte begrenzter Größe untersuchen. Deswegen erfolgte die Präparation nicht auf einem Objektträger (für die Lichtmikroskopie), sondern auf einem Deckglas.

Zunächst wurde ein Tropfen der Diatomeenschalen enthaltenden Suspension auf ein hoch gereinigtes Deckglas gebracht. Insbesondere wurde darauf geachtet, dass dieses Deckglas keinerlei Fettrückstände auf seiner Oberfläche aufwies. Gereinigt wurde es daher in einem ersten Schritt mit einem Ethanol-Chloroform-Gemisch (50% absolutes Chloroform in absolutem Ethanol). Nach weiteren Reinigungsschritten wurde das trockene Deckglas dann mit der erwähnten Schalensuspension beschickt und über Nacht in einen Wärmeschrank zur Trocknung eingestellt.

Da nun die Objekte genau dieses Deckglases später mit dem REM weiter untersucht werden sollten, war es unmöglich eine Einbettung in einer sich verfestigenden Harzlösung mit geeignetem Brechungsindex vorzunehmen, welche für eine durchlichtmikroskopische Untersuchung optisch wesentlich günstiger gewesen wäre.

Um möglichst ähnliche Aufnahmesituationen zu gewährleisten, wurden daher am Lichtmikroskop Auflichtobjektive ohne Deckglaskorrektion eingesetzt, die für unmittelbare Beobachtung in Luft optimal korrigiert sind. Die Untersuchungsverfahren sind hierbei Auflicht-Hellfeld, Auflicht-Dunkelfeld und Auflicht-Interferenzkontrast.

Vergolden der Präparate

Nach den lichtoptischen Untersuchungen erfolgte nun die Rasterelektronenmikroskopie. Um die Oberflächen unserer Diatomeenschalen optimal mit einem Elektronenstrahl abtasten zu können, bedarf es einer speziellen Präparation. Das Deckglas mit den daran haftenden Schalen wird unter Vakuum in einer Argonatmosphäre und hohem elektrischen Potential mit einer dünnen Goldschicht belegt, wodurch die detaillierte Oberflächendarstellung mit dem REM besonders gut gelingt. Das mit einem dünnen

Abb. 3a–d: Diatomeenschalen. Linke Aufnahme jeweils Dunkelfeld-Auflicht (a) bzw. Hellfeld-Durchlicht (b-d), Zeiss Universal, Objektiv Epiplan HD, 80x, N.A. 0,95, Optovar 1,0, Okular 10x, über Bildverarbeitung der Vergrößerung des Elektronenmikroskops angeglichen. Medium Luft. Rechts rasterelektronenmikroskopische Aufnahme.
a: Diatomeenschalen bei 7000facher (links) beziehungsweise 20000facher Vergrößerung (rechts). In der linken Aufnahme könnte man eine Einbuchtung der Schale vermuten (Doughnut-Form). Tatsächlich handelt es sich jedoch um eine Erhebung. Deutlich zu erkennen ist auch ein verstärkter Lichtbeugungseffekt durch die enger und relativ zur Fläche häufiger werdenden Poren zum Schalenrand hin, wenn man beide Bilder vergleicht. Im Lichtmikroskop erscheinen diese äußeren Bereiche in den radspeichenförmigen Strukturen als hellere, dickere Punkte. – b: Diatomeenschalen bei 7500facher Vergrößerung. Die geringe Schärfentiefe hochaperturiger Mikroskopobjektive und die Durchsichtigkeit der Objekte bedingt, dass die reale Situation in der Abbildung nur schwer zu deuten ist. – c: Diatomeenschalen bei 3500facher Vergrößerung. Hier wird ein Vorteil der lichtmikroskopischen Untersuchung deutlich. Sind die Objekte genügend transparent, und ist man nicht an Strukturen im Grenzbereich der lichtmikroskopischen Leistungsfähigkeit interessiert, kann das zu unterst liegende Objekt auch dann noch gesehen und qualitativ beurteilt werden, wenn es teilweise verdeckt ist. Hierbei ist die geringe Schärfentiefe der hochaperturigen Objektive ein unbedingter Vorteil, weil man durch Fokussieren Klarheit über die Situation gewinnen kann. – d: Vergleichende Darstellung von Diatomeenschalen bei 2000facher Vergrößerung. Links lichtmikroskopische, rechts rasterelektronenmikroskopische Aufnahme. Sehr deutlich kann ein lichtmikroskopisches Artefakt an der Raphenstruktur erkannt werden. Die Raphe erscheint als breiter Spalt, während sie im Rasterelektronenmikroskop eine deutlich verschiedene Mikrostruktur aufweist. ▶

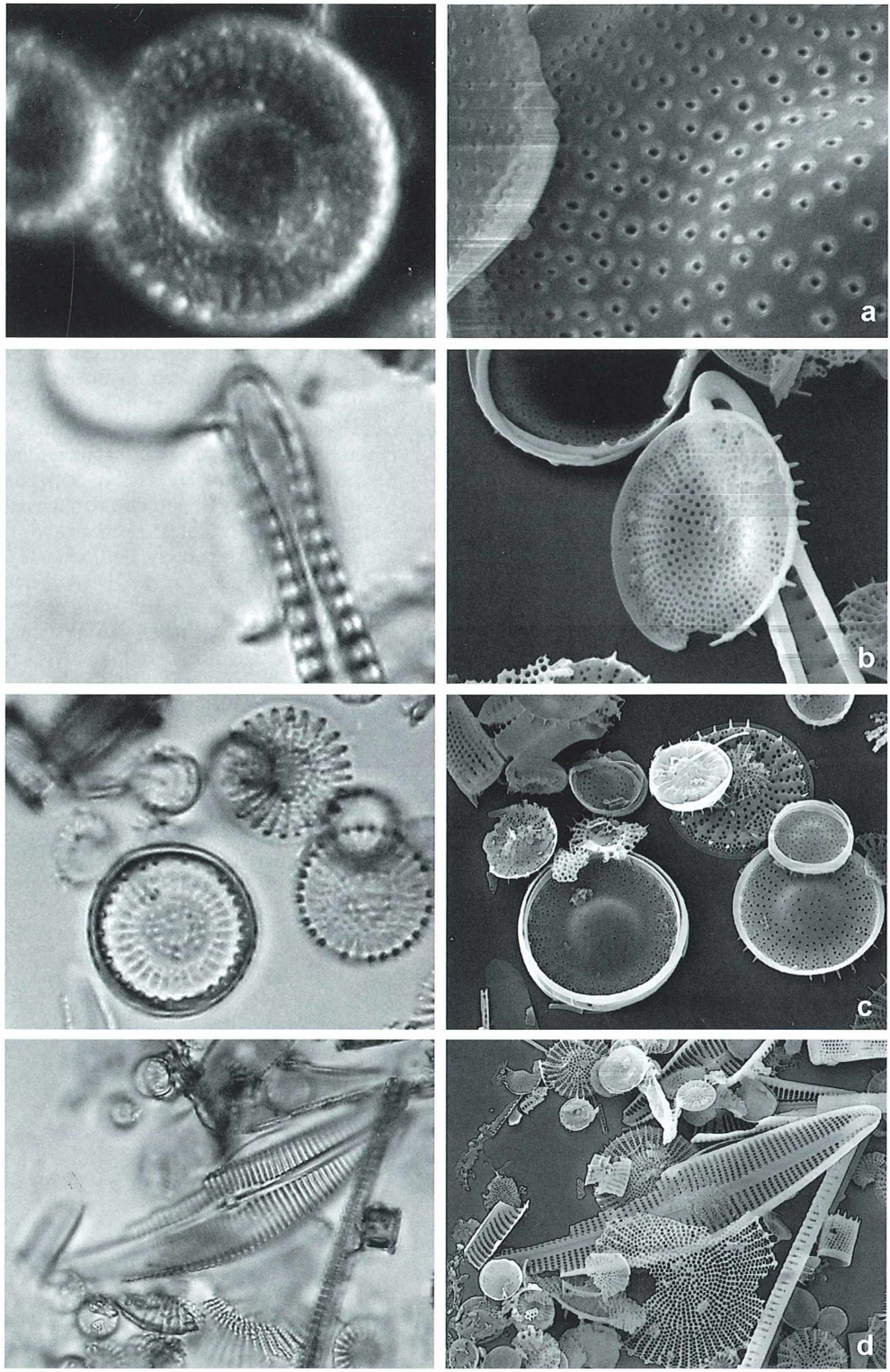


Abb. 3a–d

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

Goldüberzug versehene Deckglas wird beim Mikroskopieren in der unter Vakuum stehenden Objektkammer des REMs elektrisch leitend auf dem Objekttisch befestigt. Hierzu wird es mit einem leitfähigen Klebstoff über eine kleine Stelle seiner Goldschicht an einen speziellen Aluminiumobjektträger geklebt. Dieser wird dann auf dem Objekttisch des REMs befestigt. Nach dem Evakuieren der Luft beginnt die eigentliche Untersuchung, und die im Lichtmikroskop ausgewählten Objekte werden aufgesucht. In den Abbildungen 2 und 3 werden die jeweiligen lichtmikroskopischen Aufnahmen den gleichen Bildausschnitten im REM gegenübergestellt.

Es ist völlig klar, dass die lichtmikroskopischen Aufnahmen weit über der förderlichen Vergrößerung dargestellt sind. Die förderliche Vergrößerung eines Objektivs liegt oberhalb des 500fachen und unterhalb des 1.000fachen der numerischen Apertur. Die Apertur des eingesetzten Auflichtobjektives liegt bei 0,95 für Luft ohne Deckglas. Die förderliche Vergrößerung dieses Trockenobjektivs sollte also das 950fache nicht überschreiten. In der Tat sind die lichtmikroskopischen Aufnahmen zum Teil 2.500fach und mehr abgebildet. Somit sind diese Fotografien über alle Maßen leer vergrößert, um zu Vergleichszwecken den etwaigen Maßstab der zugehörigen rasterelektronenmikroskopischen Aufnahme zu erreichen. Sinnvoll ist dies nur deswegen, weil in dieser Darstellung ausschließlich die strukturellen Elemente der Diatomeenschalen verglichen werden sollen, wobei insbesondere die physikalischen Effekte der Lichtbeugung und die Auswirkungen von Projektionseffekten bei Durchstrahlung durchscheinender Objekte vor Augen geführt werden. Auch die geringe Schärfentiefe, welche hoch aperturige Objektive des Lichtmikroskops zwangsläufig haben müssen, kann das eine oder andere Artefakt erzeugen, das oft nur mit recht viel Mühe als solches identifiziert werden kann. So können beispielsweise kleine Diatomeenschalen oder Fragmente derselben, welche über oder unter einer gerade beobachteten Schale liegen, darin schattenförmige Strukturen erzeugen, die möglicherweise fehl interpretiert werden können (Abb. 2a und b, Abb. 3b–d). Beugungsscheibchen lassen rechteckige Aussparungen in Diatomeenschalen rund erscheinen (Abb. 3d). Konjugiert-interferierende Beugungen an regelmäßigen rechteckigen Aussparungen lassen sich dann im Lichtmikroskop als deutliche Rippenstrukturen beobachten (Abb. 2a, c, d, Abb. 3c).

Wegen der physikalisch bedingten lichtoptischen Effekte zeigen unsere Diatomeenschalen also oft Strukturen, die in Wirklichkeit so nicht vorhanden oder gänzlich anders beschaffen sein können. Dennoch kann man solche Artefakte erkennen und sogar Rückschlüsse auf die tatsächlich zu Grunde liegenden Strukturen wagen, wenn man sich der physikalischen Grundprinzipien bewusst ist, die für ein Lichtmikroskop in diesem Zusammenhang gelten. So ermöglichen es moderne Verfahren der Bioinformatik (wissensbasierte Bildverarbeitung) über besondere mathematische Verfahren eine optimierte Rückrechnung der lichtoptischen Bilddaten.

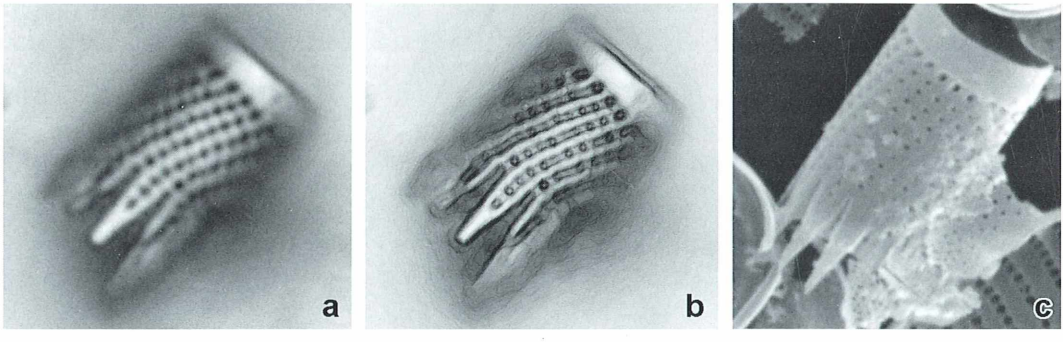


Abb. 4a und b: Auflichtinterferenzkontrastaufnahme eines Gold beschichteten Präparates (Zeiss Universal, Objektiv Epiplan INKO, 80x, N.A. 0,95, Optovar 2,0x, Okular 10x). Softwaretechnisch nachvergrößert. Medium Luft. – a: Unbearbeitet. – b: Digitale Bildverarbeitung mit Kantenverstärkung über Filterung im Leistungsspektrum. c: Abbildung der gleichen Spezies in einer REM-Aufnahme.

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

Auflichtmikroskopische Untersuchung der Gold beschichteten Objekte

Nach der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung wurde das Gold bedampfte Deckglas vorsichtig wieder vom Aluminiumobjektträger getrennt. Der speziell hierfür eingesetzte Klebstoff wurde einfach mit Aceton aufgelöst und das Deckglas ohne mechanische Beschädigung vom Aluminiumobjektträger gehoben. Durch die Goldbedampfung sollte man erwarten, dass nun auch die Oberflächenstruktur der Diatomeenschalen im Auflichtmikroskop besser zu untersuchen wäre. Allerdings zeigte sich, dass ein Zugewinn an Information nur im Auflicht-Hellfeld (teilweise Reflexion an der Goldoberfläche) und Auflicht-Interferenzkontrast, nicht jedoch im Auflicht-Dunkelfeld erkennbar ist. Das Auflicht-Interferenzkontrastverfahren war im Fall der Gold bedampften Diatomeenschalen dem normalen Auflicht-Hellfeldverfahren deutlich überlegen und ließ sogar, im Vergleich zu den REM-Aufnahmen, einen korrekten 3D-Eindruck der untersuchten Objekte zu (Abb. 4).

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Hausmann möchte ich recht herzlich für die Abbildungen im Teil 1 des Artikels danken.

Literaturhinweise

Esser, K.: Kryptogamen. Springer Verlag, Heidelberg 1986.
Fott, B.: Algenkunde. Gustav Fischer Verlag, Jena 1971.
Gerlach, D.: Das Lichtmikroskop. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1976.
Husemann, H.: Bestimmung Numerischer Aperturen – Teil 1: Geometrisch-optisch. Mikrokosmos *94*, 275–282 (2005a).
Husemann, H.: Bestimmung Numerischer Aperturen – Teil 2: Mittels der Abbe'schen Theorie. Mikrokosmos *94*, 337–344 (2005b).
Husemann, H.: Gitterkonstanten von Diatomeen. Mikrokosmos *95*, 115–121 (2006).
Rosenfeldt, G.: Hochbrechende Beobachtungs- und Einschlussmittel. Suchen und Finden. 1. Bestimmung der Brechungsindices. 2. Hochbrechende Beobachtungsmedien. Mikrokosmos *73*, 214–216 und 245–247 (1984).
Streble, H., Krauter, D.: Das Leben im Wassertropfen. Kosmos Verlag, Stuttgart 1978.

Verfasser: Prof. Dr. rer. nat. Gerhard Kauer, Fachhochschule in Emden, Abteilung Naturwissenschaftliche Technik/Bioinformatik, Constantiaplatz 4, D-26723 Emden, e-mail: kauer@nwt.fho-emden.de

Nachricht

4. Internationales Mikroskopiker-Pfingsttreffen der Mikroskopischen Gesellschaft Wien vom 02. bis 05. Juni 2006

Die Mikroskopische Gesellschaft Wien lädt vom 02.–05.6.2006 wieder zum Internationalen Pfingsttreffen in Unter-Waltersdorf ein. Das Treffen findet statt im Saal des Hotel-Café Waitz, Hauptplatz 9, A - 2442 Unter-Waltersdorf, Niederösterreich, Tel.: 0043-(0)22 54 / 724 05, Fax: 0043-(0)22 54 / 744 65. Die Durchführung obliegt Peter Pavlicek, Zollernsperggasse 8/2/11, 1150 Wien, Tel./Fax: 0043-(0)1 / 952 87 74, e-mail: peter.pavlicek@chello.at, und Herbert Palme, Reisenbergerstraße 1, A - 2440 Neu Reisenberg, Tel.: 0043-(0)22 34 / 73 479, e-mail: h.palme@utanet.at. Die verbindliche Anmeldung muss bis zum 30. April 2006. erfolgen. Der Unkostenbeitrag in Höhe von 75,00 € (inklusive Mahlzeiten) soll auf das Konto von Peter Pavlicek überwiesen werden: Konto-Nr.: 03110806271 bei der BAWAG, IBAN: AT591400003110806271, BIC: BAWAATWW.
Mikroskope und Verbrauchsmaterial werden zur Verfügung gestellt. Da während der Veranstaltung von den Teilnehmern mehrere Dünnschliffpräparate angefertigt werden, sollte ein Transportbehälter für die Präparate mitgebracht werden. Für die geplante Exkursion Wanderschuhe und Regenschutz nicht vergessen.

Der Montagvormittag wird für Vorträge von Teilnehmern reserviert. Um einen reibungslosen Ablauf zu ermöglichen, wird gebeten, dass Vortragswillige Herrn Peter Pavlicek bis Ende März eine Kurzbeschreibung (inklusive Vortragsdauer) zukommen lassen.

Programm

Samstag, 03.06.2006
8^{30} Uhr: Begrüßung der Teilnehmer. 9^{00}–14^{00} Uhr: Exkursion zum Steinbruch Pauliberg. 16^{00} Uhr: Anfertigen eines Dünnschliffes des Basaltes vom Pauliberg. 18^{00} Uhr: Vortrag *Der Vulkanismus* von Peter Pavlicek.

Sonntag, 04.06.2006
9^{00} Uhr: Anfertigung mehrerer Dünnschliffe von Meteoriten und von Impaktmaterial des Ries-Impaktes. 18^{00} Uhr: Vortrag *Der Impakt und seine Auswirkungen* von Peter Pavlicek.

Montag, 05.06.2006
9^{00} Uhr: Präsentationsmöglichkeit für die Teilnehmer. 12^{00} Uhr: Verabschiedung der Teilnehmer und Abbau der Geräte.

Peter Pavlicek und Herbert Palme

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

Microwereld: Ein edles Mikro-Pflänzlein blüht im Verborgenen

Klaus Hausmann

Wer kennt es nicht? Man nimmt plötzlich etwas wahr, was seit langem sozusagen vor der eigenen Tür liegt, aber bislang unerkannt blieb. Man wundert sich im Nachherein, dass man es erst jetzt bewusst wahrnimmt. So geschehen mit der Microwereld, der Kwartaaluitgave der Niederländischen Vereinigung für Mikroskopie.

Anlässlich der seit vielen Jahren stattfindenden Bodman-Mikroskopier-Woche, an der ich 2005 das erste Mal teilnahm, lernte ich eine Reihe von Mikroskopikern persönlich kennen, mit denen ich bislang, wenn überhaupt, nur briefliche Kontakte hatte. Dazu gehörte auch Jan Kros aus dem niederländischen Städtchen Hellevoetsluis, der allen Bodman-Insidern natürlich bekannt ist, sozusagen ein Mikroskopiker-Urgestein.

Wichtige Informationsquelle: Persönliche Gespräche

Beim abendlichen Zusammensein der Mikroskopiker, was eine wichtige Komponente während einer Mikroskopierwoche ist, kommen alle möglichen Themen zur Sprache. So nimmt es nicht Wunder, dass im vergangenen Jahr im Haus Greeth am Bodensee eines Abends vom MIKROKOSMOS und seinen Inhalten die Rede war. Was könnte man besser machen? Was hat sich bewährt? Ja, und wo gibt es heutzutage überhaupt noch eine solche Zeitschrift? Natürlich ist allen klar, dass unsere Zeitschrift im deutschsprachigen Raum die einzige ihrer Art ist. Das bedeutet aber, wie ich gelernt habe, nicht, dass in unserer unmittelbaren Umgebung überhaupt nichts Vergleichbares existiert. Ich muss eingestehen, dass ich sehr überrascht war, als Jan Kros mir von der niederländischen Mikroskopikerzeitschrift *Microwereld* berichtete, die es seit Juli 1995, also seit über 10 Jahren gibt, und zu deren Stammautoren er seit Anbeginn gehört. Bis dahin wusste ich gar nichts von dieser Zeitschrift. Ich bat Jan, mir einige aktuelle Hefte zuzuschicken, um mir selbst ein Bild davon machen zu können.

Beeindruckende Überraschung

Es dauerte nicht lange, und ich hatte den gesamten Jahrgang 2005 (Abb. 1) auf dem Redaktionsschreibtisch liegen. Und ich kann nur sagen, dass ich sehr beeindruckt war, beeindruckt von der Qualität des Drucks, aber auch – oder insbesondere – von der inhaltlichen Qualität und der thematischen Vielfalt der in Niederländisch geschriebenen Artikel. Ähnlich wie im MIKROKOSMOS gibt es Originalartikel, Kurzmitteilungen, Industriemeldungen, Buchbesprechungen und Vereinsnachrichten.
Wenn man dann von den näheren Umständen um die – ehrenamtliche – Herausgabe und die Verbreitung dieser Zeitschrift hört, wundert man sich noch mehr. *Microwereld* ist das Informations- und Mitteilungsorgan des einzigen Vereins für Mikroskopiker in den gesamten Niederlanden (NVVM), der seinen Sitz in Zoetermeer hat. Die Vereinigung zählt rund 120 Mitglieder. Jedes Mitglied erhält viermal im Jahr die in einer Auflage von 150 Exemplaren erscheinende 40seitige *Kwartaaluitgave*. Die Kosten dafür sind mit dem moderaten Mitgliedsjahresbeitrag in Höhe von 40,00 € abgegolten. Da kann man eigentlich nur festhalten, dass Enthusiasten für die gemeinsame Sache am Werk sind. Dafür spricht auch die Internet-Homepage: www.mikros.nl.
Für mich als Herausgeber des MIKROKOSMOS gehört es leider ins Reich der Träume, dass alle Mitglieder der verschiedenen deutschsprachigen mikroskopischen Gesellschaften automatisch unsere Abonnenten sind. Das würde uns einige Zukunftssorgen nehmen.

Verfasser: Prof. Dr. Klaus Hausmann, Redaktion MIKROKOSMOS

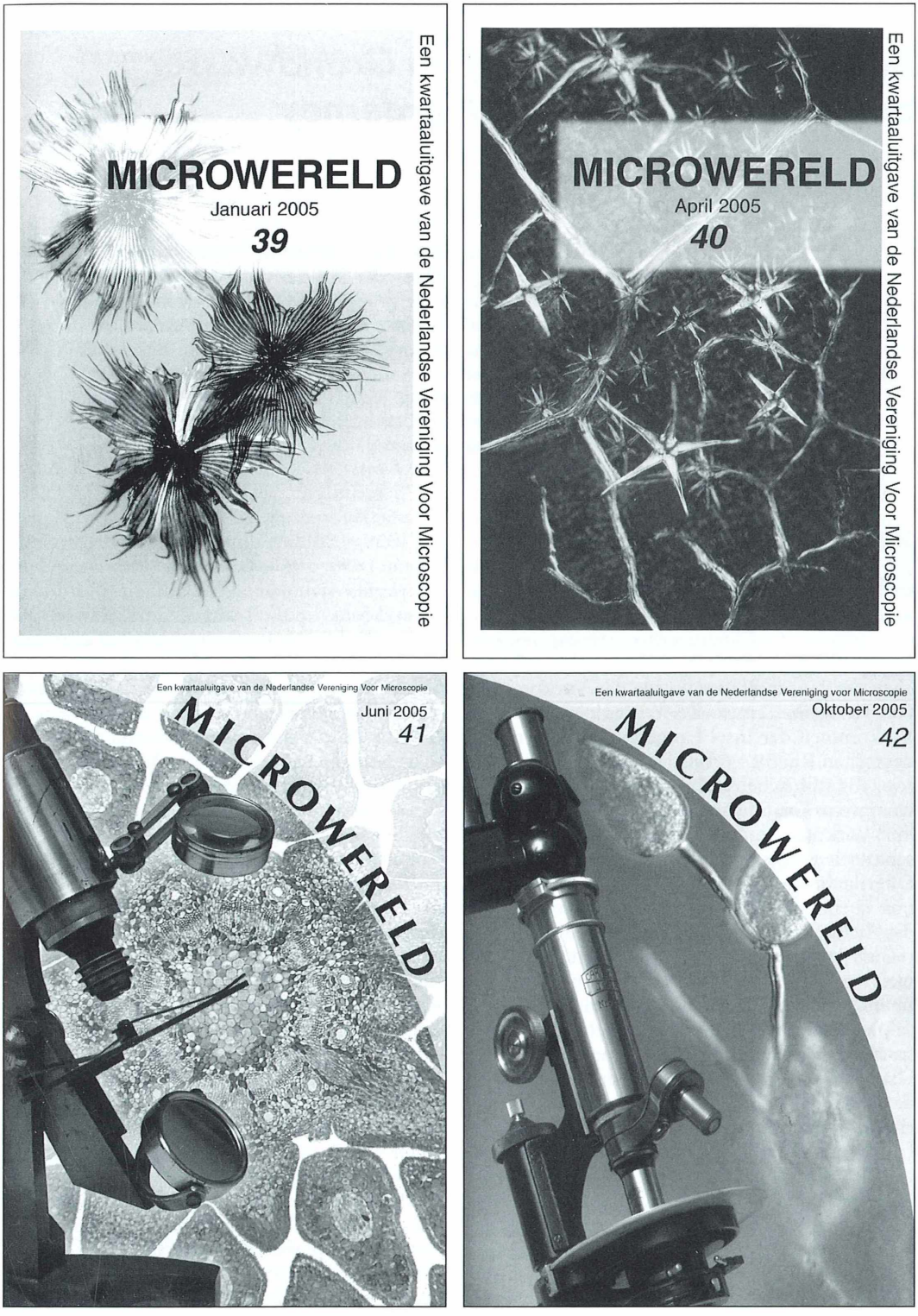


Abb. 1: Titelseiten der vier Ausgaben des Jahrgangs 2005 der *Microwereld*.

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

Bärtierchen (Tardigrada) im Grundwasser der Ostfriesischen Insel Norderney

Gunnar Gad

Im Grundwasser lebt eine Vielzahl kleiner Tiere, die so genannte Stygofauna (unterweltliche Fauna; abgeleitet von styx (gr.) = Fluss oder See der Unterwelt), vergleichbar mit der Meiofauna der Meere. Bestimmte Tiergruppen trifft man im Grundwasser regelmäßig an wie Ruderfußkrebse, Muschelkrebse, Ringelwürmer, usw. Andere Tiergruppen, die in der marinen Meiofauna regelmäßig auftreten, kommen dort nicht vor. Im Grundwasser leben keine Bärtierchen – diese Ansicht hält sich seit langem hartnäckig. Eine Reihe neuester Befunde belegt jedoch das Gegenteil. So zeigten Untersuchungen der Grundwasserfauna der Ostfriesischen Insel Norderney, dass Bärtierchen durchaus im Grundwasser vorkommen.

Die Süßwasserlinse der Ostfriesischen Insel Norderney wurde auf die in ihr möglicherweise lebende Grundwasserfauna untersucht. Im Rahmen des Projektes *Umweltverträgliche Grundwasserbewirtschaftung in hydrologisch und ökologisch sensiblen Bereichen der Nordseeküste* wurde das Vorkommen von Tieren im Grundwasser erfasst und mit den Vorkommen der Insel Langeoog und des norddeutschen Raumes verglichen (Gad, 2003). Die zoogeographische Ausbreitung ist nur von den wenigsten Grundwassertieren bekannt. So ist ihr Vorkommen oft von geeigneten Landschaftselementen wie zum Beispiel fließenden Oberflächengewässern abhängig, da sie sich nur über diese verbreiten können. Generell ist die Ausbreitungsfähigkeit von Grundwassertieren als gering einzustufen, weswegen der Nachweis von Grundwassertieren häufig Auskunft über die aktuelle oder erdgeschichtliche Isolation des untersuchten Areals gibt. In diesem besonderen Falle waren es die Grundwasserlinsen Ostfriesischer Inseln, insbesondere von Norderney, die als eigenständige isolierte Lebensräume betrachtet wurden.

Untersuchungen der Grundwasserfauna sind abgesehen von der Periode zwischen den 30er und 70er Jahren noch die Ausnahme (Glatzel, 1989). Die meisten dieser Untersuchungen konzentrierten sich auf den süddeutschen Raum, wo grobporige Grundwasserleiter und große Flusstäler einer vielfältigen Grundwasserfauna einen Lebensraum bieten (Noll und Stammer, 1953). In Norddeutschland sind demgegenüber nur wenige Studien durchgeführt worden (Husmann, 1956, 1957; Glatzel, 1989). Diese konzentrierten sich vor allem auf die Nord- und Ostseeküste, speziell auf deren Strände (Remane, 1950). Die Insel Helgoland ist eine Ausnahme, denn ihre Grundwasserfauna wurde mehrmals untersucht (Husmann, 1962). Auf einigen Westfriesischen Inseln, bei denen die Geestkerne in der Vergangenheit nie vom Meer weggeschwemmt wurden, gab es nur stichprobenhafte Untersuchungen. Die Ostfriesischen Inseln wurden nie im Hinblick auf eine möglicherweise vorkommende Grundwasserfauna untersucht, denn sie sind nach geltender Auffassung noch nicht so alt, dass sie erfolgreich von Grundwassertieren hätten besiedelt werden können. Eine anerkannte Theorie geht davon aus, dass sich Grundwassertiere in einer nacheiszeitlichen Periode bei niedrigem Wasserstand der Nordsee ausbreiteten und die bekannten Vorkommen auf Helgoland deshalb „Reliktvorkommen" darstellen (Husmann, 1962). Im Gegensatz zu den Westfriesischen Inseln, deren Geestkerne schon immer mit Grundwasser gefüllt waren, sind die Ostfriesischen Inseln nur 7.500 Jahre alt, wobei sie wahrscheinlich erst in den letzten 2.500 Jahren ihr heutiges Erscheinungsbild bekamen. Ihre Entstehung ist damit eindeutig nach der letzten Eiszeit zu datieren (Streif, 1990). Die Untersuchungen des Grundwassers der Insel Norderney wurden durchgeführt, um die grundsätzliche Annahme zu überprüfen, dass es dort keine Grundwassertiere gäbe.

Sind Süßwasserlinsen ein Lebensraum für Grundwassertiere?

Das Ökosystem Grundwasser ist nur wenig erforscht. Allgemein bekannt ist, dass Niederschläge sich im Grundwasser ansammeln, nachdem sie in den oberen Bodenschichten versickert sind. Neben dem sich immer wieder auffüllenden oberflächennahen Grundwasser gibt es noch oberflächenferne und unbeeinflusste fossile Grundwässer. Letztere spielten hier keine Rolle, weil sie zum einen auf Inseln nicht vorkommen und sie zum anderen so tief liegen, dass in ihnen keine Tiere leben können.
Die Grundwasserbildung hängt entscheidend von Faktoren des Bodens wie Korngröße, Porenvolumen und Bodenchemie ab. Darüber hinaus ist der Boden ein fein vernetztes Ökosystem, in dem sich viele Organismen zu komplexen Lebensgemeinschaften vereinigen. Weniger bekannt ist, dass Grundwasser selbst ein Lebensraum für ein großes Spektrum von Organismen darstellt, der sich durch eine Reihe von spezifischen Eigenschaften auszeichnet. Er ist geprägt von permanenter Dunkelheit und geringer Wassertemperatur. Je größer die Entfernung zwischen Oberflächenwasser und Grundwasser ist, desto geringer fallen die jahreszeitlichen Temperaturschwankungen im Grundwasser aus. Eine Folge davon sind weitestgehend konstante Bedingungen. Die Klassifizierung von Grundwasser beruht unter anderem auf den Grundwasserleitern; damit ist der Teil des Bodens gemeint, den das Grundwasser ungehindert durchfließen kann. Als besonderer Lebensraum gilt außerdem die Zone, wo Fließgewässer mit Grundwasser in Kontakt treten, und die sich unter deren Stromsohle sowie in dessen Uferbereich erstreckt (Schminke, 1997). Die Sonderstellung dieser Kontaktzone ergibt sich daraus, dass dort eine Durchgangsstation auf dem Weg zur Anpassung an das Leben im Grundwasser ist, die sozusagen zwischen Oberflächengewässern und Grundwasser vermittelt. Dort besteht für Tiere ein offenes Tor zur Besiedelung von Grundwasser.
Es stellt sich die Frage, ob auch auf den Ostfriesischen Inseln Bereiche existieren, in denen sich ein Grundwasserkörper bilden kann, der Grundwassertieren die Besiedelung ermöglicht. Der Grundwasserkörper der Ostfriesischen Inseln ist eine Süßwasserlinse, die aufgrund ihrer geringeren spezifischen Dichte auf dem umgebenden Meerwasser schwimmt. Die Süßwasserlinsen sind fern von jedem Einfluss von Fließgewässern, nur mit einigen Stillgewässern wie kleinen Teichen oder Sümpfen feuchter Dünentäler stehen sie in Verbindung. Aus der Perspektive einer potentiellen Grundwasserfauna bilden diese Süßwasserlinsen keine einheitlichen Wasserkörper, vielmehr sind sie durch Schichten mit unterschiedlicher Durchlässigkeit unterteilt, was für das Vorkommen von Tieren entscheidend ist. So sind im Untergrund von Norderney tertiäre Grob- und Feinsande vorhanden, in denen das Wasser ungehindert fließen kann. Dazwischen kommen immer wieder undurchlässige Schichten vor, wie die Torflagen historischer Moorbildungen (Sindowski, 1973) oder ehemalige Wattböden mit feinem Schlick. In Bereichen mit solchen Schichten staut sich das Grundwasser und ist aufgrund von Abbauprozessen organischer Substanz frei von Sauerstoff, dafür stark mit Schwefelwasserstoff gesättigt. Hier leben keine Grundwassertiere, denn obwohl die meisten von ihnen tolerant gegenüber geringen Sauerstoffkonzentrationen sind, können sie ganz ohne Sauerstoff in diesen Zonen nicht leben.

Die Untersuchung der Süßwasserlinse

Die Insel Norderney verfügt über eine ausgedehnte Süßwasserlinse, aus der regelmäßig genügend Wasser für die lokale Trinkwasserversorgung entnommen werden kann. Für die Wasserförderung betreiben die Stadtwerke zwei Wasserwerke. Das ortsnahe Wasserwerk I im Westen der Insel ist seit 1889 im Betrieb und fördert mittlerweile nur noch ein Fünftel des Trinkwassers. In seinem Einzugsbereich befinden sich acht Brunnen, die aus 14–23 m Tiefe Wasser fördern. Wasserwerk II der Weißen Düne im Osten der Insel nahm 1959 seinen Betrieb auf. Der Einzugsbereich dieses Wasserwerkes umfasst eine Zone mit 16 Brunnen, die in Tiefen von 12–55 m hinabreichen, innerhalb derer die Süßwasserlinse am mächtigsten ist. Das geförderte Wasser und die Filter der Wasserwerke I und II wurden im Frühjahr 2001 und 2002 untersucht.
Ein allgemeines Problem sind Nachweise von Grundwassertieren im Gelände. Auf Norderney gibt es weder Fließgewässer noch Stillgewässer mit grobsandigen Ufern, die Ufergrabungen nach der Methode von Karaman (1935) und Chappuis (1942) erlauben. Daher

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

ist die einfachste Methode, sich einen Überblick über die Grundwasserfauna zu verschaffen, die qualitative Untersuchung der Filter und des hereinkommenden Wassers in den Wasserwerken. Dort kommt Grundwasser aus unterschiedlichen Bereichen der Inseln zusammen und enthält erfahrungsgemäß alle im Grundwasser vorkommenden Tierarten.
Um die winzigen Grundwasserbewohner zu fangen, wurden Netze mit einer Feingaze von 40 µm eingesetzt, die eine Glasphiole am unteren Ende aufweisen. Die Glasphiole fängt die Tiere auf und ist am unteren Ende mit einem Korken verschlossen. Die Netze wurden sowohl stundenlang in die Zuleitungsrohre der Wasserwerke eingehängt als auch eingesetzt, um während der Rückspülungen der ersten Filterstufen alles aufzufangen, was an Filtrat austrat. Ergänzend fand eine Probennahme auch an den leicht erreichbaren Stellen im Gelände statt. Das in den Wasserwerken entnommene Wasser wurde teilweise als Lebendproben ins Labor überführt und sofort aussortiert. Die darin vorgefundenen Grundwassertiere, insbesondere Bärtierchen (Tardigrada) und auch Rädertierchen (Rotifera), wurden bestimmt. Um sie auszusortieren, wurde ein Binokular mit verstellbarem Dunkelfeld (Leica MZ8) benutzt, in dem die Kutikula der Tiere das schräg einfallende Licht deutlicher bricht als die Detrituspartikel. Nach der Sortierung wurden die Bärtierchen mit 4%iger Formalinlösung fixiert und danach in Polyvinyl-Lactophenol und Hoyer's Medium eingebettet, um so mikroskopische Dauerpräparate herzustellen. Die Rotatorien hingegen wurden, sofern sie nicht sofort behandelt wurden, in Glycerin eingebettet.

Das Vorkommen von Grundwassertieren auf Norderney

In das Grundwasser wanderten Angehörige verschiedener Tiergruppen ein. Ihnen allen gemeinsam war es möglich, über morphologische, physiologische und verhaltensbiologische Veränderungen das Lückensystem von grobporigen Grundwasserleitern zu besiedeln. Echte Grundwassertiere zeigen gegenüber ihren Vorfahren oder Verwandten aus Oberflächengewässern einige besondere Anpassungen (Schminke und Glatzel, 1988; Rumm und Schminke, 2000). Sie haben eine geringe Größe und einen sehr beweglichen, wurmförmigen Körper, außerdem fehlen ihnen in der Regel Augen und Pigmente. Sie bringen pro Zeiteinheit weniger Nachkommen zur Welt und zeichnen sich durch auffällige Verlängerung aller Phasen ihrer Entwicklung aus. Generell leben sie deutlich länger als ihre Verwandten in oberirdischen Gewässern. Ferner haben sie aufgrund eines verlangsamten Stoffwechsels eine geringe Bewegungsaktivität, die eine Existenz in einer sauerstoffarmen Umgebung gestattet. Des Weiteren haben Grundwassertiere keine innere Uhr, die sie auf jahreszeitliche Rhythmen reagieren lässt. Die Versorgung der Lebensgemeinschaften des Grundwassers hängt vom Nährstoffeintrag ab, in der Regel Abbauprodukte der Bodenstreu oder Oberflächengewässer, die mit versickernden Niederschlägen in tiefere Bodenschichten gelangen. Es ist davon auszugehen, dass den Grundwassertieren in der Regel nur wenig Nahrung zur Verfügung steht, es sei denn, es dringt überdüngtes Oberflächenwasser ein.
Die im Grundwasser lebenden Tiere werden aufgrund ihrer Biologie in drei Kategorien eingeteilt. Diejenigen, die ausschließlich im Grundwasser leben und sich nur dort fortpflanzen, werden als Stygobionten bezeichnet. Demgegenüber besiedeln stygophile Arten Oberflächengewässer und wandern von dort aus ins Grundwasser ein, wo sie ebenfalls lebens- und fortpflanzungsfähig sind. In der letzten Kategorie finden sich stygoxene Arten, die von Oberflächenbiotopen lediglich ins Grundwasser gespült und dort durchaus auch längerfristig lebend angetroffen werden. Sie können sich dort jedoch nicht fortpflanzen.
Deutschland gehört zu den Ländern, in denen nach dem Zweiten Weltkrieg eine der bisher gründlichsten Bestandsaufnahmen der regionalen Grundwasserfauna vorgenommen wurde. Dennoch sind selbst in Deutschland viele Regionen wie beispielsweise die Ostfriesischen Inseln bisher noch nie untersucht worden. Die Anzahl der in Deutschland vorkommenden Grundwassertiere lässt sich nur ungefähr ermitteln. Während 1978 in Europa 1.013 stygobionte Tierarten bekannt waren, wird ihre Zahl heute auf über 2.000 geschätzt. In Deutschland sind davon bisher 496 Arten nachgewiesen, davon sind 178 stygobiont und 318 stygophil (Rumm und Schminke, 2000). Bei Untersuchungen der Grundwasserfauna vor 40 Jahren im südlichen Niedersachsen fand Husmann (1957) 37 echte Stygobionten. Die letzte Erfas-

sung im Nordwesten Niedersachsens, im Grundwassereinzugsbereich von Ems und Weser durch Glatzel (1989) ergab neun stygobionte und 15 stygoxene Arten, die bei Ufergrabungen an Flüssen festgestellt wurden.
Die ökologische Bedeutung der Grundwasserfauna wird noch immer unterschätzt. In den Grundwasserbiotopen mit einer gut eingespielten Lebensgemeinschaft von Grundwasserorganismen werden eingespülte organische Substanzen schnell zersetzt (Rumm, 1999). Eine Schlüsselrolle nehmen dabei Bakterien, Einzeller und Pilze ein. Grundwassertiere, wie beispielsweise Flohkrebse (Amphipoden), leisten ebenfalls einen wichtigen Beitrag, indem sie als Makrozerkleinerer größere Pflanzenreste fressen, die bereits von Bakterien und Pilzen besiedelt sind. Ihre Ausscheidungen werden in Folge von Ruderfußkrebsen (Copepoden) als Mikrozerkleinerer weiter verwertet. Außerdem weiden viele Grundwassertiere Bakterien ab und erbeuten Einzeller. Durch diese Prozesse wird eintretendes Oberflächenwasser gereinigt und zu Grundwasser hoher Qualität. Gleichzeitig halten die Grundwassertiere durch ihre Fraß- und Wühltätigkeit die Poren der Grundwasserleiter offen, so dass sie nicht verstopfen (Husmann, 1978; Eder, 1980; Preuß und Schminke, 2004).
Auf Norderney wurden im Grundwasser über 24 Tierarten gefunden, davon konnten 16 bis zur Arten bestimmt werden (Gad, 2003). Nur eine Bestimmung bis zur Art ermöglicht es zu sagen, ob es sich um echte Stygobionten handelt oder lediglich um stygoxene Arten. Aus folgenden Tiergruppen wurden Vertreter im Grundwasser gefunden: Strudelwürmer (Turbellaria), Fadenwürmer (Nematoda), Wenigborster (Clitellata), Wassermilben (Hydracarida), Muschelkrebse (Ostracoda), Ruderfußkrebse (Copepoda), Gastrotricha (Bauchhaarlinge), Rädertierchen (Rotifera) und Bärtierchen (Tardigrada). Die meisten vorgefundenen Arten schienen aus Oberflächengewässern ins Grundwasser eingespült worden zu sein. Lediglich die Funde zweier Arten waren überraschend. Der Ruderfußkrebs *Parastenocaris vicesima* wurde vereinzelt angetroffen und repräsentiert einen echten Stygobionten (Gad, 2003). Dies deutet an, dass es in der Süßwasserlinse Norderneys (aber auch Langeoogs) durchaus eine bescheiden ausgeprägte Grundwasserfauna gibt. Der andere überraschende Fund betraf die im Förderwasser der Insel Norderney teilweise massenhaft anzutreffenden Bärtierchen der Art *Thulinia stephaniae* (Abb. 1a und 2).

Massenhaftes Auftauchen von Bärtierchen im Inselgrundwasser

Alle Bärtierchen sind kleine, meist nicht über 1 mm große aquatische Gliederfüßer (Arthropoda) (Moritz, 1980). Süßwasser-Bärtierchen findet man vor allem in kleinen Wasseransammlungen, in der Laubstreu und oft in großer Individuenzahl in Moospolstern. Bärtierchen, die temporäre Gewässer und Moospolster besiedeln, haben häufig die Fähigkeit zur Trockenstarre (Anhydrobiose); dafür kontrahieren sich die Tiere vollständig und bilden, indem sie fast das gesamte Wasser abgeben, ein Tönnchen (Wright et al., 1992). Tönnchenstadien und Dauereier sind sehr widerstandsfähig und vertragen extreme Trockenheit, hohe Salinität und sauerstofffreie Umgebung (Kinchin, 1994). Rund 600 Arten sind weltweit bekannt, vor allem Süßwasser-Bärtierchen, von denen viele als Kosmopoliten (weltweit vorkommend) angesehen werden.
Ihre resistenten Dauereier oder Tönnchen-Stadien werden oft von fliegenden Tieren oder Winden verbreitet. Die Eier mancher Arten haben eine artspezifische Oberflächenstruktur, die aus kleinen Stacheln oder Papillen besteht. In Deutschland kommen rund 60 Arten an Bärtierchen vor (Schaefer, 1992); von diesen sind es nur acht, die gelegentlich im Sandlückensystem von Flüssen beziehungsweise Grundwasser auftauchen (Ramazzotti, 1978; Gad, im Druck). Außerdem führt die weite Verbreitung manch anderer Bärtierchen dazu, dass sie häufig in oberflächennahes Grundwasser eingespült werden und bis in Tiefen von mehreren Metern noch nachweisbar sind. Dies betrifft vor allem die Gruppe der Eutardigraden, die mit rund 19 teils artenreichen Gattungen vertreten ist. Sie besiedeln oft in großer Individuenzahl Wasseransammlungen jeden Typs. Werden von ihnen Individuen ins Grundwasser verfrachtet, reproduzieren sie sich im Allgemeinen dort nicht.
Kennzeichen aller Bärtierchen sind eine feste Körperkutikula und vier Beinpaare, die jeweils mit vier bis sechs kräftigen Doppelkrallen versehen sind. Charakteristisch ist außerdem der Buccalapparat mit zwei kräftigen Stiletten, mit denen Nahrung angestochen und von dem kräftigen Schlundmuskel oder Pharynx ausge-

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

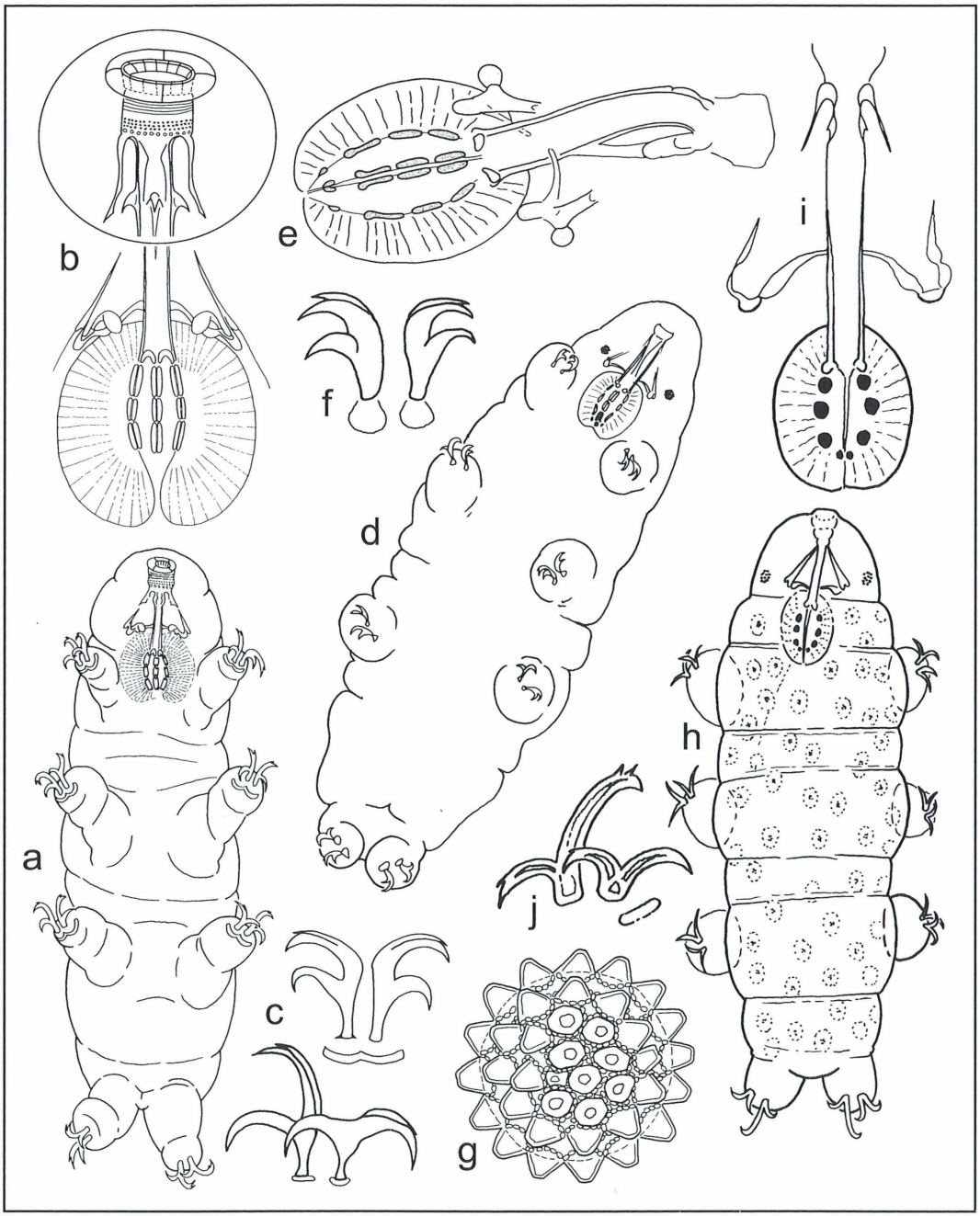


Abb. 1: Bärtierchen. a–c *Thulinia stephaniae:* a Habitus (Körperlänge 550 µm); b Buccalapparat und Pharynx (Bauchansicht); c Krallen des 1. bis 3. Beinpaares mit kutikularen Querbalken, die des 4. Beinpaares ohne; d–g *Macrobiotus richtersi:* d Habitus (Körperlänge 700 µm); e Pharynx (Bauchansicht); f gleichförmige Krallen des 1. bis 4. Beinpaares mit Haftlappen bzw. Lunulus; g Ei mit artspezifischer Oberflächenstruktur (Durchmesser 80 µm); h–j *Isohypsibius prosostomus:* h Habitus (Gesamtlänge 400 µm); i Buccalapparat und Pharynx (Seitenansicht); j Krallen des 1. bis 3. Beinpaares.

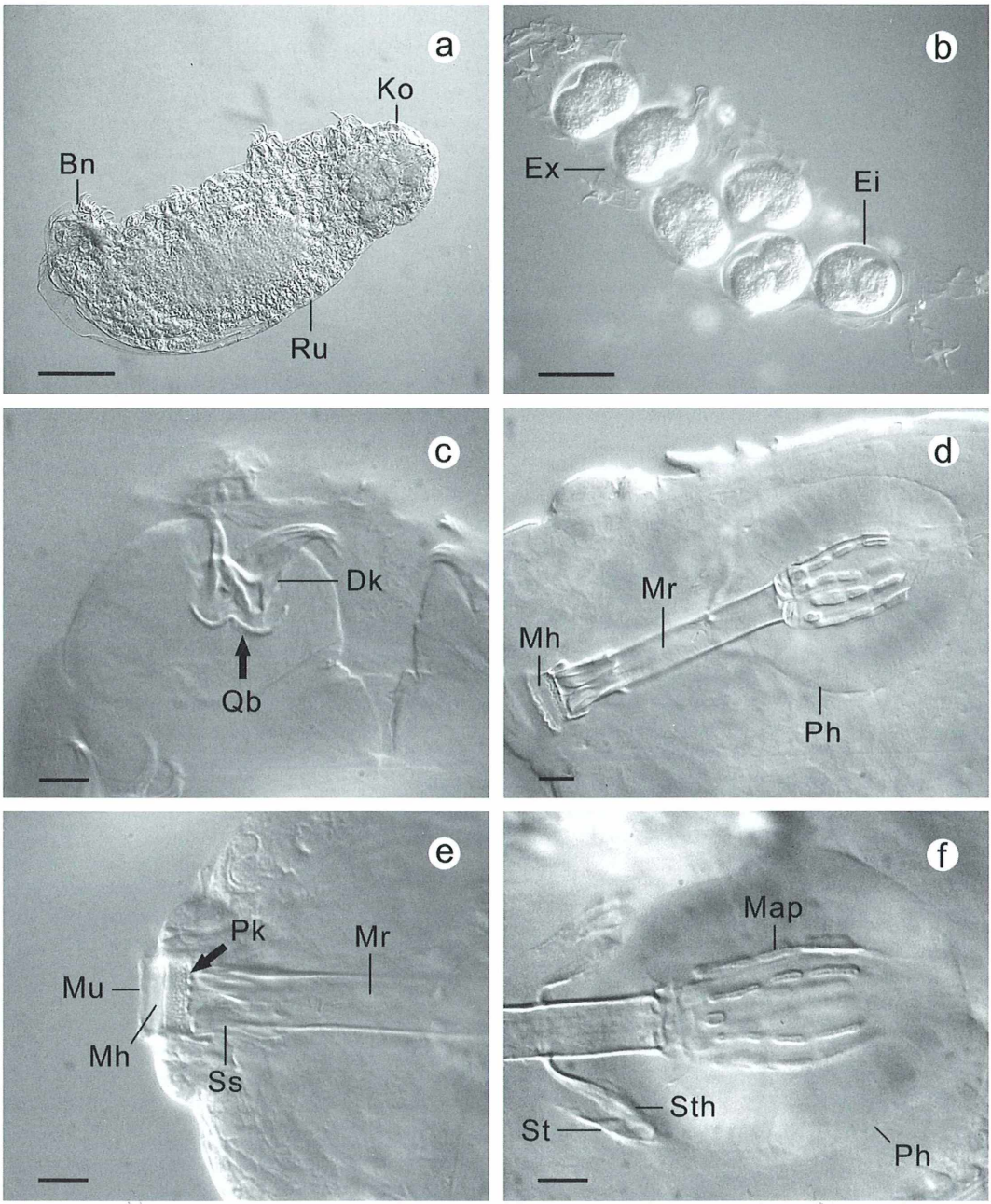


Abb. 2: ***Thulinia stephaniae.*** **a Habitus, Bn Bein, Ko Kopf, Ru Rumpf, Maßstrich 100 µm; b Exuvie (Ex) mit drei glattschaligen Eiern (Ei), Maßstrich 100 µm; c Krallen des 1. Beinpaares, Qb kutikularer Querbalken, Dk Doppelkralle, Maßstrich 10 µm; d Buccalapparat (Bauchansicht), Mh Mundhöhle, Mr Mundrohr, Ph Pharynx, Maßstrich 10 µm; e Mundhöhle (Mh), Mr Mundrohr, Mu Mundöffnung, Pk Punktierung, Ss Stilettscheide, Maßstrich 10 µm; f Pharynx (Ph), Map Makroplacoid, St Stilett, Sth Stilletthalter, Maßstrich 10 µm; Differentieller Interferenzkontrast (DIK).**

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

saugt wird. Dieser Buccalapparat ist oft das einzige komplexe Merkmal, anhand dessen terrestrische oder limnische Bärtierchen unterschieden werden können. Parthenogenese (reine Weibchenpopulation, die unbefruchtete Eier produziert) ist bei Süßwasserbewohnern weit verbreitet. Bärtierchen, die permanent Grundwasser besiedeln, waren bisher nicht bekannt. Es wurde immer angenommen, dass sie zu den Arten gehören, die aus oberflächennahen Habitaten eingespült wurden.

Bärtierchen der Gattung Thulinia

Eine der häufigsten Tierarten im hereinkommenden Wasser und in den Filtern der Wasserwerke auf Norderney war das Bärtierchen *Thulinia stephaniae* (Bertolani et al., 1999). *T. stephaniae* ist eine kleine, um die 550 µm große, augenlose Art, deren Körper durchsichtig ist, da Pigmente fehlen. Die Arten der Gattung *Thulinia* gehören zu den ausschließlich (obligat) Süßwasser bewohnenden Arten, die eine vergleichsweise einheitliche Gestalt haben. Ihre Körper haben keine äußeren Anhänge wie Kopftentakel oder Taster. Die Beine haben zwei Doppelkrallen, die sich aus Haupt- und Nebenast zusammensetzen. Wie bei allen Vertretern der Eutardigraden sind Haupt- und Nebenast der Krallen basal fest miteinander verbunden. Haftlappen (Lunules) an der Krallenbasis sind manchmal vorhanden. Die inneren Wände des runden Schlundmuskels oder Pharynx (Abb. 1b; 2d, f) sind mit drei deutlichen Reihen fester Plättchen (Placoiden) ausgekleidet.

Die Gattung *Thulinia* wurde erst kürzlich von Bertolani et al. (1999) revidiert, ihr gehören nur drei Arten an. Vor dieser Revision gab es vor allem Verwechslungen mit Arten der Gattung *Isohypsibius*. So wurde zum Beispiel die am längsten bekannte Art von Murray bereits 1907 als *Macrobiotus angusti* beschrieben und zwischenzeitlich in zwei verschiedene Gattungen (*Hypsibius* und *Isohypsibius*) gestellt. Das hat zur Folge, dass Informationen zur Biologie und Ökologie, die anhand von *Thulinia* (*Macrobiotus*) *angusti* stellvertretend für die Gattung gesammelt wurden, bei Marcus (1929) nur unter dem alten Namen zu finden sind.

Kennzeichen der Gattung *Thulinia* sind nun wie folgt: Der Körper ist mit einer glatten Kutikula bedeckt; die Augen und eine Körperfärbung fehlen; die basale Verbindung der Klauenpaare hat eine auslaufende Basis; unterhalb der Klauen befinden sich auf den ersten drei Beinpaaren kutikulare Querbalken; die Mundöffnung ist von sechs Mundklappen umgeben, wenn sich diese noch weiter unterteilen, sind es gar zwölf. Das Schlundrohr beginnt mit einem breiten Band feiner Punktierung, die aus kleinen Vakuolen besteht; der runde Schlundmuskel ist mit drei Reihen großer Plättchen versehen. Von diesen Merkmalen sind die kutikularen Querbalken unterhalb der Klauen (Abb. 1c und 2c) und das breite Band feiner Punktierung am Beginn des Schlundrohres (Abb. 1b und 2e) unverwechselbar. In Tabelle 1

Tabelle 1: Merkmale zur Unterscheidung der drei *Thulinia*-Arten.

Thulinia stephaniae	*Thulinia ruffoi*	*Thulinia augusti*
• 6 Mundklappen	• 6 Mundklappen	• Mundklappen sekundär in 12–16 Einheiten unterteilt
• Punktierung am Beginn des Schlundrohres bildet 3–5 deutliche Reihen	• Punktierung am Beginn des Schlundrohres bildet 6–7 deutliche Reihen	• Punktierung (extra fein) am Beginn des Schlundrohres bildet ein breites Band
• wenig erweitertes Schlundrohr	• deutlich erweitertes Schlundrohr	• deutlich erweitertes Schlundrohr
• Krallen <u>ohne</u> Haftlappen	• Krallen <u>mit</u> Haftlappen	• Krallen <u>ohne</u> Haftlappen
• äußere Krallen breit, ohne sekundäre Spitzen	• äußere Krallen dünn, mit sekundären Spitzen	• äußere Krallen dünn, mit sekundären Spitzen
• Verlängerung der fusionierten Krallenbasis kurz und breit, verbreitert und teilt sich basal	• Verlängerung der fusionierten Krallenbasis lang und schmal, weder verbreitert noch geteilt	• Verlängerung der fusionierten Krallenbasis lang und schmal, weder verbreitert noch geteilt
• kutikulare Balken unterhalb der Krallen breit und nicht geteilt	• kutikulare Balken unterhalb der Krallen dünn und geteilt	• kutikulare Balken unterhalb der Krallen dünn und geteilt

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

werden die Merkmale zusammengefasst, aufgrund derer die drei Arten der Gattung *Thulinia* zu unterscheiden sind.
Als reine Süßwasserbewohner werden *Thulinia*-Arten in permanenten Kleingewässern, vorzugsweise Quellen angetroffen (Marcus, 1929). Aufgrund dieser aquatischen Lebensweise haben Arten wie *T. stephaniae* anscheinend die Fähigkeit verloren, Tönnchen zu bilden. Einige können dafür ersatzweise Zysten herstellen, die jedoch längst nicht so widerstandsfähig sind. Bei der Zystenbildung wird nach einer Häutung die alte Kutikula nicht verlassen. Das Besondere an *Thulina*-Arten ist, dass bei ihnen auch keine Zysten vorkommen sollen. Sie gehören damit zu den wenigen Bärtierchen, die das Austrocknen ihrer Wohngewässer nicht überleben können. Eine gewisse Resistenz, solche Krisen zu überdauern, scheinen nur die Eier zu haben. Wie bei vielen Eutardigraden, häuten sich die weiblichen Tiere vor jeder Eiablage und lassen wie im Falle von *T. stephaniae* drei oder mehr Eier in der alten Exuvie zurück (Abb. 2b). Die Anzahl der Eier richtet sich anscheinend nach Größe und Ernährungszustand der Weibchen.

Macrobiotus- und Isohypsibius-Arten

Neben *Thulinia stephaniae* wurden zwei weitere Bärtierchen-Arten in den Wasserwerken gefunden. Einige lebende Exemplare von *Macrobiotus richtersi* (Abb. 1d–g) samt Exuvien mit Eiern waren vorhanden. Schließlich kam auch noch sehr vereinzelt *Isohypsibius prosostomus* (Abb. 1h–j und 4a) vor, jedoch nicht durch lebende Tiere vertreten, sondern nur durch Exuvien mit Eiern (Abb. 4e). Die Gattung *Macrobiotus* enthält weltweit rund 100 schwer bestimmbare Arten, von denen mindestens 10 regelmäßig in Deutschland angetroffen werden. Fast alle Arten haben eine weite Verbreitung, die Mehrzahl stellen die Moos- und Laubstreubewohner. Einige reine Süßwasserbewohner gibt es ebenfalls. Fast alle *Macrobiotus*-Arten haben die Fähigkeit zur Tönnchenbildung, die wenigen ausschließlichen Gewässerbewohner bilden zumindest Zysten aus.
M. richtersi (Abb. 1d und 3a) ist eine vergleichsweise große räuberische Art, die 700 µm bis 1 mm Körperlänge erreicht. Sie ernährt sich von anderen kleinen Wirbellosen (Guidetti und Bertolani, 2001). Junge Exemplare sind durchsichtig, alte Exemplare weisen eine leicht bräunliche Färbung auf. Die Kutikula ist glatt, jedoch von sehr kleinen Poren durchsetzt, die im Mikroskop als glänzende Perlen erscheinen. Die Mundöffnung ist von einer doppelten Lamelle eingefasst. Die Mundhöhle und die Mundröhre repräsentieren nach Pilato (1972) den *Macrobiotus*-Typ (Abb. 1e). Dabei ist die Mundröhre lang, unflexibel und bei *M. richtersi* auffällig erweitert (20% ihrer Länge), auf ihrer Ventralseite verläuft ein langer Scheidenhalter (Abb. 3c, fehlt bei den beiden anderen hier vorgestellten Arten). Die paarigen Stilette sind groß und robust. Der runde Schlundmuskel ist mit drei Reihen kräftiger Makroplacoide und einer zusätzlichen Reihe Mikroplacoide besetzt (Abb. 1e und 3d). Die Makroplacoide sind rund, die der ersten beiden Reihen von gleicher Größe und stehen eng zusammen, die größeren der dritten Reihe folgen in einem deutlichen Abstand. Die vier robusten Krallen sind paarweise angeordnet und haben deutliche Haftlappen (Abb. 1f und 3b) an ihren Basen. *M. richtersi* wird leicht mit anderen ähnlichen *Marcobiotus*-Arten verwechselt. Es handelt sich jedoch um eine Art, die aufgrund ihres weiten Mundrohres und der Form und Anordnung der Placoide auch in Abwesenheit der Eier relativ sicher bestimmbar ist. Ansonsten müssen oft für eine sichere Artbestimmung die Eier mit herangezogen werden. Die unverwechselbaren Eier von *M. richtersi* haben dicht stehende pyramidengleiche Höcker als Oberflächenstruktur, deren Basis einen Kranz kleiner Papillen aufweist (Abb. 1g). Sie dienen vermutlich dem Anheften der Eier im Moos oder Boden. Die weite Verbreitung in oftmals hohen Individuendichten sowie die große ökologische Toleranz führen dazu, dass gerade *Macrobiotus*-Arten immer wieder ins Grundwasser einwandern. *M. richtersi* wird in nassem Moos oder Laubstreu genauso häufig gefunden wie im Sandlückensystem von Gewässern (Bertolani, 1982; Pilato, 1971; Pilato et al., 1989). Die Verbreitung ist wahrscheinlich kosmopolitisch, denn es gibt Nachweise von fast allen Kontinenten (Ramazzotti und Maucci, 1983).
Isohypsibius prosostomus gehört ebenfalls zu einer artenreichen Gattung, jedoch ist nicht genau bekannt, wie viele von den 76 *Isohypsibius*-Arten in Deutschland vorkommen. Die Arten dieser Gattung werden vor allem durch ihre Krallen charakterisiert (Abb. 1j und 4d), denn bei ihnen sind Haupt- und Nebenkralle lang, fast parallel zueinander und an der Basis

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

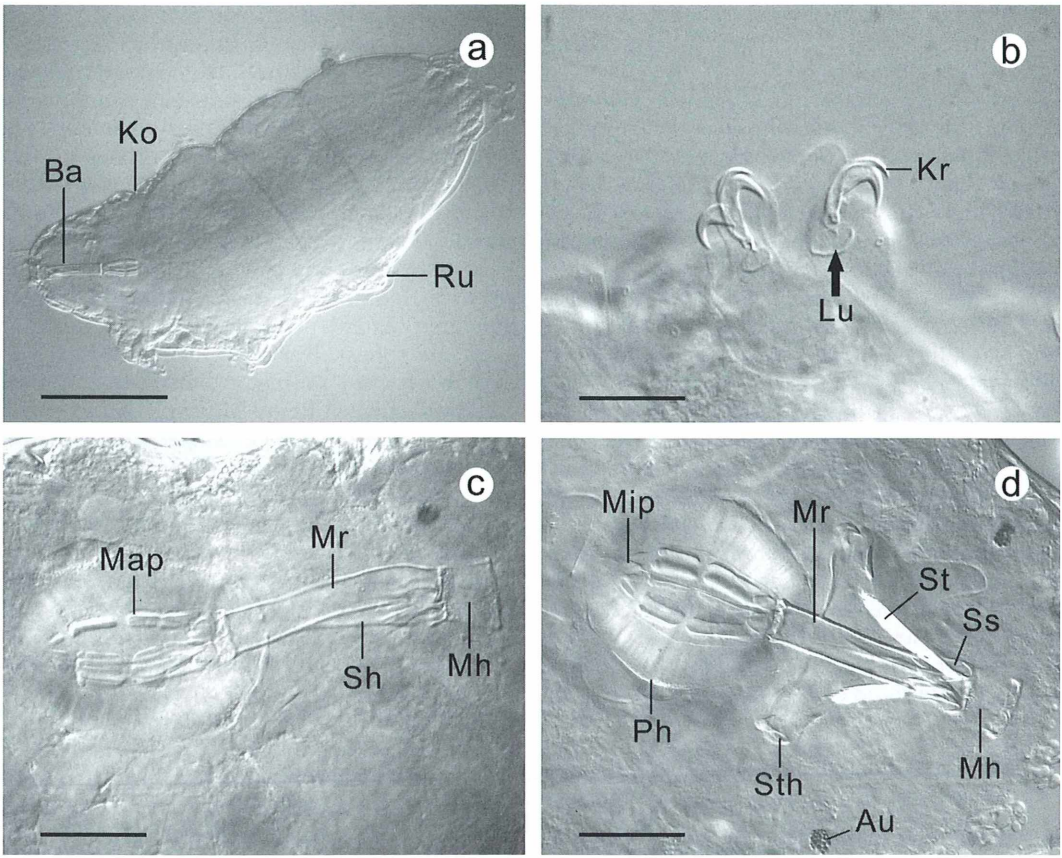


Abb. 3: ***Macrobiotus richtersi.*** **a Habitus, Ba Buccalapparat, Ko Kopf, Ru Rumpf, Maßstrich 100 µm; b Krallen (Kr) des 1.–4. Beinpaares mit Haftlappen bzw. Lunulus (Lu) an der Basis, Maßstrich 25 µm; c Buccalapparat (Seitenansicht), Map Makroplacoid, Mh Mundhöhle, Mr Mundrohr, Sh Scheidenhalter, Maßstrich 25 µm; d Buccalapparat (Bauchansicht), Au Auge, Mh Mundhöhle, Mip Mikroplacoid, Mr Mundrohr, Ph Pharynx, Ss Stilettscheide, St Stilett, Sth Stiletthalter, Maßstrich 25 µm (DIK).**

fest miteinander verbunden. *I. prosostomus* (Abb. 1h und 3a) ist eine kleine, durchsichtige Art, die eine Körperlänge von 270–470 µm erreicht. Kleine schwarze Augen sind gewöhnlich vorhanden. Kopf- oder Körperanhänge fehlen. Die Kutikula des Körpers ist meist glatt, bei einigen Exemplaren jedoch leicht rau und mit Granulae besetzt. Die Mundröhre ist nur wenig erweitert und die inneren Wände des ovalen Schlundmuskels oder Pharynx tragen drei Reihen runder und gleichförmiger Makroplacoide und eine Reihe winziger Mikroplacoiden (Abb. 4b). Die beiden ersten Reihen Makroplacoide stehen eng zusammen, die dritte Reihe folgt mit Abstand. Bis auf die eine Doppelkralle des letzten Beinpaares sind alle Krallen nur leicht asymmetrisch ausgebildet, wobei die Hauptkralle nur leicht länger ist als die Nebenkralle (Abb. 1j). Die Krallenbasen sind wenig ausgedehnt und ohne Haftlappen. Ein unverwechselbares Merkmal ist ein ovaler kutikularer Balken neben der kleineren der beiden Doppelkrallen an den ersten drei Beinpaaren (Abb. 1j). Die ovalen Eier sind glattschalig und werden in der alten Exuvie zurückgelassen (Abb. 4e, f). Ihre Anzahl schwankt stark und kann bis zu 13 Stück betragen (Ramazzotti und Maucci, 1983). Es handelt sich um eine in Europa sehr häufige und weit verbreitete Süßwasserart, die regelmäßig in untergetauchten aquatischen bis feuchten terrestrischen Moosen gefunden wird.

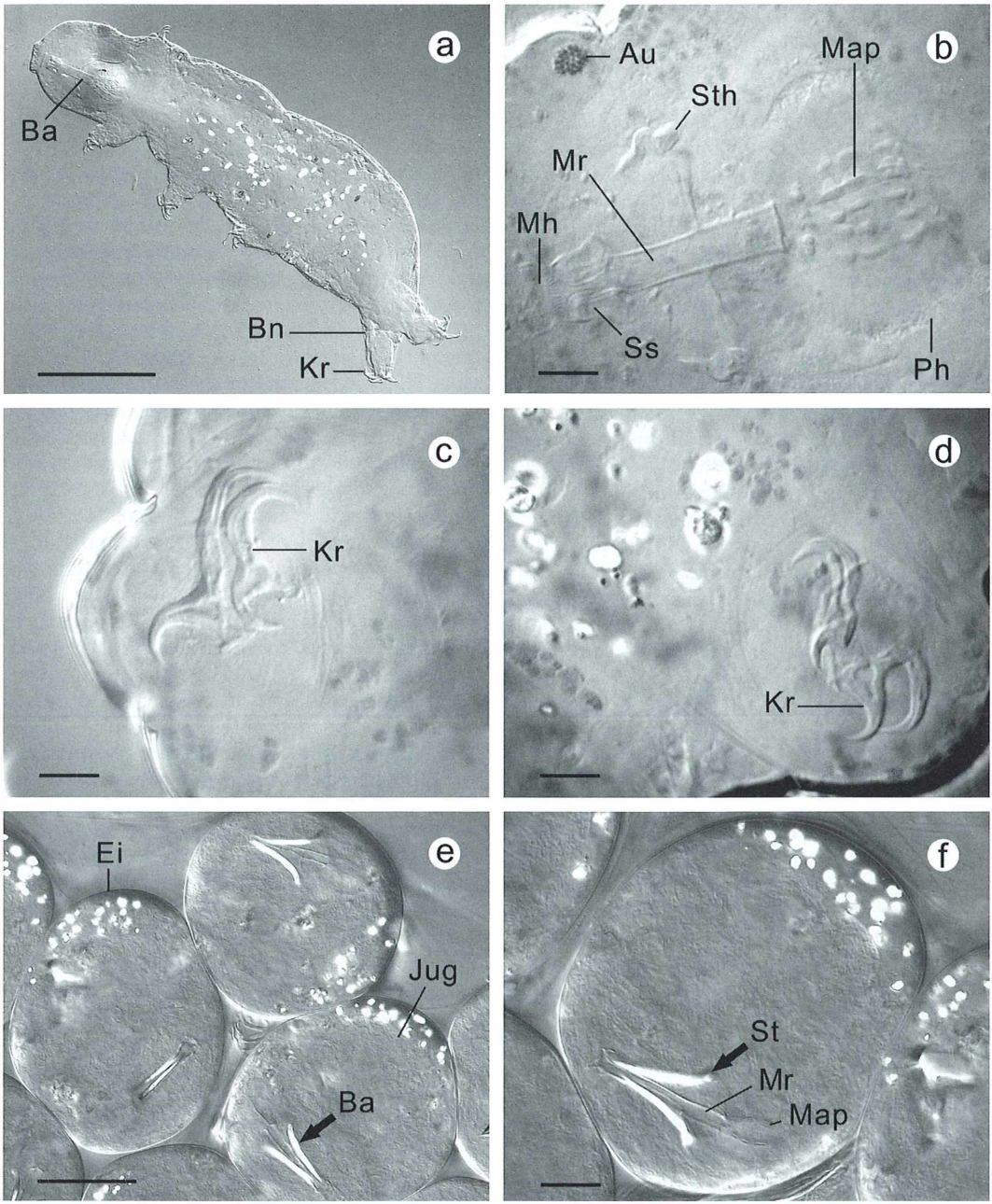


Abb. 4: *Isohypsibius prosostomus.* a Habitus, Ba Buccalapparat, Bn Bein, Kr Kralle, Maßstrich 100 µm; b Buccalapparat (Bauchansicht), Au Auge, Map Makroplacoiden, Mh Mundhöhle, Mr Mundrohr, Ph Pharynx, Ss Stilettscheide, Sth Stiletthalter, Maßstrich 10 µm; c stark asymmetrische Krallen (Kr) des 4. Beinpaares, Maßstrich 10 µm; d mehr symmetrische Krallen (Kr) des 1.–3. Beinpaares, Maßstrich 10 µm; e Exuvie mit glattschaligen Eiern (Ei), die Buccalapparate (Ba) der Jungtiere (Jug) sind bereits in den Eiern erkennbar, Maßstrich 25 µm; f Ei mit sich entwickelndem Jungtier, gut sichtbar sind die Stilette (St), das Mundrohr (Mr) und die Makroplacoiden (Map) des Pharynx, Maßstrich 10 µm (DIK).

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

Herkunft der Grundwasser-Bärtierchen von Norderney

Da bisher von keinen dauerhaft Grundwasser bewohnenden Bärtierchen berichtet wurde, ist es schwierig, ihr Vorkommen im Grundwasser von Norderney zu interpretieren. Eine mögliche Erklärung wäre, dass es sich bei den auf Norderney gefundenen Bärtierchen um Moos- oder Teichbewohner handelt, die bei Regen aus den Sümpfen und Moosrasen der Dünen ausgewaschen und ins Grundwasser gespült werden. Der durchlässige Sand der Insel ermöglicht anscheinend ein rasches Versickern der Niederschläge. Es wurden in dem eintreffenden Wasser im Wasserwerk noch grüne Pflanzenteile und lebende Tiere gefunden, überwiegend Bär- aber auch sehr viele Rädertierchen, die potentielle Teich- und Moosbewohner sind. Dies lässt auf eine enge räumliche und kurzfristige Verbindung zwischen der Inseloberfläche und der Süßwasserlinse schließen. Um diesen Verdacht auszuschließen oder zu bestätigen, wurden die Untersuchungen auch auf die Moose der Sekundär- (Grau-) und Tertiärdünen (Braundünen) sowie der Kleingewässer in den Dünentälern ausgedehnt.

Untersuchung der Moose aus feuchten Dünentälern und von trockenen Dünenkämmen

Charakteristisch für Inseln wie Norderney sind die flächigen Moosüberzüge der Dünen in Verbindung mit den durchlässigen Dünensanden und der Oberflächennähe der Grundwasserlinsen. Neben den immer wieder austrocknenden Moosen der Dünenkämme finden sich auch Nässe liebende Moose in den sumpfig bis moorig geprägten Dünentälern, die durch Ausblasung von Winden bis auf das Grundwasserniveau entstanden sind. Durch die fortwährenden Bemühungen, die Ostfriesischen Inseln dauerhaft zu befestigen, hat sich der Anteil von Grau- und Braundünen stark erhöht. Diese Dünenformationen haben eine geschlossene Vegetationsdecke mit einem hohen Anteil an Moosen. Das Arteninventar der Moose untersuchte Klinger (1980) und stellte dabei fest, dass sich allein auf Norderney 92 Laubmoosarten nachweisen ließen. Generell ist die Anzahl der Moosarten über die Jahre und mit der fortschreitenden Sukzession der Dünenvegetation gestiegen. Im Schutze der Kleingrasrasen der Graudünen dringen Pionierarten wie *Tortula ruralis* (*ruraliformis*) oder *Racomitrium canescens* ein und tragen wesentlich zur Humus- und Bodenbildung der Dünen bei (Ellenberg, 1996). Die Laubmoose bilden in vielen Bereichen der Dünenvegetation geschlossene Polster, die bis zu 100% Bodenabdeckung erreichen. Diese flächigen Moosüberzüge sind ein semiaqatischer Lebensraum, der ideal für mikroskopische Wirbellose ist, die eine Austrocknungsresistenz besitzen. Dies gilt vor allem für Bärtierchen und Rädertierchen, die durch ihre Fähigkeit zur Trockenstarre (Anabiose) auch die niederschlagsarmen Sommermonate überleben, wenn die Moose austrocknen. In den Monaten mit reichlichen Niederschlägen leben im Moos massenhaft Rädertierchen und Bärtierchen. Dann kann 1 g Moos 500 bis 22.000 Individuen enthalten (Gruner, 1993).

Die große Anzahl von Bärtierchen und Rädertierchen in dem ankommenden Wasser und den Filterstufen der Wasserwerke war ausschlaggebend, ebenfalls die Moose zu untersuchen. Deswegen wurden rund um die Förderbrunnen und in den feuchten Dünentälern stichprobenartig Moose entnommen. Folgende Moosarten waren an den beprobten Standorten häufig und bildeten dort dichte Rasen: *Scleropodium purum*, *Rhytidiadelphus squarrosus* und *Dicranum scoparium* (bestimmt mit Landwehr, 1966). In den Moosen aus den Dünentälern wurde das gesamte Artenspektrum kleiner Wirbelloser nachgewiesen, das sowohl in temporären als auch in permanenten Stillgewässern vorkommt. Es wurde mit den Arten verglichen, die aus dem hereinkommenden Wasser und den Filterrückspülungen stammten (Gad, 2003).

Die Auswertung bestätigt die Vermutung, dass bei Niederschlägen Rädertierchen und Bärtierchen anscheinend ins Grundwasser gespült werden. Im Grundwasser sind etwa 60 Arten von Rädertierchen sicher nachgewiesen worden, davon etwa 15 Arten in Deutschland. Die meisten sind vermutlich stygophil. Dies sagt nicht besonders viel aus, da bisher kaum gezielte Untersuchungen zum Vorkommen von Rädertierchen im Grundwasser vorgenommen wurden. Das bedeutet, dass nur ein sehr geringer Teil der in Deutschland im Grundwasserbereich lebenden Arten überhaupt entdeckt wurde (Ahlrichs, im Druck). Die auf Norderney vorgefundenen Rädertierchen gehören jedoch ausnahmslos zu Arten, die Moosrasen

und Gewässer bewohnen. Potentielle Grundwasserbewohner waren nicht dabei. Diejenigen, die in den Moosen und gleichzeitig auch in den Wasserwerken nachgewiesen wurden, sind in Abbildung 5 dargestellt. Allgemeine Angaben zur Häufigkeit der Tiere in den Proben sagen wenig aus, denn bei heftigen Niederschlägen werden vermehrt Tiere aus den Moosen ausgewaschen und landen mit einiger Verspätung in den Wasserwerken.

In den Moosen wurden erwartungsgemäß sehr viele Bärtierchen gefunden; es waren Exemplare von *I. prosostomus* darunter (Abb. 3a stammt von einem Exemplar aus den Dünen-Moosen), aber keine von *M. richtersi* oder *T. stephaniae*. Dafür war eine andere *Macrobiotus*-Art, nämlich *M. hufelandi*, häufig in den Moosen anzutreffen, die im Grundwasser nicht nachzuweisen war. Entscheidend an diesem Ergebnis war vor allem, dass *T. stephaniae* nicht in den Moosen vorkam. Für die Besiedlung der Moosrasen in den Dünen müssen die dort lebenden Bärtierchen die Fähigkeit zur Tönnchenbildung besitzen, da die Moose während der Sommermonate komplett austrocknen.

Sind Thulinia stephaniae und Macrobiotus richtersi echte Grundwasserbewohner?

So tolerant Bärtierchen in der Regel gegenüber vielen Umwelteinflüssen wie beispielsweise Hitze oder Salzwasser sind, so empfindlich reagieren sie im Allgemeinen auf Sauerstoffmangel, der unter anderem auch die Tönnchen-

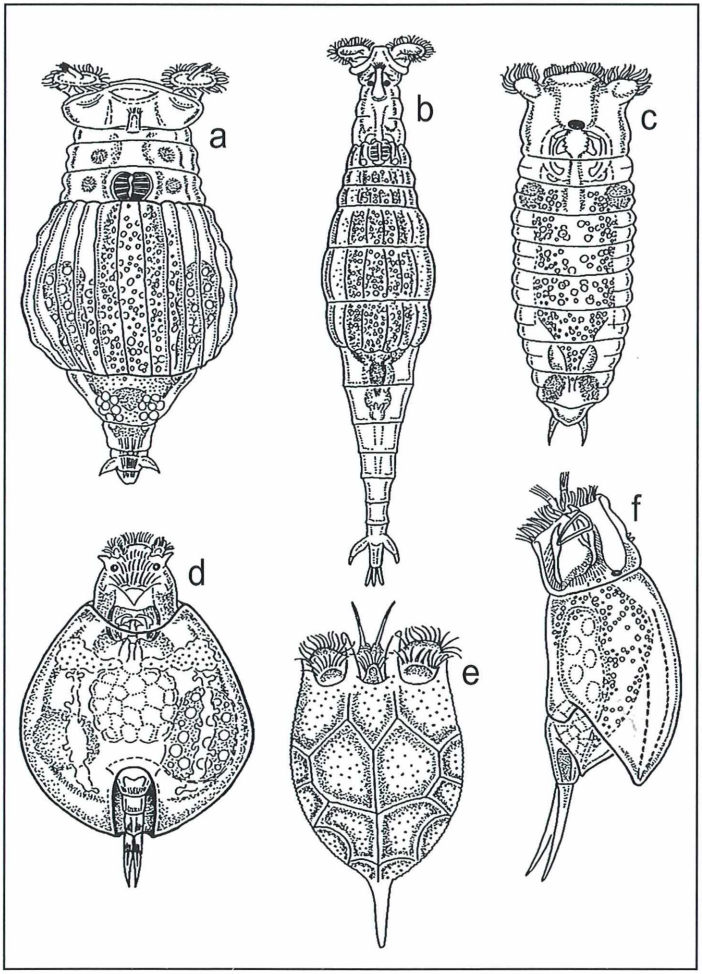


Abb. 5: Rotifera, die ergänzend zu den Bärtierchen in Moosen und den Wasserwerken auf Norderney gleichermaßen nachgewiesen wurden. a *Mniobia magna* (Körperlänge 650 µm); b *Rotaria rotatoria* (Körperlänge 1.000 µm); c *Taphrocampa slenura* (Körperlänge 250 µm); d *Lepadella patella* (Körperlänge 100 µm); e *Keratella cochlearis* (Körperlänge 300 µm); f *Cephalodella* spec. (Körperlänge 450 µm).

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

oder Zystenbildung auslöst (Marcus, 1929). Diese physiologische Tatsache könnte die Barriere sein, die verhindert, dass Bärtierchen generell ins Grundwasser einwandern. Es stellt sich die Frage, ob *T. stephaniae* und vielleicht auch *M. richtersi* tatsächlich die Grundwasserlinse besiedeln, denn der Sauerstoffgehalt in dem Grundwasser, das aus dem Gelände in den Wasserwerken auf Norderney ankommt, ist niedrig. Er schwankt zwischen 0,2 und 1,8 mg/l O_2 und ist damit im suboxischen Bereich. Diese niedrigen Sauerstoffwerte werden von den im hereinkommenden Wasser anzutreffenden Tieren anscheinend toleriert. Da *T. stephaniae* unter diesen Bedingungen aktiv und munter ist, deutet dies auf eine in der Fachliteratur bisher nicht bestätigte Toleranz gegenüber geringem Sauerstoffgehalt hin. Während des Prozesses der Schwefelwasserstoffentgasung steigt in den Filterstufen der Sauerstoffgehalt des Wassers auf den Wert des Trinkwassers von rund 10 mg/l, ein für die Tiere wesentlich günstigerer Bereich, was das Vorkommen vieler Tiere in den Rohrleitungen und den Filtern erklärt. Es könnte generell so sein, dass die resistenten Vermehrungsstadien eine Grundwasserpassage durchmachen und nicht die empfindlichen erwachsenen Bärtierchen, die danach in den Wasserwerken Populationen bilden. Wäre dies der Fall, dann sollten auch die Moos bewohnenden Bärtierchen in der Lage sein, die Filter zu besiedeln, denn ihre Exuvien samt Eiern tauchen ja, wie im Falle von *I. prosostomus*, vereinzelt in den Wasserwerkproben auf, lebende Tiere jedoch nicht. Der letzte Einwand könnte dadurch entkräftet werden, dass *T. stephaniae* in den Filtern Nahrung findet, die von den anderen Arten nicht in diesem Maße genutzt wird. So soll *T. stephaniae* sich von Pilzhyphen ernähren; diese finden sich überreichlich im Grundwasser, denn aufgrund des niedrigen pH-Wertes sind dort fast alle organischen Flocken verpilzt. Über die Ernährung der einzelnen Arten liegen jedoch nicht genügend Informationen vor, um dies abschließend beurteilen zu können. Ein deutlicher Hinweis darauf, dass *T. stephaniae* dauerhaft in das Grundwasser eingewandert ist, ergibt sich aus der guten allgemeinen Verfassung der einzelnen Tiere und dem hohen Anteil an ihren Vermehrungsstadien. Wenn sich Süßwasser-Bärtierchen wie *T. stephaniae* in einem ungünstigen Habitat befinden, dann bilden sie angeblich Kümmerformen aus.

Wichtig ist an dieser Stelle zu erwähnen, dass die Entdeckung von Bärtierchen im Grundwasser von Norderney mit Ergebnissen im Einklang steht, die gleichzeitig anderenorts gemacht wurden. So beschrieb Bertolani (2002), während die Untersuchungen auf Norderney gemacht wurden, leicht abweichende subterrane Formen von *M. richtersi* aus Spanien, die in Karsthöhlen und im Grundwasser vorkommen. Diese interstitiellen beziehungsweise subterranen Populationen von *M. richtersi* sollen etwas kleiner sein und weder Augen noch Kopf- oder Körperanhänge besitzen. Von den anderen *Thulinia*-Arten wie zum Beispiel von *T. ruffoi* ist bekannt, dass sie in Europa und Nordamerika oft in Höhlen oder im oberflächennahen Grundwasser vorkommen (Bertolani, 2002; Ramazzotti und Maucci, 1983). In Nordamerika wurde auch nachgewiesen, dass sich *T. ruffoi* im Grundwasser vermehrt (Strayer et al., 1994). Es ist davon auszugehen, dass sich *T. stephaniae* bei der Wahl des Lebensraumes ähnlich verhält wie *T. ruffoi*, denn als die wenigen bisher bekannten Fundorte werden immer wieder ausdrücklich Quellen erwähnt (Bertolani, 1981, Bertolani et al., 1994). Es ist eine häufig wiederkehrende Beobachtung, dass Grundwassertiere gerade über Quellen immer wieder an die Oberfläche gelangen.

Wie kam Thulinia stephaniae auf die Insel und ins Grundwasser?

Abschließend gilt es zu erörtern, wie *T. stephaniae* auf die Insel Norderney gelangt sein könnte und es schaffte, dort erfolgreich ins Grundwasser einzuwandern. Hilfreich bei der Ausbreitung ist sicherlich, dass viele Arten der Eutardigrada vergleichsweise salzresistent sind, einige Arten vertragen sogar dauerhaft Brackwasser. Es soll Fälle geben, in denen Brackwasserarten sekundär ins Süßwasser eingewandert sind, und umgekehrte Fälle, in denen Süßwasserarten ins Brackwasser übergewechselt sind. Letztere verfügen über extrem vergrößerte Exkretionsorgane zur Osmoregulation (Greven, 1996). Somit dürften auch obligate Süßwasserbewohner eine gewisse Resistenz gegenüber Salzwasser haben, wie es für etliche Moos bewohnende Arten schon mehrfach nachgewiesen wurde (Marcus, 1929).

Als geeigneter Lebensraum für *T. stephaniae* auf der Oberfläche von Norderney kommen

Quellsümpfe in Frage, die durch die Entwässerung der Süßwasserlinse an den Sohlen der Insel entstehen. In diesen Bereichen bilden sich *Phragmites*-Bestände (Hobohm, 1993). Über dieses Biotop könnte sich *T. stephaniae* über die Insel verbreitet haben und schließlich ins Grundwasser eingewandert sein. Eine Suche in den Quellsümpfen mit *Phragmites*-Beständen erbrachte jedoch bisher keinen Nachweis. Vermutlich schafft erst die Trinkwasserförderung auf den Inseln die Lebensräume im Grundwasser, die auch in tieferen Schichten von stygobionten Bärtierchen besiedelt werden können. Denn es ist davon auszugehen, dass in der Süßwasserlinse unter natürlichen Bedingungen nur das oberflächennahe Grundwasser in Bewegung ist und am Rand ins Meer abfließt. Der übrige Grundwasserkörper bleibt unbewegt. Die kontinuierliche Förderung aus den vielen Brunnen schafft auch in den tieferen, grobporigen Sandschichten der Insel Norderney einen stetigen Fluss des Grundwassers und damit einen Austausch mit Oberflächenwasser. Es lässt sich nur spekulieren, wie *T. stephaniae* die Insel Norderney erreicht hat. Die resistenten Eier können von Vögeln, die auf ihrem Zug Quellen aufgesucht haben, nach Norderney verschleppt worden sein. Viele Bärtierchen sind sehr weit verbreitet, etliche sogar Kosmopoliten. Der Grund dafür ist sicherlich, dass unter anderem Winde die obere Bodenschicht samt ihrer Bewohner über weite Distanzen verbreiten, da sie durch Stürme abgetragen und in große Höhen verfrachtet wird. In diesem so genannten Luftplankton werden praktisch alle Bodentiere und ihre Verbreitungsstadien gefunden. Entscheidend für die erfolgreiche Besiedelung der Grundwasserlinse auf Norderney ist also weniger die Frage, wie eine Verfrachtung auf die Insel stattfand, sondern es musste vor allem ein Lebensraum vorhanden sein, der eine zufällige Besiedlung ermöglicht.

Danksagung

Für die Hilfsbereitschaft und Unterstützung meiner Arbeit vor Ort danke ich dem Wassermeister Herrn O. Rass (Norderney). Mein besonderer Dank gilt meinem Kollegen Herrn Dr. T. Glatzel für seine aktive Teilnahme und Hilfestellung an der durchgeführten Untersuchung der Grundwasserfauna. Herrn Prof. Dr. H. K. Schminke und Ole Riemann danke ich für die kritischen Anmerkungen zu diesem Beitrag. Für die Hilfe bei der Bestimmung der Bärtierchen danke ich Herrn Prof. Dr. R. M. Kristensen (Zoologisches Museum, Kopenhagen) und für die der Moose Herrn Dr. Cord Peppler-Lisbach (Universität Oldenburg).

Literaturhinweise

Ahlrichs, W.: Rotifera (Rädertiere), Kapitel 14. In: Schminke, H. K. (Hrsg.): Bestimmungswerk für die deutsche Grundwasserfauna (im Druck).

Bertolani, R.: A new genus and five new species of Italian fresh-water tardigrades. Bollettino del Museo Civico di Storia Naturale di Verona *8*, 249–254 (1981).

Bertolani, R.: Tardigradi (Tardigrada). Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. Quaderni CNR, AQ/1/168 *15*, 1–104 (1982).

Bertolani, R.: First report of tardigrades within hypogeal caves. Bollettino delle sedute della Accademia Gioenia di Scienze Naturali, Catania *(35) 361*, 649–654 (2002).

Bertolani, R., Manicardi, G. C., Rebecchi, L.: Faunistic study in the karst complex of Frasassi (Genga, Italy). International Journal of Speleology *32*, 61–77 (1994).

Bertolani, R., Marley, N. J., Nelson, D. R.: Re-description of the genus *Thulinia* (Eutardigrada: Hypsibiidae) and of *Thulinia augusti* (Murray, 1907) comb. n. Zoologischer Anzeiger *238*, 139–145 (1999).

Chappuis, P. A.: Eine neue Methode zur Untersuchung der Grundwasserfauna. Acta Universitatis Lundensis; Medica, mathematica, scientiae rerum naturalium *6*, 3–7 (1942).

Eder, R.: Beiträge zur Kenntnis der interstitiellen Nematodenfauna am Beispiel eines Schotterkörpers der Donau bei Fischamend. Dissertation, Universität Wien 1980.

Ellenberg, H.: Vegetation Mitteleuropas mit den Alpen in ökologischer, dynamischer und historischer Sicht. 5. Auflage, Ulmer Verlag, Stuttgart 1996.

Gad, G.: Kapitel VI – Grundwasserfauna. In: Peters, J., Pott, R., Janiesch, P., Wolff, J. (Hrsg.): Umweltverträgliche Grundwasserbewirtschaftung in hydrogeologisch und ökologisch sensiblen Bereichen der Nordseeküste. Husum Druck- und Verlagsgesellschaft 2003.

Gad, G.: Tardigrada (Bärtierchen), Kapitel 9. In: Schminke, H. K. (Hrsg.): Bestimmungswerk für die deutsche Grundwasserfauna (im Druck).

Glatzel, T.: Die Grundwasserfauna Nordwest-Niedersachsens sowie Untersuchungen zur Morphologie und Biologie an Vertretern der Chappuisiidae und Parastenocarididae (Copepoda, Harpacticoida). Dissertation, Universität Oldenburg 1989.

Greven, H.: Die Bärtierchen. Die Neue Brehm-Bücherei, Bd. 537. Ziemsen Verlag, Wittenberg Lutherstadt 1980.

Greven, H.: Tardigrada. In: Westheide, W., Rieger, R. (Hrsg.): Spezielle Zoologie – Einzeller und Wirbellose Tiere. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1996.

Guidetti, R., Bertolani, R.: The tardigrades of Emilia (Italy), III. Piane di Mocogno (Northern Apennines). Zoologischer Anzeiger *240*, 377–383 (2001).

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

Hobohm, C.: Die Pflanzengesellschaften von Norderney. Niedersächsisches Landesamt für Ökologie (Hrsg.), Arbeiten aus der Forschungsstelle Küste *12*, 1–202 (1993).
Husmann, S.: Untersuchungen über die Grundwasserfauna zwischen Harz und Weser. Archiv für Hydrobiologie *52*, 1–184 (1956).
Husmann, S.: Die Besiedlung des Grundwassers im südlichen Niedersachsen. Beiträge Naturkunde Niedersachsen *10*, 87–96 (1957).
Husmann, S.: Ökologische und verbreitungsgeschichtliche Studien über limnische Grundwassertiere aus dem künstlichen Mesopsammal der Helgoländer Düneninsel. Archiv für Hydrobiologie *58*, 405–422 (1962).
Husmann, S.: Die Bedeutung der Grundwasserfauna für biologische Reinigungsvorgänge im Interstitial von Lockergesteinen. gwf-wasser/abwasser *119*, 393–302 (1978).
Karaman, S. T.: Die Fauna der unterirdischen Gewässer Jugoslawiens. Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie *7*, 46–73 (1935).
Kinchin, M.: The biology of tardigrades. Portland Press, London 1994.
Klinger, P. U.: Zur Verbreitung und Ausbreitung der Moose auf den Ostfriesischen Inseln. Drosera *80*, 1–12 (1980).
Landwehr, J.: Atlas van de Nederlandse Bladmossen. Koninklijke Nederlandse Natuurhistorische Vereniging, Amsterdam 1966.
Marcus, E.: Bärtierchen (Tardigrada). In: Bronn, H. G. (Hrsg.): Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs. Band 5, Abteilung 4, Buch 3, Akademischer Verlag, Leipzig 1929.
Moritz, M.: Tardigrada. In: Gruner, H.-E. (Hrsg.): Lehrbuch der Speziellen Zoologie, Wirbellose Tiere, 3. Teil: Mollusca, Sipunculida, Echiurida, Annelida, Onychophora, Tardigrada, Pentastomida. 5. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Jena 1993.
Murray, J.: Scottish Tardigrada, collected by the Lake Survey. Transaction of the Royal Society of Edinburgh *45*, 641–668 (1907).
Noll, W., Stammer, H.: Die Grundwasserfauna des Untermaingebietes von Hanau bis Würzburg mit Einschluß des Spessarts. Mitteilungen des Naturwissenschaftlichen Museums der Stadt Aschaffenburg 6, 1–77 (1953).
Pilato, G.: Tardigradi delle acque dolci siciliane, Nota prima. Bollettino delle sedute della Accademia Gioenia di Scienze Naturali, Catania *11*, 126–134 (1971).
Pilato, G.: Structure, intraspecific variability and systematic value of the buccal armature of eutardigrades. Zeitschrift für Zoologische Systematik und Evolutionsforschung *10*, 65–78 (1972).
Pilato, G., Catanzaro, R., Binda, M. G.: Tardigradi delle acque dolci siciliane, V Nota. Animalia *16*, 121–130 (1989).
Preuß, G., Schminke, H. K.: Lebensraum Grundwasser. In: Koschitzky, H.-P., Keim, B.: Grundwasser. Schriftenreihe der Vereinigung Deutscher Gewässerschutz *59*, 16–18, Bonn 2004.
Ramazzotti, G.: Tardigrada. In: Illies, J. (Hrsg.): Limnofauna Europaea. G. Fischer Verlag, Stuttgart 1978.
Ramazzotti, G., Maucci, W.: Il Philum Tardigrada, II edizione riveduta e aggiornata. Memorie dell' Istituto Italiano di Idrobiologia, Verbania Pallanza 1983.
Remane, A.: Das Vordringen limnischer Tierarten in das Meeresgebiet der Nord- und Ostsee. Kieler Meeresforschung *7*, 5–23 (1950).
Rumm, P.: Untersuchungen zum Abbau partikulärer organischer Substanzen in einem Langsamsandfilter durch Metazoen am Beispiel von *Niphargus fontanus*. Dissertation, C. v. O. Universität Oldenburg (Elektronische Ressource) 1999.
Rumm, P., Schminke, H. K.: Bestimmungswerk für die deutsche Grundwasserfauna. K. A., Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall *47*, 1658–1663 (2000).
Schaefer, M.: Brohmer – Fauna von Deutschland. 18. Auflage, Quelle & Meyer Verlag, Heidelberg, Wiesbaden 1992.
Schminke, H. K.: Heinzelmännchen im Grundwasser. Biologie in unserer Zeit *27*, 182–188 (1997).
Schminke, H. K., Glatzel, T.: Besonderheiten und ökologische Rolle der Grundwassertiere. Zeitschrift der Deutschen Geologischen Gesellschaft *139*, 383–392 (1988).
Sindowski, K.-H.: Das ostfriesische Küstengebiet – Inseln, Watten und Marschen. Sammlung Geologischer Führer, Gwinner, M. P. (Hrsg.), G. Borntraeger Verlag, Berlin 1973.
Strayer, D., Nelson, D. R., O'Donnell, E.: Tardigrades from shallow groundwaters in Southeastern New York, with the first record of *Thulinia* from North America. Transactions of the American Microscopical Society *113*, 325–332 (1994).
Streif, H.: Das Ostfriesische Küstengebiet. Nordsee, Inseln, Watten und Marschen. Sammlung geologischer Führer Band 57, Berlin 1990.
Wright J. C., Westh, P., Ramlov, H.: Cryptobiosis in Tardigrada. Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society *67*, 1–29 (1992).

Verfasser: Dr. Gunnar Gad, Fakultät V (Mathematik und Naturwissenschaften), Institut für Biologie und Umweltwissenschaften, AG Zoosystematik und Morphologie, Carl von Ossietzky Universität Oldenburg, D-26111 Oldenburg,
e-mail: gunnar.gad@mail.uni-oldenburg.de

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

Mikro - Kids

Kristallklar

Lutz Hartmann

Nun, Kristalle gibt es viele. Wir kennen Bergkristalle, sprechen von Eiskristallen, Mineralien weisen eine Kristallstruktur auf, aber auch im Haushalt findet man sie.

Das Kochsalz ist ein Stoff, der für uns Menschen zum Leben genauso unentbehrlich ist wie die Atemluft. Ohne Kochsalz würde unser Essen ziemlich fade schmecken, es eignet sich aber nicht nur zum Würzen von Speisen. Auch für uns Mikroskopiker ist es interessant.

Woraus besteht Kochsalz?

Kochsalz ist ein chemischer Grundstoff. Es trägt deshalb auch eine chemische Bezeichnung: NaCl (Natriumchlorid). Es besteht aus den chemischen Elementen Natrium, einem Metall, und Chlor, einem Nichtmetall. Chlor ist normalerweise ein gasförmiger Stoff.
Kochsalz muss nun aber nicht etwa aus diesen beiden chemischen Grundstoffen extra hergestellt werden. Dieser Stoff ist auf der Erde gar nicht mal so selten vorhanden. Einerseits findet man Natriumchlorid im Meerwasser, aber auch aus Bergwerken oder Salzseen kann es gewonnen werden. Meerwasser enthält im Durchschnitt – das kann aber geringfügig auch unterschiedlich sein – 3% Kochsalz. Im Toten Meer allerdings liegt der Salzgehalt sogar bei 30%. Das hat zur Folge, dass die Dichte des Wassers so hoch ist, dass man dort beim Schwimmen nicht untergehen kann, man treibt wie ein Korken auf dem Wasser.
Die Bezeichnung Kochsalz ist übrigens etwas ungenau. Es handelt sich hierbei nämlich nicht um eine wissenschaftliche Bezeichnung. Wir sagen nur so, weil es eben auch zum Kochen in der Küche verwendet wird.
Ganz durchsichtig – so wie Glas – sind die Kristalle leider auch nicht immer. Woher kommt es aber, dass wir das Aussehen der Kristalle immer mit durchsichtig oder kristallklar verbinden? Ein Grund könnte sein, dass Beryll, ein kristallines Mineral, durchsichtig ist. Diese Eigenschaft nutzte man im Mittelalter sogar zur Herstellung von Linsen. Die Brille hat daher ihren Namen. Heute verwendet man für die Brillenherstellung natürlich keinen Beryll. Das wäre viel zu teuer. Glas konnte man damals aber noch nicht mit so klaren Eigenschaft wie heute herstellen.

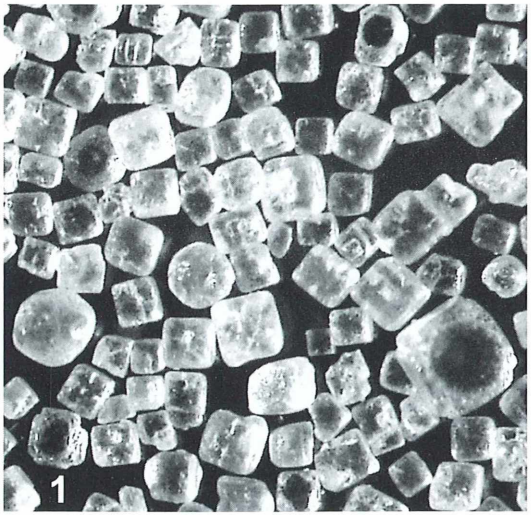
Kochsalz, ein kristalliner Stoff

Was unterscheidet nun einen kristallförmigen Stoff von einem anderen Material wie beispielsweise Eisenpulver. Das hängt mit der Anordnung der Atome, Moleküle und Ionen, also den Grundbausteinen eines Stoffes zusammen. Bei einem Kristall sind diese nämlich besonders regelmäßig angeordnet. Kristalle verschiedener Stoffe haben also immer ein ganz bestimmtes Aussehen, das durch ihre Zusammensetzung bestimmt wird. So sind die Kristalle von Kochsalz würfelförmig, andere Kristalle wiederum können ganz anders aussehen. Manchmal unterscheiden sich sogar die Formen ein und desselben Stoffes geringfügig. Dies liegt oft an Verunreinigungen.
Und wie sieht nun ein Kochsalzkristall sonst noch aus. Nun gut, ganz durchsichtig ist Kochsalz nicht, es schimmert weißlich. Was kann man aber mit diesem Kochsalz unter unserem Mikroskop anfangen?

Kochsalz unter dem Mikroskop

Kochsalz gibt es in jedem Haushalt. Wir greifen also zum Salzstreuer und geben ein paar Kristalle hiervon auf einen Objektträger. Nun, das war es schon, keine Schnitte oder sonstige Vorbereitungen sind nötig. Vorsichtig legen wir

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



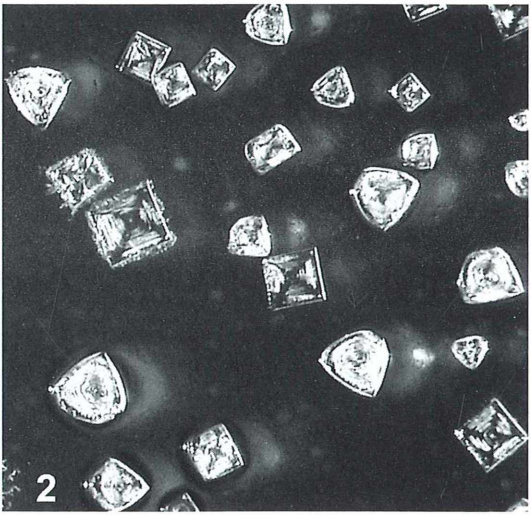


Abb. 1: Salzkristalle aus dem Salzstreuer mit abgerundeten Kanten, teilweise kugelförmig. – Abb. 2: Frisch auskristallisierte Kochsalzkristalle mit typisch würfelförmigem Aussehen (Fotos: Klaus Hausmann, Berlin).

nun zunächst den Objektträger unter ein Stereomikroskop und betrachten die kleinen Kristalle. Hierbei kann man unterschiedliche Vergrößerungen wählen. Oh Schreck, was ist nur mit unserem Kochsalz los?

Regelmäßig sollen diese Kristalle aussehen? Von wegen! Das sieht ja nicht anders aus als mehrere Körnchen Zucker oder sonst was (Abb. 1). Was hat man uns denn hier bloß verkauft? Soll das wirklich Kochsalz sein. Wir können uns aber schnell davon überzeugen, indem wir einige Körnchen kosten. Ziemlich salzig. Also es muss wohl doch Kochsalz sein. Was stimmt aber hier nicht? Geben wir doch einfach mal einen Tropfen Leitungswasser auf die Körnchen und verrühren sie ein wenig auf dem Objektträger. Jetzt legen wir unseren Objektträger unter unser Durchlichtmikroskop. Was ist das denn? Nichts ist mehr zu sehen, nur noch reines Wasser.

Und doch kann das Salz ja nicht verschwunden sein. Mal zwischendurch ein wenig Chemie. Es handelt sich, wenn man Salz in Wasser löst, wie die Chemiker sagen, um ein Gemisch. Da uns die Salzlösung aber wie ein einheitlicher Stoff erscheint, deren Bestandteile man selbst mit einem Mikroskop nicht unterscheiden kann, bezeichnet man diesen Stoff als ein homogenes (einheitliches) Gemisch. Ein neuer Stoff ist nicht entstanden, da Salz mit dem Wasser keine neue chemische Verbindung eingegangen ist. Das Wasser auf dem Objektträger schmeckt nach wie vor salzig.

Was können wir aber tun, um das Salz wieder sichtbar zu machen? Eigentlich nichts. Wir brauchen nur ein wenig Geduld. Die Glühlampe der Mikroskopbeleuchtung erwärmt nämlich den Objektträger. Bei manchen Untersuchungen ist das nicht gerade gewollt, aber hier passt es prima. Wenn wir nach einer Weile wieder ins Mikroskop schauen, sehen wir, dass das Wasser langsam verdunstet. Aber eben nur das Wasser. Und siehe da, langsam kommt unser Kochsalz wieder zum Vorschein. Jetzt können wir deutlich erkennen, dass sich tatsächlich würfelförmige Kristalle herausbilden (Abb. 2).

Was war aber zunächst mit unserer Probe los? Die Erklärung ist einfach. In Bergwerken wird Kochsalz beispielsweise in ziemlich grober Form abgebaut. Für einen Salzstreuer würde das sicher nichts taugen. Es wird also fein gemahlen. Dass hierbei die würfelförmige Kristallstruktur verloren geht, ist zu verstehen. Wenn wir das Kochsalz aus dem Salzstreuer jedoch in Wasser lösen, wie auf dem Objektträger geschehen, kann es später wieder seine ursprüngliche Kristallstruktur annehmen.

Verfasser: Lutz Hartmann, Brandtstr. 8, D-13467 Berlin

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

Gitterkonstanten von Diatomeen

Hinrich Husemann

Kürzlich berichtete der Autor (Husemann, 2005a und b) über die Bestimmung der Numerischen Apertur von Mikroskopobjektiven mittels Beugung an Gittern bekannter Periodizität in direkter Anwendung der Abbe'schen Theorie. In gleicher Weise lassen sich umgekehrt mit Objektiven gegebener Numerischer Apertur auch Gitterkonstanten ermitteln. Als biologische Untersuchungsobjekte bieten sich zum Beispiel die periodischen Strukturen vieler Diatomeen-Arten an, die zum Vergleich auch konventionell mit dem Okularmikrometer zu messen sind.

Die Kieselsäureschalen vieler Diatomeen enthalten mehr oder weniger streng periodisch angeordnete Strukturelemente (z.B. Streifen oder Poren), die zusammen optisch wie Beugungsgitter wirken. Ihre geometrische Anordnung und die zugehörigen Gitterkonstanten sind artspezifisch und können deshalb auch zur Beschreibung der verschiedenen Arten von Interesse sein. Sie unterliegen aber – auch innerhalb eines Gittersystems – einer natürlichen Schwankungsbreite, was bei der hier benutzten Fraunhofer-Beugung zu weniger klaren Beugungsfiguren als bei streng periodischen Gittern führen und deren Bestimmung damit erschweren kann. Bezüglich der theoretischen Grundlagen des Verfahrens, der Literatur sowie der praktischen Durchführung sei auf die oben zitierten Artikel verwiesen.

Durch die Beugungsmethode wird aber – bezogen auf ein konventionelles Okularmikrometer – der Messbereich im Prinzip nicht nach unten erweitert. Die Beugungsfigur in der hinteren Brennebene des Objektivs resultiert aus der Beugung der (beleuchtenden) ebenen Wellenfronten am Objekt und Selektion der Beugungsmaxima durch die Aperturblende. Das im Okular sichtbare Bild ergibt sich dann aus der Interferenz der von dort weiterlaufenden Wellen. Beide enthalten also die gleiche Information über das Objekt, nur unterschiedlich verschlüsselt. Mathematisch ausgedrückt geht das reelle Bild durch so genannte Fourier-Transformation aus der Beugungsfigur hervor. Diese entsteht wieder durch Fourier-Transformation aus dem Objekt; die hintere Brennebene des Objektivs heißt deshalb auch Fourier-Ebene.

Beide lichtoptische Verfahren sind durch das Auflösungsvermögen des Objektivs – und damit durch die Wellenlänge des Lichtes – gleichermaßen begrenzt. Nahe der Auflösungsgrenze – das trifft für viele der hier interessierenden Strukturen zu – nimmt die Objektähnlichkeit der Abbildungen aber stark ab. Hier liegt die Stärke der elektronenoptischen Verfahren, speziell der Rasterelektronenmikroskopie (REM) mit ihrer großen Tiefenschärfe. Sie sind aber dem Amateur im Allgemeinen kaum zugänglich.

Methodik

Die Anwendung eines Okularmikrometers ist vielfach, unter anderem bei Göke (1988), ausführlich beschrieben und wird deshalb als bekannt vorausgesetzt. Zur Kalibrierung, die dabei für jedes Objektiv durchzuführen ist, wird ein Objektmikrometer benötigt. Die Vermessung sehr feiner periodischer Strukturen nahe der Auflösungsgrenze, wie sie hier oft vorliegen, erfordert hohe Übervergrößerungen – beispielsweise mit einem Optovar 2× und stärkeren Okularen wie 15× –, sonst lassen sich gerade noch aufgelöste identische Punkt- oder Streifenreihen über ein ausreichend langes Messintervall kaum abzählen. Bei dem angespannten Sehen verliert man wegen der Nicht-Unterscheidbarkeit von seinen Nachbarn den jeweils letzten Zählpunkt sehr leicht aus dem Auge und findet ihn nicht wieder (der Verfasser schließt dabei kühn von sich auf andere). Hilfreich ist hier ein – leider recht teures – Okular-Schraubenmikrometer; weniger wegen der

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

höheren Ablesegenauigkeit, sondern weil dessen von Punkt zu Punkt mitgeführtes Fadenkreuz die genannten Schwierigkeiten vermindert. Auch großformatige Bilder oder die Projektionen von Dias – es reichen auch Negative – eignen sich zum Ausmessen. Dazu muss aber auch ein Bild des Objektmikrometers im gleichen Maßstab vorliegen. Störend kann hier aber die mit den starken Objektiven verbundene geringe Tiefenschärfe sein, die man bei Messung durch das Okular durch Nachfokussieren oder teilweise schon etwas durch Akkomodation kompensieren kann.

Für die alternative Ermittlung der Gitterkonstanten aus den Beugungsfiguren in der hinteren Brennebene der Objektive gestalten sich Versuchsanordnung und Messverfahren wie schon bei der Bestimmung Numerischer Aperturen beschrieben (Husemann, 2005a und b). Mit Hilfe eines genügend schmalbandigen Filters mit bekanntem Wellenlängenschwerpunkt – es empfiehlt sich ein Interferenzfilter; bei nicht zu hohen Ansprüchen reicht unter Umständen auch ein strengeres Glas- oder Folienfilter aus – und von Objektiven bekannter, möglichst höherer Numerischer Apertur lassen sich die Gitterkonstanten dieser Strukturen bestimmen. Letztere entsprechen zwar weniger reinen Absorptions-, sondern mehr Phasengittern, doch wirkt sich das nur auf die hier nicht so interessierende Intensitätsverteilung der Beugungsmaxima aus.

Die praktische Durchführung sei kurz rekapituliert. Das Mikroskop wird auf das Diatomeen-Präparat als Objektgitter scharf eingestellt, der zu untersuchende Bereich in die Gesichtsfeldmitte des Okulars gebracht und bei möglichst geringer Apertur mit Licht bekannter Vakuum-Wellenlänge λv (Filter!) beleuchtet. Die geringe Apertur erzielt man durch korrekt eingerichteten Kondensor mit möglichst eng gestellter Blende oder auch ohne Kondensor nur durch die Hilfslinse bei weitgehend zugezogener Leuchtfeldblende im Fuß des Mikroskops. In der hinteren Brennebene des Objektivs entsteht nun die durch Fraunhofer-Beugung an der jeweiligen Gitterstruktur erzeugte Beugungsfigur. Nach Ersatz des Okulars durch ein Hilfsmikroskop kann sie dort beobachtet und vermessen werden. Hierzu eignet sich ein circa 7 bis 8 cm koaxial über dessen Augenlinse angebrachtes Mikrometerokular (die Scharfstellung des Beugungsbildes erfolgt dabei über das Hilfsmikroskop).

Auswertung

Abbildung 1 zeigt oben schematisch ein einfaches, das heißt eindimensionales, Liniengitter mit der Konstanten g. Die zugehörige Interferenzfigur in der hinteren Brennebene des Objektivs besteht allgemein aus den Lichtflecken des zentralen, sehr hellen Maximums 0. Ordnung und den zu beiden Seiten sich äquidistant anschließenden Beugungsmaxima aufsteigender Ordnung, im Weiteren einfach Maxima genannt. Abbildung 1 unten zeigt der Übersichtlichkeit halber nur Maxima 1. Ordnung, was auch bei vielen der hier untersuchten Fälle zutrifft. Ihre (im Bild schwarz gestrichelte) Verbindungslinie verläuft stets senkrecht zur Längs-Ausdehnung der Gitterspalte beziehungsweise parallel zur Richtung ihrer Aufreihung. Dies ist ein wichtiges Kriterium für die jeweilige Zuordnung bei komplexeren Systemen aus mehreren Gittern, wie sie bei Diatomeen häufig auftreten. Bei den hier behandelten Beispielen sind in den Abbildungen diese Zuordnungen zum Teil durch gestrichelte Linien verdeutlicht.

Alle Maxima sind Bilder der (stellvertretenden) Lichtquelle, also der eng zugezogenen beleuchteten Kondensor- beziehungsweise Leuchtfeldblende (mit der man deren Größe nach Bedarf regeln kann). Ihr gegenseitiger Abstand a – zu messen von Mitte zu Mitte benachbarter Lichtquellenbilder – ist umgekehrt proportional zu g. Der Abstand des i-ten Maximums vom Zentrum beträgt also $r(i) = i \times a$. R ist der Radius der Aperturblende des Objektivs und legt dessen Numerische Apertur NA fest. Diese wird hier als bekannt vorausgesetzt (was normalerweise ja der Fall ist bzw. überprüft werden kann). Sie muss mindestens so groß sein, dass jeweils noch die Maxima 1. Ordnung erfasst werden können, die zu untersuchende Struktur im Okular also als aufgelöst erscheint.

Wie theoretisch ableitbar, gehört zu einem Beugungsmaximum i-ter Ordnung eine Numerische Apertur $NA(i) = (\lambda v/g) \times i$ mit $i = 1, 2, \cdots$, wobei g die gesuchte Gitterkonstante ist. NA(i) erhält man aus dem Verhältnis R/r(i), das durch Vermessen der Beugungsfigur ermittelt wird. Es gilt $NA(i)/NA = r(i)/R$. Einsetzen für NA(i) und Auflösen nach g ergibt:

$$g = (\lambda v/NA) \times (R/r(i)) \times i$$
$$\text{mit } i = 1, 2, \cdots \text{ und } r(i) = i \times a \qquad \text{Gleichung (1)}$$

Bei den hier zu untersuchenden Objekten kommt man meist mit $i = 1$ – also $r(i) = a$ – aus.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http

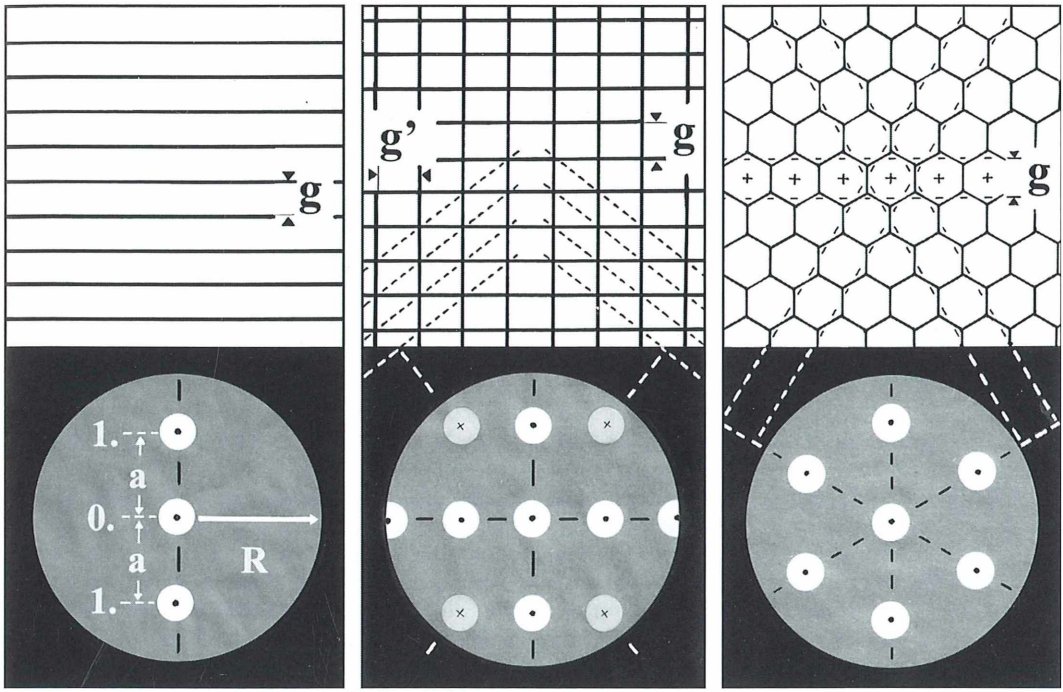


Abb. 1–3: Verschiedene Gittersysteme, darunter ihre Beugungsbilder in der hinteren Brennebene eines Objektivs. a Abstand der Beugungsmaxima, g, g′ Gitterkonstanten, R Radius der Aperturblende.

Zusätzlich zur Angabe der NA auf dem Objektiv kann man das Verfahren zur Sicherheit noch mit Hilfe eines geeigneten Gitters bekannter Konstante kalibrieren. Dazu ein Beispiel: Bei einem mit 570 Linien/mm – entspricht g = 1,754 µm – angegebenen Probegitter wurde bei λv = 0,546 µm (Interferenzfilter) und NA = 0,65 (Objektiv 40/0,65) das Verhältnis R/a wie oben beschrieben in Skalenteilen des Mikrometerokulars zu 50/24 = 2,08 ermittelt. Daraus folgt g = (0,546 µm/0,65) × 2,08 = 1,75 µm, in bester Übereinstimmung mit dem vorgegebenen Wert.

Messbereich

Zur Bestimmung von g müssen also bei der hier benutzten geraden Beleuchtung (senkrechter Einfall, Apertur → 0) mindestens die Maxima ± 1. Ordnung erfasst werden. Die Auflösungsgrenze des Objektivs beträgt dabei nach Abbe d = λv/NA; bei der üblichen Standard-Wellenlänge λv = 0,550 µm (grün) lassen sich danach mit NA = 1,0 (1,25; 1,3) nur Gitter bis hinab zu g ≥ 0,55 µm (0,44 µm; 0,39 µm) vermessen; mit λv = 0,470 µm (blau) bis 0,47 µm (0,38 µm; 0,34 µm).

Bei Anpassung der Beleuchtungsapertur an die des Objektivs würde die Auflösung verbessert bis zu d = 0,5 (λv/NA). Die ausgeleuchtete Kondensorblende ist dann aber die stellvertretende Lichtquelle. Deren Bilder in der hinteren Brennebene des Objektivs würden sich dann weitgehend überlappen und nicht mehr zu trennen sein.

Mit einer dezentrierbaren Kondensorblende (wie z.B. bei manchen PH-Kondensoren) und einem drehbaren Objekttisch – soweit beide zur Verfügung stehen – kann man aber auch bei eng zugezogener Blende stets eine bezüglich des zu messenden Gitterobjekts passend orientierte schiefe Beleuchtung erzeugen und damit das jeweilige Auflösungsvermögen erhöhen. Hierzu verschiebt man das Maximum 0. Ordnung senkrecht zur Längsausdehnung der Gitterlinien möglichst bis zum Rand der Aperturblende. Im Grenzfall könnte dann die 1. Ord-

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

nung ganz auf der gegenüberliegenden Seite liegen und der Abstand a den Wert $a \leq 2\ R$ annehmen. Bei einem Verhältnis $R/a \geq 0{,}5$ wären dann noch Gitterkonstanten bis etwa $g \geq 0{,}2$ µm zu erfassen (bei Immersionsobjektiven müsste dazu auch der Kondensor immergiert sein).

Real hat man es aber nicht nur mit einfachen eindimensionalen Linien-Gitterstrukturen (auch Reihen sehr eng stehender Punkte können als Gitterlinie wirken) zu tun; oft handelt es sich auch um flächenhafte Anordnungen porenartiger Öffnungen. Sind diese unregelmäßig (statistisch) verteilt, erhält man im Prinzip nur das verstärkte Beugungsbild einer einzelnen Öffnung, das praktisch kaum zu erkennen und auszuwerten ist. In mehreren Richtungen periodisch angeordnet stellen sie zweidimensionale Gitter dar. Diese kann man im Prinzip als Überlagerung sich kreuzender Liniengitter ansehen. Abbildung 2 zeigt oben schematisch ein aus zwei sich senkrecht kreuzenden Liniengittern verschiedener Konstanten g und g′ erzeugtes zweidimensionales Gitter und darunter die zugehörige Beugungsfigur in der hinteren Brennebene des Objektivs. Zusätzlich zu den senkrecht und waagerecht orientierten Gruppen der Maxima (jeweils gestrichelt verbunden), die den beiden „erzeugenden" Liniengittern zuzuordnen sind, können hier aber noch weitere, in den Quadranten links und rechts oben beziehungsweise unten liegende Maxima (mit × gekennzeichnet) entstehen. Ursache sind die Scharen der Gitterdiagonalen, die gemeinsam gleichfalls als Gitter wirken. Der Übersichtlichkeit halber sind jeweils nur einige gestrichelt angedeutet. Deren Konstante g″ – der Abstand der Diagonalen untereinander – ist, wie sich zeichnerisch leicht nachprüfen lässt, kleiner als die der konstituierenden Gitter (hier um einen Faktor von etwa 0,7); die zugehörigen Maxima sind dementsprechend weiter (hier etwa 1,4 ×) vom Zentrum ausgelenkt.

Da bei den Diatomeen-Schalen wegen der im Allgemeinen sehr kleinen Gitterkonstanten meist nur die Maxima der 1., höchstens noch die der 2. Ordnung zum Tragen kommen, bleiben die Beugungsfiguren aber meist so übersichtlich, dass deren Zuordnung unschwer erfolgen kann.

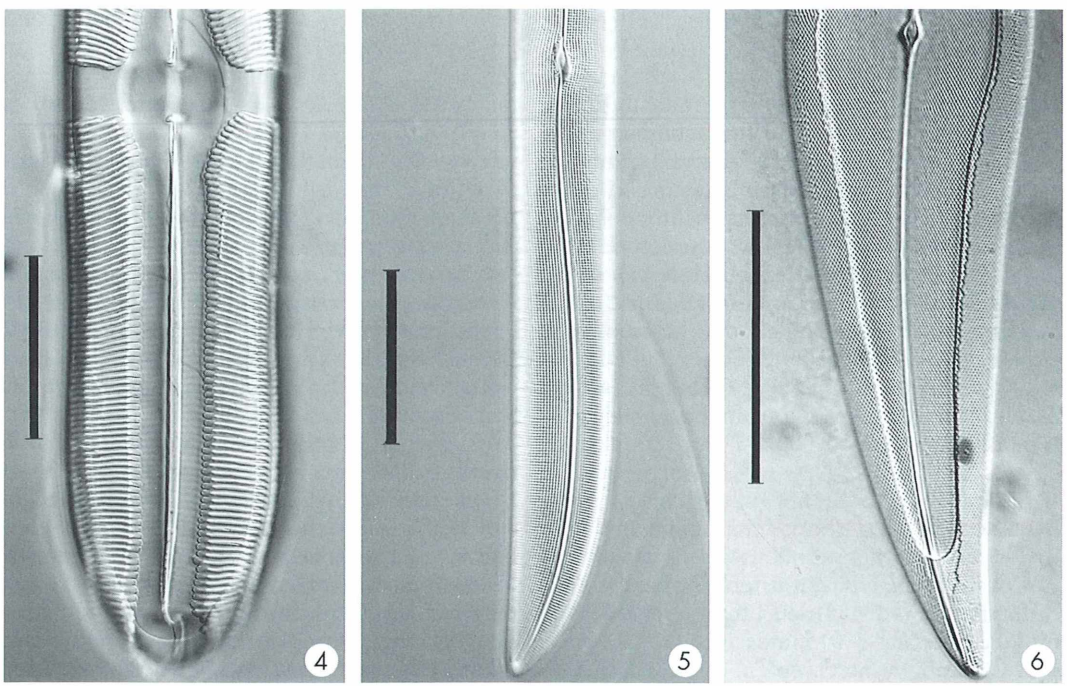


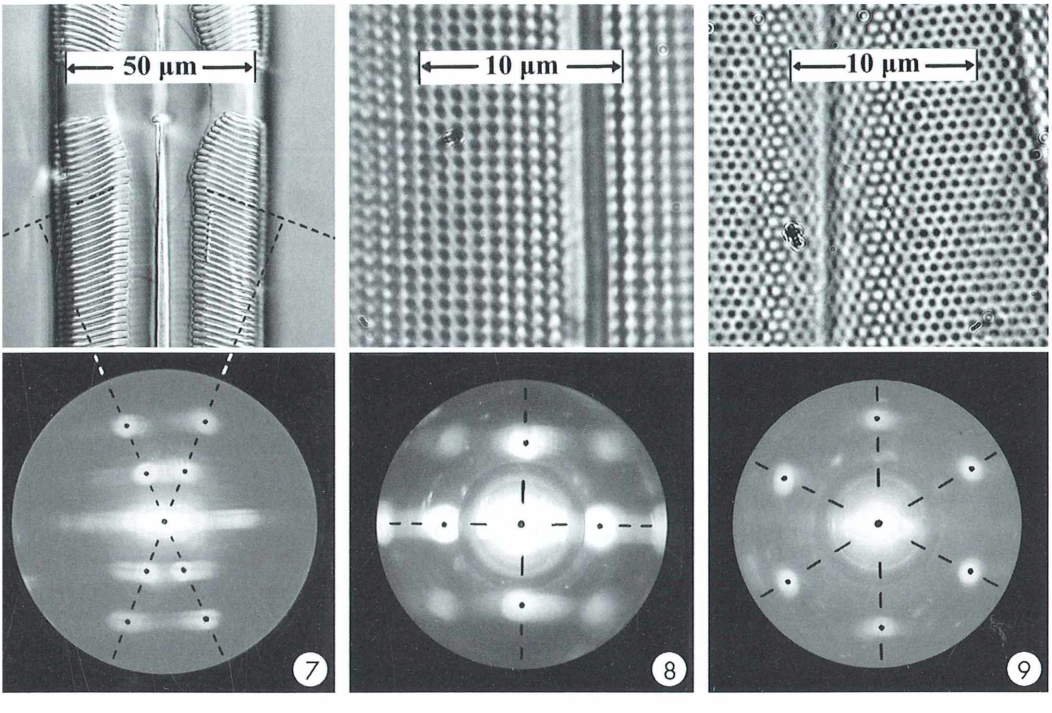
Abb. 4: ***Pinnularia opulenta.*** **– Abb. 5:** ***Gyrosigma balticum.*** **– Abb. 6:** ***Pleurosigma angulatum.*** **Maßstrich 50 µm.**

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; htt

m Vergleich zur Messung mit dem Okularmi-
rometer können sich aber am gleichen Objekt
uch Unterschiede ergeben. Abbildung 3 zeigt
as schematisch an einer hexagonalen Anord-
ung von Poren. Man kann sie auf drei sich je-
veils unter einem Winkel von 60° schneidende
iniengitter mit gleicher Konstante g zurück-
ühren, denen die drei (jeweils gestrichelt ver-
undenen) Gruppen der Beugungsmaxima zu-
eordnet sind. Die in sich zickzackförmigen
Gitterlinien werden – wie der Übersichtlichkeit
alber nur an einigen von ihnen angedeutet –
urch die gestrichelt gezeichneten geraden
inien sozusagen gemittelt. Deren gegenseitiger
bstand ist die zugehörige und aus dem
Beugungsbild darunter bestimmbare Gitter-
onstante g.
Würde man dagegen mit dem Okular-Mikro-
meter einfach nur die Abstände der (oben
urch Kreuze markierten) Porenmitten messen,
rhielte man – wie geometrisch ableitbar – ei-
en um den Faktor 1,155 größeren Wert! Beim
Vergleich beider Methoden ist also Aufmerk-
amkeit geboten. Man erhält nur korrekte
Werte für die Gitterkonstanten, wenn man genau senkrecht zu den jeweiligen Gitterlinien misst.

Praktische Beispiele

Die beschriebenen Zusammenhänge sollen an drei konkreten Beispielen demonstriert werden. Die Abbildungen 4–6 zeigen dazu die Bilder von Exemplaren der Diatomeen *Pinnularia opulenta*, *Gyrosigma balticum* und *Pleurosigma angulatum*; beliebte Objekte für so genannte Testplatten zur Prüfung von Mikroskop-Objektiven.
Alle drei sind näherungsweise symmetrisch gebaut. Sie wurden deshalb – da hier mehr die Struktur interessiert – aus Platzgründen jeweils nur zur Hälfte, aber dafür in größerem Maßstab abgebildet. Die eingezeichneten Balken markieren jeweils eine Länge von 50 µm.
Die Abbildungen 7–9 zeigen oben jeweils stark vergrößerte Ausschnitte aus den Abbildungen 4–6, darunter die realen zugehörigen Beu-



bb. 7–9: Vergrößerte Ausschnitte aus den Abbildungen 4–6 und zugehörige Beugungsbilder bei v = 0,546 µm. – Abb. 7: *Pinnularia opulenta*. Objektiv 40/0,95. – Abb. 8: *Gyrosigma balticum*. bjektiv 100/1,30. – Abb. 9: *Pleurosigma angulatum*. Objektiv 100/1,30.

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

gungsmuster. Deren Abbildung gestaltete sich wegen der Kontrastverhältnisse etwas schwierig, denn es sollte ja neben den oft schwächeren, zum Teil etwas verschwommenen Lichtflecken der Maxima auch noch die Aperturblende des Objektivs klar erkennbar sein. Deren Bild musste in allen Fällen zur Verdeutlichung von Hand nachgezogen werden.

Die Festlegung der Mitten der nicht ganz scharfen Lichtflecken als Messmarken ist natürlich etwas unsicher, deshalb sollte man für die Bestimmung von g jeweils alle dafür infrage kommenden Strecken ausmessen und für die weitere Rechnung den Mittelwert einsetzen.

Abbildung 7 zeigt *Pinnularia opulenta* mit ihren vergleichsweise groben und einfachen Liniensystemen. Die vier zum Zentrum symmetrischen Streifensysteme stellen Liniengitter mit praktisch gleicher Gitterkonstante g dar. Die sich diagonal gegenüberliegenden haben etwa die jeweils gleiche, wenn auch nicht über die ganze Länge konstante, Spaltrichtung und stehen zu den anderen etwas abgewinkelt. Die Richtung der Gitterlinien des jeweils erfassten Bereiches bestimmt, wie oben erläutert und durch die gestrichelten Linien angedeutet, die Orientierung der zugehörigen Maximagruppen im Beugungsbild; hier für Licht mit $\lambda v = 0{,}546$ µm bei einem Objektiv 40/0,95 korr. Wegen der relativ groben Gitter sind auch die Maxima 2. Ordnung eingefangen. In günstiger Objektstellung wie hier kann man die Beugungsfiguren beider Gittersysteme gemeinsam erfassen. Die sich kreuzenden Verbindungslinien der jeweils zugehörigen Maxima machen auch den Winkel zwischen den beiden Richtungen gut messbar.

Auch die senkrechten Linien (Seitenbegrenzung und Mittellinien der Diatomee) sind beugungswirksam; wegen ihrer viel größeren Gitterkonstanten (hier ca. 30 µm) liegen die zugehörigen Maxima in der Waagerechten einander dicht überlappend und wirken nur kontinuierlich verwischt.

Mit den gegebenen Werten für λv und NA und dem für R/a aus dem Beugungsbild ermittelten Wert von 2,9 ergibt sich nach Gleichung 1: $g = (0{,}546\ \mu m/0{,}95) \times 2{,}9 = 1{,}66$ µm, sinnvoll gerundet zu 1,7 µm, was auch mittels Okular-Mikrometer gefunden wurde. Göke (1988) gibt hier eine Bandbreite von 1,7 bis 2,0 µm an.

Abbildung 8 oben zeigt stark vergrößert die Gitterstruktur von *Gyrosigma balticum*. Wie man auch der Beugungsfigur darunter entnehmen kann, wird sie erzeugt durch zwei sich kreuzende Liniengitter mit etwas verschiedenen Gitterkonstanten. Auch die von den Diagonalen-Scharen herrührenden Maxima sind hier schwach sichtbar. Bei Benutzung eines Objektivs 100/1,30 Öl PH 3 (der in gleicher Ebene liegende PH-Ring ist im Beugungsbild noch erkennbar) bei $\lambda v = 0{,}546$ µm ergab sich hier R/a = 1,88 für das im oberen Bild senkrechte beziehungsweise 1,76 für das dort waagerechte Streifensystem und damit g = 0,79 µm beziehungsweise 0,74 µm (nach Göke ohne Differenzierung beider Richtungen 0,62 bis 0,9 µm). Für die diagonalen Gitterlinien ergab sich R/a = 1,29 und damit g = 0,54 µm, passend zur rein geometrischen Betrachtung.

Bei *Pleurosigma angulatum* – ein stark vergrößerter Ausschnitt in Abbildung 9 oben – mit ihrem sehr engmaschigen hexagonalen Gittersystem ist wegen der sehr geringen Beleuchtungsapertur (gerade Beleuchtung) ein Immersionsobjektiv mit NA ≥ 1 erforderlich. Das Beugungsbild darunter, mit einem Objektiv 100/1,3 Öl PH 3 bei $\lambda v = 0{,}546$ µm, zeigt die jeweils 1. Ordnung der drei äquivalenten, um 60° gegeneinander versetzten Gittersysteme (die Winkel sind im Beugungsbild gut messbar). Aus R/a = 1,36 resultiert g = 0,57 µm (nach Göke 0,45 bis 0,55 µm). Wie oben zu Abbildung 3 erläutert, ergab auch hier die Messung des Abstandes der Porenmitten mit dem Okular-Schraubenmikrometer mit 0,65 µm einen höheren Wert, der im Rahmen der Messgenauigkeit gut dem dort angegebenen Längenverhältnis von 1,155 entsprach.

Ergänzende Betrachtungen

Da man hier praktisch immer mit Maxima 1. Ordnung (gelegentlich höchstens 2. Ordnung) auskommt und im Allgemeinen auch keine höheren Ordnungen sichtbar sind, ist sehr eng monochromatisches Licht nicht immer notwendig. Der Wellenlängenschwerpunkt des breiteren Bandes muss aber genügend genau bekannt sein. Ein teures Interferenzfilter ist deshalb nicht unbedingt erforderlich, für bescheidenere Ansprüche reicht auch ein strengeres Glasfilter, zum Beispiel ein VG9 (grün). Die 1. Ordnung ist dann zwar auch schon etwas spektral aufgefächert, man kann aber den zentralen Grünbereich beim Messen gut von den schwach roten und blauen Rändern trennen.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http

Der bei einfacheren Filtern meist nicht bekannte Wellenlängenschwerpunkt λv kann – quasi als weitere Umkehrung des Verfahrens zur Bestimmung der NA – mit einem Objektiv bekannter NA und einem Gitter bekannter Konstante, zum Beispiel einem Objektmikrometer mit g = 10,0 µm, aus der Messung von R/r(i) ermittelt werden. Auflösen von Gleichung (1) nach λv ergibt:

$\lambda v = g \times NA \times [r(i)/(R \times i)]$
mit $i = 1, 2, \cdots$ und $r(i) = i \times a$.

Beispiel: Mit einem Objektmikrometer als Gitter wurde bei einem strengeren grünen Glasfilter von einem Objektiv 10/0,22 die Mitte der 4. Ordnung gerade noch erfasst. Diese ließ sich hier noch gut erkennen; Objektive höherer NA fangen aber noch höhere Ordnungen ein, und diese sind dann im Allgemeinen merklich spektral verwaschener und damit zu undeutlich. Man wird sich hier auf die niedrigeren Ordnungen beschränken. Es ergab sich also 4 a/R = 1,00 und damit resultiert für λv:

$\lambda v = 10{,}0\ \mu m \times 0{,}22 \times [1{,}00/4] = 0{,}55\ \mu m.$

Auch ein stärker gefärbtes blaues Kobaltglas ist brauchbar, wenn man den ebenfalls durchgelassenen Rotanteil mittels eines geeigneten Filters reduziert. Mit einem Objektiv 6,3/0,16 ergab sich 3 a/R ≈ 0,28 und damit λv ≈ 0,45 µm.
Für einen blauen Gelatinefilter ohne Rotanteil wurde so λv ≈ 0,48 µm gefunden.

Fazit

Da man bei konventioneller Messung durch das Okularmikrometer mit weiter geöffneter Kondensorblende arbeitet, sind das Auflösungsvermögen und damit das Erfassen sehr feiner Gitterstrukturen hier an sich besser. Das Abzählen, wie viele Gitterlinien oder Poren in ein vorgegebenes Längenintervall auf der Messplatte im Okular fallen, ist aber bei sehr engen und feinen identischen, gerade aufgelösten Streifen und Poren auch bei stärkeren Vergrößerungen oft nur schwer möglich, zumindest sehr anstrengend. Augenfreundlicher, aber zeitlich und materiell aufwändiger ist in solchen Fällen die Auswertung von Fotografien ausreichenden Formates oder die Projektion von Dias beziehungsweise Negativen; auch die Benutzung eines Okular-Schraubenmikrometers.

Die visuelle Vermessung der Beugungsfigur gestaltet sich wegen der wenigen, viel größeren zu messenden Abstände meist einfacher. Diese gibt insgesamt einen ergänzenden, unter Umständen sogar deutlicheren Überblick über die geometrische Anordnung der Gittersysteme des Objektes als dessen direkte Betrachtung. Durch schiefe Beleuchtung lässt sich der bei gerader Beleuchtung kleinere Messbereich etwa dem mit dem Okularmikrometer theoretisch möglichen angleichen.
In einigen Fällen werden mit den beiden Methoden am gleichen Objekt unterschiedliche Periodizitäten erfasst. Bei gröberen Strukturen erscheint die Vermessung mit Okularmikrometer als die weniger aufwändige; bei feineren Strukturen würde der Verfasser die Beugungsmethode vorziehen. Beide Methoden können sich also gegenseitig ergänzen und kontrollieren.
Bei bescheideneren Ansprüchen an die Messgenauigkeit ist der Aufwand für die Beugungsmethode relativ gering. Man benötigt nur ein etwas strengeres Filter und ein Okularmikrometer beziehungsweise einen entsprechenden Einsatz für ein Okular. Als Nebeneffekt lassen sich mit Hilfe eines Objektmikrometers als Gitter auch die Wellenlängenschwerpunkte nicht zu breitbandiger Filter näherungsweise ermitteln.
Die Messung der Gitterkonstanten von Diatomeen ist sicher ein etwas ausgefallenes Thema. Professionell würde man es wohl eher mit dem REM machen. Für Freunde der klassischen optischen Diatomeen-Mikroskopie ergibt sich hier vielleicht aber doch ein ganz reizvolles Betätigungsfeld. Für Besitzer halb vergessener Diatomeen-Testplatten eventuell eine Motivation, sich mal wieder mit der vielseitig anwendbaren Abbe'schen Theorie ihres Mikroskops zu befassen.

Literaturhinweise

Husemann, H.: Bestimmung Numerischer Aperturen – Teil 1: Geometrisch-optisch. Mikrokosmos *94*, 275–282 (2005a)
Husemann, H.: Bestimmung Numerischer Aperturen – Teil 2: Mittels der Abbe'schen Theorie. Mikrokosmos *94*, 337–344 (2005b).
Göke, G.: Moderne Methoden der Lichtmikroskopie. Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart 1988.

Verfasser: Dr. Hinrich Husemann, Molinder Grasweg 31, D-32657 Lemgo, Tel.: 052 61/716 96

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

Das Leben neben dem Tod – Klein- und Kleinstlebewesen in von Menschen geschaffenen Lebensräumen

Sascha Buchczik

Als Mikroskopiker hat man auch als Amateur breiten Raum, interessante Entdeckungen zu machen. Dabei gibt es sowohl Mikroskopiker, die rein um der Ästhetik und der Schönheit willen durch das Mikroskop schauen, als auch solche, die auf wissenschaftlicher Ebene arbeiten. Das Projekt, welches hier nun vorgestellt wird, liegt – wie so vieles – irgendwo in der Mitte. Den Anstoß zu diesen Untersuchungen gab die Tatsache, dass unser Autor im Beschaffen von kleinen Lebewesen eine gewisse Erfahrung hatte. Er ist seit Jahren begeisterter Aquarianer. Mit den Jahren weiß man schon, wo die schönsten Wasserflöhe und die feinsten Mückenlarven zu finden sind, nämlich auf einem Friedhof.

Auf fast allen Friedhöfen sind Betonbottiche zu finden (Abb. 1), in denen sich das Leben tummelt. Gerade die schnelle Verfügbarkeit von diverser Kleinstflora und -fauna ist immer wieder einen Blick mit der Stereolupe oder dem Mikroskop wert.

Auf der Jagd

Zur Probenentnahme eignen sich ein Planktonnetz oder auch ein normaler Kescher aus der Zoohandlung. Es geht aber auch einfach mit der Hand, indem man einige der zahlreichen Algenfäden abzieht. Zwischen den Algenfäden befinden sich immer auch einige Wasserflöhe und andere Kleinorganismen.
Wenn der erste Wissensdurst bezüglich der Organismen gestillt ist, kommt schnell der Wunsch, mehr über das entdeckte Biotop zu erfahren. Dazu ist es notwendig, etwas über biologische Gewässeruntersuchungen/Gewässeranalyse zu wissen.

Die Wasserwerte messen: Physikalisch und chemisch

Es gibt zwei Wege die Gewässergüte zu bestimmen, nämlich zum einen anhand der physikalisch-chemischen Parameter und zum anderen aufgrund der Leitorganismen.

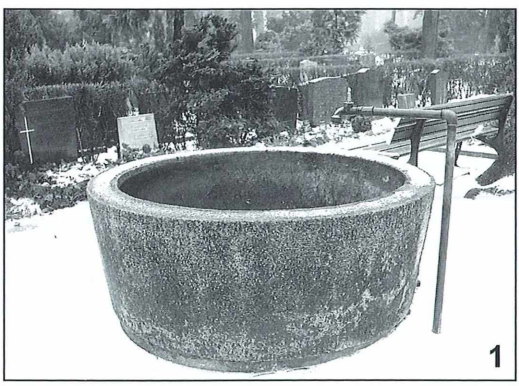


Abb. 1: In solchen Betonbecken, die man auf Friedhöfen findet, kann man interessante Entdeckungen machen.

Welche Werte bei der physikalisch-chemischen Gütebestimmung wichtig sind, ist abhängig von der Fragestellung. Als wichtige Werte sind vor allem zu nennen Temperatur, pH-Wert, Sauerstoffgehalt, Härtestufe, Leitfähigkeit sowie Lichteinfall und Sichttiefe (Bauer, 2003).

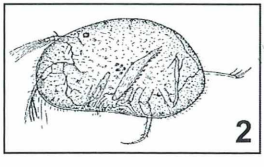
Die Flora und Fauna bestimmen

Es gibt den Gewässerklassen zugeordnete Leitorganismen/Leitformen, nach denen die Verschmutzung/Belastung insbesondere von Fließ-

Tabelle 1: Siebenstufiges System zur Gewässerklassifizierung.

Unbelastet bis sehr gering belastet	I	os (oligosaprob)
Gering belastet	I/II	os/bms (oligosaprob/β-mesosaprob)
Mäßig belastet	II	bms (β-mesosaprob)
Kritisch belastet	II/II	bms/ams (β-mesosaprob/α-mesosaprob)
Stark verschmutzt	III	ams (α-mesosaprob)
Sehr stark verschmutzt	III/IV	ams/ps (α-mesosaprob/polysaprob)
Übermäßig verschmutzt	IV	ps (polysaprob)

gewässern beurteilt werden kann. Zum Beispiel wird häufig das nach Liebmann (1951) benannte, in vier Stufen unterteilte Wassergüteklassen-System (Saprobiensystem) verwendet. Alternativ kann auch ein siebenstufiges System der Gewässerklassifizierung angewandt werden, wie es beispielsweise die Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA) empfiehlt (Tabelle 1).
Es sollten nicht nur die Arten der gefundenen Organismen bestimmt werden, sondern auch die Mengen gezählt oder abgeschätzt werden: Was, wo, wie viel, wann? Am besten ist es, gleich nach den Leitorganismen zu suchen. Eine ausführliche Liste der Leitorganismen und deren Zuordnung findet sich zum Beispiel im Buch *Das Leben im Wassertropfen* von Heinz Streble und Dieter Krauter (2002) oder in Otto Klees Werk *Wasser untersuchen* (1998).
Stehende Gewässer werden üblicherweise aufgrund ihres trophischen Zustandes eingeschätzt. Hier ist insbesondere die Verfügbarkeit von Pflanzennährstoffen (gelöstes Phosphat, Stickstoffverbindungen) entscheidend für die Menge der Phytoplanktonbildung. Als Kriterien für die Trophie werden daher im Wesentlichen der Chlorophyllgehalt des Wassers, die Sichttiefe und die Menge an gebundenem Phosphor berücksichtigt. Auch hier scheinen Indikatorarten bestimmte Trophiestufen anzuzeigen, doch existiert noch kein verbindliches System (Streble und Krauter, 2002).



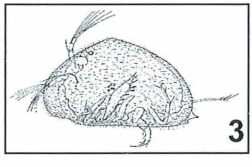


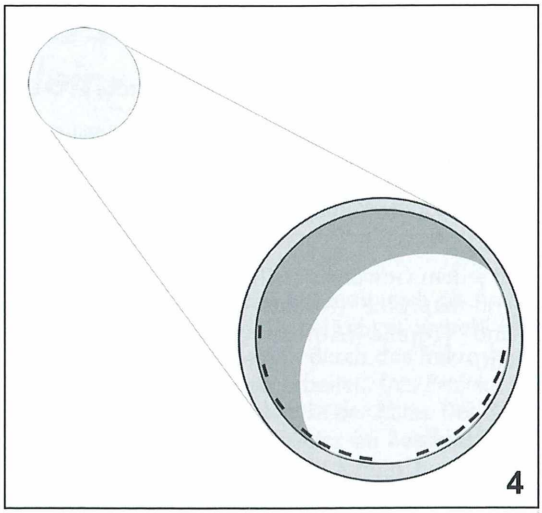
Abb. 2: Schmutzig-gelber Muschelkrebs *(Heterocypris incongruens)*, Indikator für ein β-mesosaprobes Gewässer – Abb. 3: Grüner Muschelkrebs *(Cypris pubera)* (aus Streble und Krauter, 2002).

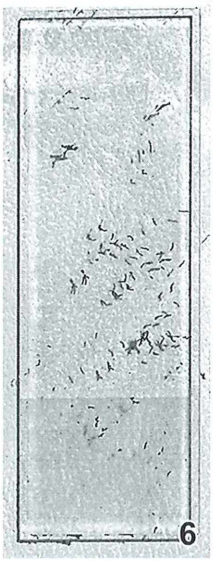
In jedem Gewässer stellt sich ein Gleichgewicht von Saprobie (Abbau organischer Substanz) und Trophie (Aufbau organischer Substanz) ein.

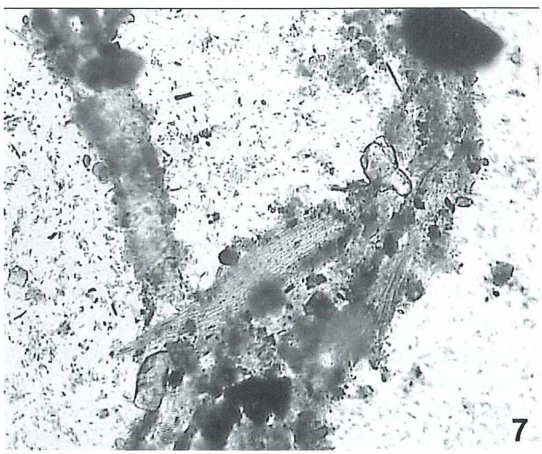
Beispiele

Als auffälligster Vertreter im Friedhofsbecken findet sich wohl der Wasserfloh. An ihm kann man sehr gut den jahreszeitlichen Wechsel beobachten. Aus den Dauereiern schlüpfen im Frühjahr nur Weibchen. Aus unbefruchteten Eiern (Jungfernzeugung) dieser Weibchen entstehen wieder nur Weibchen. Dabei ist die entstehende Populationsdichte weitgehend witterungsabhängig. Im Spätherbst, wenn es kälter wird und das Nahrungsangebot sinkt, beginnen die Weibchen damit, Eier zu legen, aus denen Männchen schlüpfen. Diese paaren sich mit den Weibchen, die dann befruchtete Dauereier prodzieren. Die Dauereier sinken auf den Grund, um zu überwintern. Sie sind sehr widerstandsfähig und können sowohl Austrocknen als auch Gefrieren vertragen.
Wie beim Wasserfloh liegt auch beim Muschelkrebs (Abb. 2 und 3) ein immer wiederkehrender Lebenszyklus vor: Aus den Eiern, die an Pflanzenteilen im Vorjahr befestigt wurden, schlüpfen im Frühjahr die Nauplius-Larven, aus denen sich letztendlich die Muschelkrebse entwickeln. Innerhalb von rund zwei Wochen nach Befüllen der Betonbottiche mit Wasser ist ein massenhaftes Auftreten der Muschelkrebse festzustellen, insbesondere der Art *Heterocypris incongruens* (Abb. 2). Bereits sechs Wochen später sind nur noch vereinzelt Tiere zu finden. Das übrige Jahr findet man kaum noch diese Muschelkrebsart. Dieser Muschelkrebs ist nach Streble und Krauter (2002) ein Indikator für ein ß-mesosaprobes (bms) – also mäßig belastetes Gewässer und deshalb als Leitorganismus zu nutzen.
Auch der grüne Muschelkrebs *Cypris pubera* (Abb. 3) ist das ganze Jahr über vereinzelt in

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







den Betonbecken zu finden. Dieser Muschelkrebs ist ein Indikator für oligosaprobes bis α-mesosaprobes (os-ams) Gewässer, zeigt also eine bessere Wasserqualität an. Letztendlich entscheiden die Gesamtheit der Zeigerorganismen und ihre Häufigkeiten, welcher Güte das Gewässer zuzuordnen ist.

Jahreszeiten im Wechsel

Wie schon vereinzelt erwähnt, ist es besonders interessant, den jahreszeitlichen Wechsel zu beobachten. Es lohnt sich durchaus, die Betonbottiche mehrere Monate lang wöchentlich aufzusuchen und gezielt nach Veränderungen zu schauen.

In der Regel werden Ende März die Behälter mit Wasser gefüllt. Mitte bis Ende April findet man massenhaft Muschelkrebse. Acht bis zehn Wochen später treten Wasserflöhe verstärkt auf. Erste Anzeichen von Detritus sind zu finden. Im Juni und Juli erscheinen mit höheren Wassertemperaturen vermehrt Wasserflöhe.

Durch die Zunahme an Friedhofbesuchern ergibt sich in den Betonbecken eine höhere Nährstoffzufuhr. Der Grund dafür ist wohl, dass die Gräber intensiver bewässert werden. Und an den Gießkannen, die mit dem Wasser der Betonbecken gefüllt werden, sind oft Blattreste und Blumenerde zu finden. Im Sommer (Juli/August) kommt es in der Regel aufgrund des intensiveren Lichts und des erhöhten Nährstoffangebots zu Algenblüten. Dadurch werden andere Wasserpflanzen verdrängt. Die allgemeine Populationsdichte steigt.

Bei anhaltenden hohen Temperaturen über 30 °C kann man vielfach ein Massensterben der Fauna beobachten, das wohl primär auf

Abb. 4: Schematische Darstellung eines mit Objektträgern bestückten Friedhofsbottichs; die Objektträger sind unterschiedlich dem Sonnenlicht ausgesetzt. – Abb. 5: Objektträger im herbstlichen Bottich. – Abb. 6: Besiedelter Objektträger nach vier Wochen im Halbschatten. – Abb. 7: Das Rädertier *Cephalodella forficula* hat mit den Zehen lange, lockere, braune Röhren aus Schlammteilchen auf dem Objektträger gebaut. Solche Wohnröhren sind für Rotatorien eher ungewöhnlich.

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

Sauerstoffmangel zurückzuführen ist. Das Algenwachstum jedoch steigt. Fadenalgen wie beispielsweise *Mougeotia* sind massenhaft vorhanden. Im Spätsommer nimmt die Populationsdichte aufgrund reduzierter Sonneneinstrahlung und damit einhergehender Verminderung der Wassertemperatur stark ab. Auffällig ist, dass zu dieser Zeit größere Insektenlarven zu beobachten sind, ein Phänomen, das derzeitig noch nicht erklärt werden kann.
Der Boden der Betonbottiche verschlammt infolge Laubfalls und durch abgestorbene Tiere zunehmend. Das Wasser wird normalerweise im September aus den Bottichen abgelassen, um Frostschäden vorzubeugen. Laub und Algenreste verbleiben bis zum nächsten Frühjahr in ihnen.
Um den genauen Termin für die Befüllung und das Ablassen der Bottiche zu erfahren, reicht meistens ein kurzes Gespräch mit der Friedhofsverwaltung. Generell sollte man sich, um Missverständnissen vorzubeugen, mit der Friedhofsleitung in Verbindung setzten, wenn man Untersuchungen dieser Art durchführen möchte.

Aufwuchsobjektträger

Neben den Routineprobennahmen mittels Planktonnetz oder Kescher ist das Auslegen von Objektträgern für Aufwuchsuntersuchungen interessant. Achten sollte man dabei darauf, dass man wirklich saubere Objektträger verwendet, die man hochkant an den Beckenrand gelehnt aufstellt. Wichtig ist es, die Objektträger in möglichst ruhigen Becken auszulegen, da sie sonst schnell zerstört, von Neugierigen mitgenommen oder von Unwissenden einfach weggeworfen werden. Es lohnt sich auch, Stellen im Bottich auszuwählen, die unterschiedlich stark der Sonnenbestrahlung ausgesetzt sind (Abb. 4–7).
Bei der Untersuchung dieser Objektträger ist es wichtig, dass sie nicht austrocknen. Beim Beobachten und Bestimmen der Organismen unter dem Mikroskop sollte sich immer ein Film aus Wasser vom Ursprungsgewässer auf den Trägern befinden. Neben Algen, welche die Objektträger häufig besiedeln, findet man auch zahlreiche weitere Organismen wie Bakterien Protozoen und Pilze. Die genaue Bestimmung ist nur mit geeigneter Literatur möglich.

Literaturhinweise

Bauer, W. H.: Gewässergüte bestimmen und beurteilen, 4. Auflage. Verlagsgesellschaft BWF–Fisch und Umwelt, Stuttgart 2003.
Klee, O.: Wasser untersuchen. Einfache Analysenmethoden und Beurteilungskriterien. Biologische Arbeitsbücher Quelle & Meyer, 3. Auflage. Quelle & Meyer, Wiesbaden 1998.
Liebmann, H.: Handbuch der Frischwasser- und Abwasserbiologie, Band 1. Verlag R. Oldenbourg, München 1951.
Linne von Berg, K.-H., Melkonian, M.: Der Kosmos Algenführer. Franckh-Kosmos Verlag, Stuttgart 2004.
Streble, H., Krauter, D.: Das Leben im Wassertropfen, 9. Auflage. Franckh-Kosmos Verlag, Stuttgart 2002.
Westheide, W., Rieger, R.: Spezielle Zoologie, Teil 1. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1996.

Verfasser: Sascha Buchczik, Fehmarner Straße 16, D-13353 Berlin, e-mail: mmdc@arcor.de

Buchbesprechung

Müller, W. A., Hassel, M.: Entwicklungsbiologie und Reproduktionsbiologie von Mensch und Tieren. Ein einführendes Lehrbuch, 4. Auflage.
778 Seiten, 220 Abbildungen, gebunden, € 39,95, Springer Verlag, Heidelberg 2006, ISBN 3-540-24057-8.

Das nun in vierter Auflage erschienene Lehrbuch zur Entwicklungsbiologie der Tiere von Werner Müller und Monika Hassel ist gegenüber der vorangegangenen Auflage aktualisiert und vollständig überarbeitet worden. Damit wird es den Erwartungen gerecht, die man an eine Neuauflage stellen darf. Die zu diesem Thema relevanten Fakten werden in bewährter Form vermittelt und durch eingängige Schemata illustriert. Aus Sicht des Protistologen ist es natürlich schmerzlich, wieder feststellen zu müssen, dass außer dem amöboiden Exoten *Dictyostelium discoideum* kein anderer Protist Eingang in das Buch gefunden hat.

Wilhelm Wagner, Essen

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

ikrokosmos
/2006 1 (6)

10543
ibliothek des OÖ.
andesmuseums

useumstraße 14
020 Linz

300229

Am anderen Ende des Mikroskops ...

Bestellen können Sie

- telefonisch: (0 70 71) 93 53 69
- per Fax: (0 62 21) 912 63 38
- per mail: bestellung@elsevier.de

www.elsevier.de

Ein wunderbares Mikrobenlesebuch!!

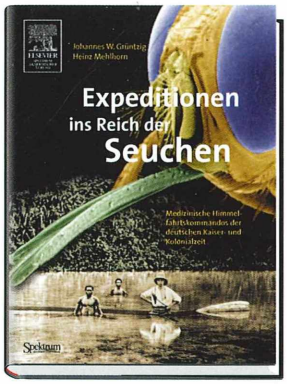
1998, 379 S., kart.
€ 15,– / sFr 24,–
ISBN 3-8274-0398-7

Bernard Dixon

Der Pilz, der John F. Kennedy zum Präsidenten machte

In 75 eigenwilligen Porträts aus der Welt der Bakterien, Viren und Pilze gewährt dieser Band einen faszinierenden Einblick in die erstaunliche Vielfalt der Lebensweisen und Leistungen dieser unterschätzten Organismengruppe.

Mann gegen Mikrobe – das Kaiserreich im Seuchenfieber



2005, 380 S., 305 Abb., geb.
€ 28,– / sFr 45,–
ISBN 3-8274-1622-1

Johannes W. Grüntzig / Heinz Mehlhorn

Expeditionen ins Reich der Seuchen

Die Anfänge der Tropenmedizin waren spannend, abenteuerlich – und: verlustreich ... Jene aufregende Zeit wird in diesem ungewöhnlichen Buch wieder lebendig. Unter Auswertung von oft schwer zugänglichen Quellen gelingt es den Autoren, ein faszinierendes Panorama des medizinisch-naturwissenschaftlich motivierten Expeditionsfiebers zwischen 1870 und 1910 zu zeichnen. In diesen wenigen Dekaden vermochten entschlossene Forscher die Auslöser und Übertragungswege vieler gefürchteter Tropenkrankheiten aufzuklären – Grundlage für eine effektive Seuchenbekämpfung auch in den Mutterländern und noch heute von hoher Aktualität. **Mit Hunderten von historischen Fotos!**

kterien erzählen *ihre* Geschichte!

2003, 256 S., 32 Abb., geb.
€ 20,– / sFr 32,–
ISBN 3-8274-1459-8

Elmer W. Koneman

Am anderen Ende des Mikroskops

In diesem Buch kommen erstmals jene unscheinbaren Lebewesen selbst zu Wort, die wir allzu oft als schädliche Keime und Krankheitserreger abwerten. Hier nun betreten verschiedene Bakterienarten die Bühne des Ersten Außerordentlichen Bakterienkongresses. Bei Ihren Auftritten und Diskussionen offenbaren sie nicht nur ihre individuellen Eigenarten und speziellen Fähigkeiten, sondern enthüllen auch die bisher unbekannte Innensicht der Bakterienwelt.

„Nicht nur der Bakterienkongress, sondern auch dieses Buch ist außerordentlich - unterhaltsam, amüsant ... Ich habe selten ein so witziges und dennoch fundiertes Sachbuch gelesen."
Mikrokosmos

Wissen was dahinter steckt. Elsevier.

Sämtliche Preise verstehen sich zzgl. Versandkosten (Im Inland: € 3,50 pro Lieferung) – Preise unter Vorbehalt.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Mikrokosmos, Zeitschrift für Mikroskopie

Jahr/Year: 2006

Band/Volume: 95_2

Autor(en)/Author(s):

Artikel/Article: Mikrokosmos 95_2 1