

Linzer biol. Beitr.	51/1	569-577	26.07.2019
---------------------	------	---------	------------

Zur Rolle der Stereoskopie in der Mikrobiologie

Robert STURM

A b s t r a c t : On the role of stereoscopy in microbiology. – The contribution tries to illustrate possible application fields of stereoscopy in microbiological science. Since 3D imaging has made considerable progresses in light- and electron-microscopy during the past decade, stereoscopic photography may be regarded as efficient method for more detailed research of microorganisms in the meantime. Generation of stereo pairs can be done in different ways: (1) by photographing the object from two different perspectives, (2) by using a given digital photograph of the object and producing the stereoscopic semi-images with the help of appropriate computer software. The work presents selected stereoscopic images of different microorganisms, which are in the focus of modern microbiological research. Based on this photographic material advantages and disadvantages of 3D imaging as well future expectations with respect to the optical technique are discussed.

K e y w o r d s : Stereoscopy, microbiology, bacteria, spores, pollen, stereo pair, 3D imaging.

Einleitung

Die Mikrobiologie beschäftigt sich im Allgemeinen mit Mikroorganismen. Dabei handelt es sich um Lebewesen, welche sich dem Auflösungsvermögen des Auges entziehen und demzufolge nur unter Zuhilfenahme von optischen Geräten (Licht-, Elektronenmikroskop) untersucht werden können. Zu den bedeutendsten Mikroorganismen zählen Bakterien, Pilze, einzellige Algen, Protozoen und Viren (SCHLEGEL 2004; CYPIONKA 2006). Die Mikrobiologie kann je nach behandelter Mikroorganismengruppe in unterschiedliche Spezialgebiete (Bakteriologie, Mykologie, Protozoologie, Virologie) untergliedert werden und gilt nach moderner Definition gleichermaßen als Teilgebiet der Biologie und der Medizin.

Die mikrobiologische Methodologie umfasst zahlreiche Untersuchungstechniken der Zytologie, Genetik, Ökologie, Biochemie und Systematik. Da Mikroorganismen in der Regel wesentlich kleiner als 1 Millimeter sind, treten zu diesen Methoden noch die bereits genannte Mikroskopie und spezielle Formen der Kultivierung hinzu (SCHLEGEL 2004; STURM 2015, 2018b). Unter den mikroskopischen Verfahren hat vor allem die Elektronenmikroskopie in den vergangenen Jahrzehnten schlagartig an Bedeutung gewonnen, da nur sie eine genaue Darstellung oberflächlicher und intrazellulärer Strukturen gewährleisten kann (GOLDSTEIN et al. 2003; STURM 2018a, 2018b, 2018c, 2018d). Gerade die Rasterelektronenmikroskopie hat sich im gleichen Zeitraum als beliebtes Anwendungsfeld der Naturwissenschaften für die dreidimensionalen Bildgebung herauskristallisiert, wobei entsprechende Visualisierungstechnik unter anderem ihren Gebrauch in der Entomologie, Kristallografie und Mikropaläontologie gefunden hat (STURM 2016a, 2016b, 2017a, 2017b, 2017c, 2017d).

Die Herstellung dreidimensionaler Bilder von kleinsten Untersuchungsobjekten stellt mittlerweile kaum mehr ein Problem dar und kann selbst von jenen Personen durchgeführt werden, die ansonsten nur wenige Berührungspunkte mit der Stereofotografie besitzen. Neben den klassischen Aufnahmeverfahren am Mikroskop (STURM 2016a, 2016b, 2017a) gibt es noch die Möglichkeit, alte Fotografien von Mikroorganismen einer digitalen Überarbeitung zu unterziehen, bei welcher mithilfe spezieller Methoden der Oberflächenmodellierung (Rendering) entsprechende Tiefeneffekte erzeugt werden (RAAP & CYPIONKA 2011; CYPIONKA et al. 2016; STURM 2017b, 2018a). Durch diese enorme methodische Vereinfachung werden der Stereoskopie zusätzliche Türen geöffnet, wodurch sie in Zukunft mit einiger Sicherheit zu einer Standardtechnik innerhalb des optischen Methodenspektrums avancieren wird.

Der vorliegende Beitrag unternimmt den Versuch einer Zusammenfassung möglicher Anwendungsfelder der elektronenmikroskopischen Stereofotografie in den unterschiedlichen Disziplinen der Mikrobiologie. Anhand umfangreichen Bildmaterials soll hier der Frage nachgegangen werden, inwieweit die dreidimensionale Visualisierung in den mikrobiologischen Wissenschaften sinnvoll erscheint und demzufolge über eine nennenswerte Zukunftsperspektive verfügt.

Material und Methoden

Herstellung von Stereobildpaaren

Zur Gewinnung der 3D-Bilder von Mikroorganismen können im Allgemeinen zwei unterschiedliche Verfahren zur Anwendung gebracht werden. Bei der klassischen Methode wird das im Elektronenmikroskop betrachtete Objekt aus zwei unterschiedlichen Blickwinkeln fotografiert, welche man durch simples Schwenken des Probenhalters geliefert bekommt. Der Winkel zwischen den beiden Betrachtungspositionen sollte dabei zwischen 2 und 10° liegen. Je höher dieser Wert ist, desto größer wird der Abstand zweier korrespondierender Punkte auf den beiden stereoskopischen Halbbildern (Deviation), was wiederum eine Intensivierung des Tiefeneffektes zur Folge hat. Überschreitet die Deviation einen gewissen Grenzwert, so gelingt dem Gehirn nicht mehr die Verschmelzung der Halbbilder und die Erzeugung eines Raumbildes (WHEATSTONE 1838; HELMHOLTZ 1910; SCHEIDEL 2009; STURM 2009, 2011, 2015, 2016a, 2016b, 2017a).

Neuere Methoden zielen auf die Erzeugung von Stereobildpaaren aus einer einzelnen elektronenmikroskopischen Fotografie ab. Zu diesem Zweck ist jedoch der Rückgriff auf spezielle Computersoftware wie beispielsweise PICOLAY (RAAP & CYPIONKA 2011; CYPIONKA et al. 2016) notwendig. Wie bereits in früheren wissenschaftlichen Beiträgen beschrieben wurde (STURM 2017a, 2018a, 2018b, 2018c, 2018d), legen derartige Programme ihren Fokus auf die Erstellung einer sogenannten Objekttiefenkarte, in welcher die für die Stereoskopie benötigte räumliche Information des aufgenommenen Gegenstandes gespeichert ist. Die Modellierung der Karte basiert auf der Annahme, dass zwischen Bildvordergrund und Bildhintergrund ein Helligkeitsgradient verläuft. Vom Betrachter weiter entfernte Objekte werden demzufolge dunkler abgebildet, näher liegende Gegenstände hingegen heller. Die Objekttiefenkarte wird letztlich als Grundlage dafür genommen, teilweise sichtbare Oberflächen in die Tiefe zu extrapolieren und damit deren (geringfügige) Drehbarkeit zu erwirken. Somit gelingt es schließlich wieder ein Ob-

jekt aus verschiedenen Perspektiven darzustellen und den gewünschten stereoskopischen Effekt zu erzeugen.

Betrachtung der Stereobildpaare

Um aus den beiden nebeneinander angeordneten Halbbildern den räumlichen Effekt herauszuextrahieren, gibt es grundsätzlich zwei Möglichkeiten. Die erste Möglichkeit sieht die Verwendung eines optischen Hilfsmittels (Stereobrille, Stereoskop) vor. Dabei gelangt durch spezielle Brechungs- beziehungsweise Reflexionsprozesse das Licht des linken Bildes lediglich in das linke Auge und das Licht des rechten Bildes ausschließlich in das rechte Auge. Diese getrennte Bildwahrnehmung hat zur Folge, dass durch den im Gehirn stattfindenden Fusionsvorgang ein mittleres Bild mit räumlicher Tiefe entsteht. Bei Fehlen von optischen Hilfsmitteln kann man sich auch sogenannter autostereoskopischer Blicktechniken bedienen, wobei der Kreuzblick vom Parallelblick zu unterscheiden ist. Eine genaue Anleitung zur Durchführung dieser Methoden kann früheren Publikationen entnommen werden (SCHEIDEL 2009; STURM 2016a, 2016b).

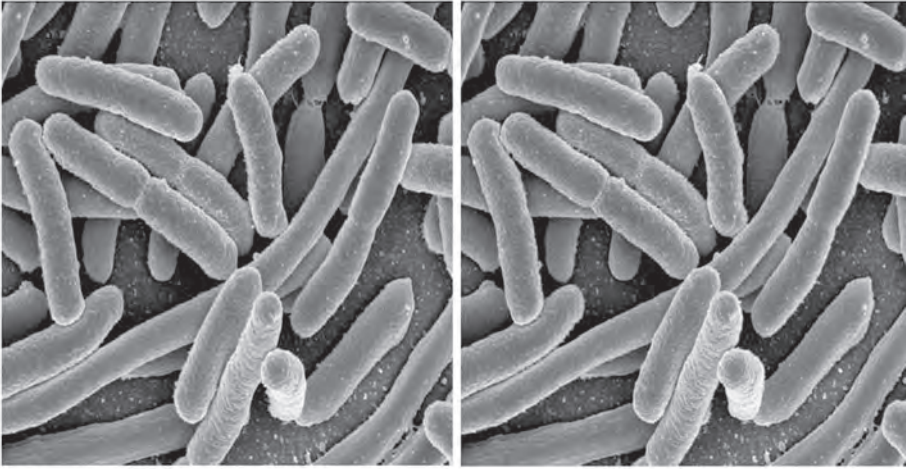
Ergebnisse

In der Bakteriologie spielen unter anderem jene im Darmtrakt des Menschen hausenden Prokaryoten eine bedeutende Rolle. Hier ist zunächst das Kolibakterium (*Escherichia coli*) zu nennen, welches zu den Bazillen (stäbchenförmige Bakterien) zählt und einen wesentlichen Teil der Darmflora definiert. Einzelne Zellen dieses Organismus verfügen über charakteristische zylindrische Form mit abgerundeten Ecken und teils unregelmäßiger Oberflächenstrukturierung. Die Länge des Kolibakteriums schwankt zwischen 2 und 6 μm , während sich seine Breite auf 0,5 bis 1 μm bemisst. Ein anderes Darmbakterium ist *Salmonella* sp., welches durch Verzehr verdorbener Lebensmittel (z. B. Fleisch, Speiseeis) in erhöhter Konzentration in den Verdauungstrakt gelangen und dort als Krankheitserreger auftreten kann. In Bezug auf seine Form und Größe sehen Salmonellen den Kolibakterien zum Verwechseln ähnlich (Abb. 1a, b).

Die Mykologie beschäftigt sich unter anderem mit den von verschiedenen Pilzen gebildeten Sporen, welche über die Atemwege oder die Nahrung in den menschlichen Körper transportiert werden können und dort nicht selten als Pathogene auftreten. Als Beispiel sei hier die Spore des Basidiomyzeten *Agaricus bisporus* gezeigt (Abb. 2a, b). Die im Fachjargon auch als Basidiosporen bezeichneten Strukturen enthalten in der Regel einen durch Meiose gebildeten haploiden Zellkern und treten zudem in Bündeln aus vier Einheiten auf. Jede Spore verfügt über einen hakenförmigen Anhang, mit dem sie am Basidium fixiert war. Die Formen der Zellkörper sind zumeist eher unregelmäßig, wobei diese durch das forcierte Loslösen der Haken vom Untergrund in großer Zahl freigesetzt werden können.

Aus dem Bereich der Protozoologie soll der Ziliat *Blepharisma japonica* zur näheren dreidimensionalen Veranschaulichung gelangen (Abb. 3a, b). Dieser hinsichtlich seiner Größe und Form mit dem Pantoffeltierchen vergleichbare Einzeller zeichnet sich in der lichtmikroskopischen Stereofotografie durch seinen prominenten Zellkern auf der einen Seite und die großen Verdauungsvakuolen (Lysosomen) sowie die zahlreichen Mikrofilamente auf der anderen Seite aus. Aus den sehr plastisch auf den Betrachter wirkenden

(a)



(b)

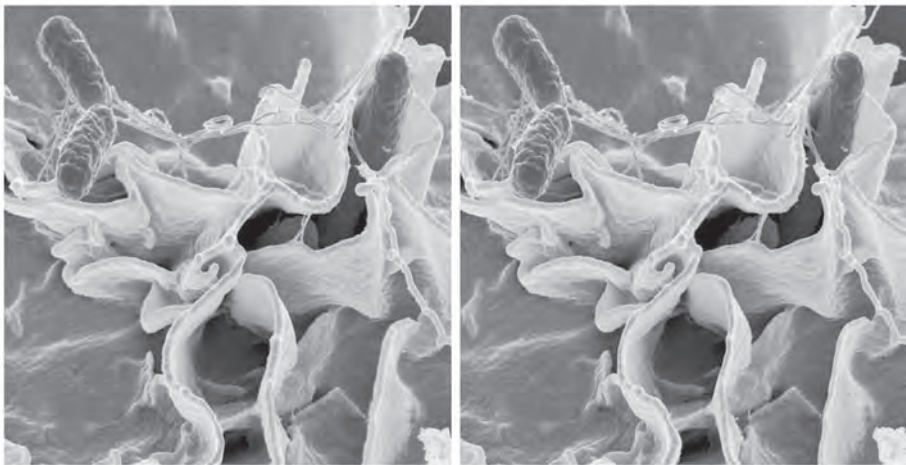
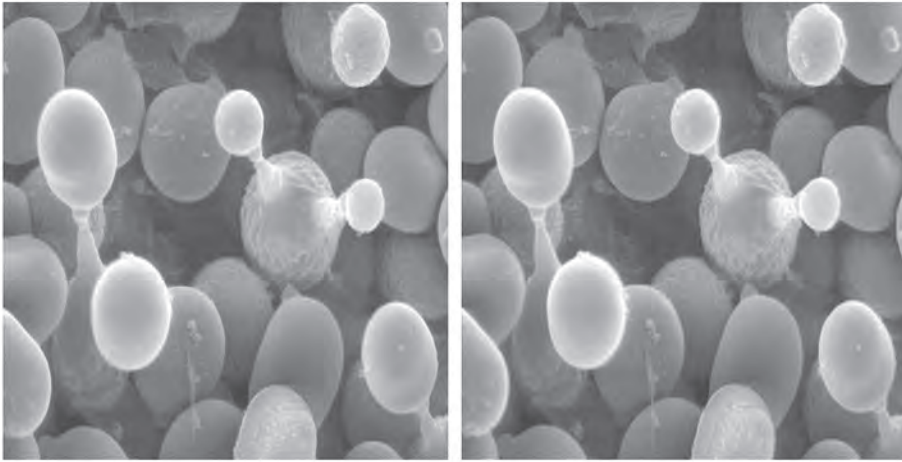


Abb. 1: Stereoskopische Bildbeispiele aus dem mikrobiologischen Spezialgebiet der Bakteriologie: (a) Stereobildpaar des Darmbakteriums *Escherichia coli*; (b) Stereobildpaar des ebenfalls in der Darmflora enthaltenen Bakteriums *Salmonella* sp.

Abbildungen wird deutlich, welche Dynamik in dem der heterotrophen Lebensweise nachgehenden Einzeller steckt.

Zuletzt sei noch ein kurzer Blick auf die Virologie geworfen, wobei die hier im Mittelpunkt stehenden Viren unter den Fachleuten nicht zu den Lebewesen gezählt, jedoch als dem Leben nahestehend betrachtet werden. Diese Kategorisierung haben sie dem Umstand zu verdanken, dass sie im Allgemeinen zur Replikation und Evolution befähigt sind. Da Viren nur innerhalb einer geeigneten Wirtszelle vermehrungsfähig sind, befallen

(a)



(b)

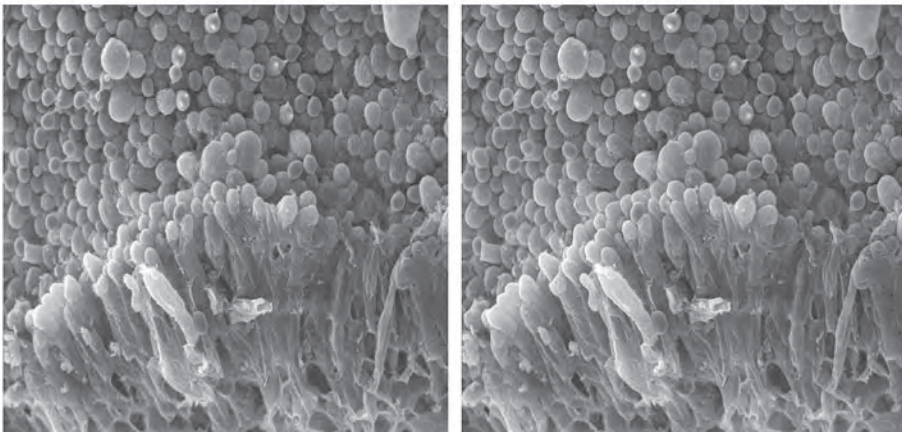


Abb. 2: Stereoskopische Bildbeispiele aus dem mikrobiologischen Spezialgebiet der Mykologie: (a) Stereobildpaar der Basidiosporen von *Angaricus bisporus*; (b) Stereoskopische Überblicksdarstellung von *A. bisporus* mit Myzel und einzelnen Sporenkörpern.

sie zumeist Eukaryoten und treten in diesem Zusammenhang oftmals als Krankheitserreger auf. Eines der gefährlichsten Pathogene ist sicherlich das Ebola-Virus, welches trotz seiner unspektakulären Morphologie (Abb. 4a) einen der gefährlichsten Vertreter in der modernen Epidemiologie darstellt. Auch das als Aids-Erreger in Erscheinung tretende menschliche Immundefektvirus verfügt über eine eher einfach gehaltene Oberflächenstruktur (Abb. 4b), die ein wenig über seine Pathogenität hinwegzutäuschen vermag.

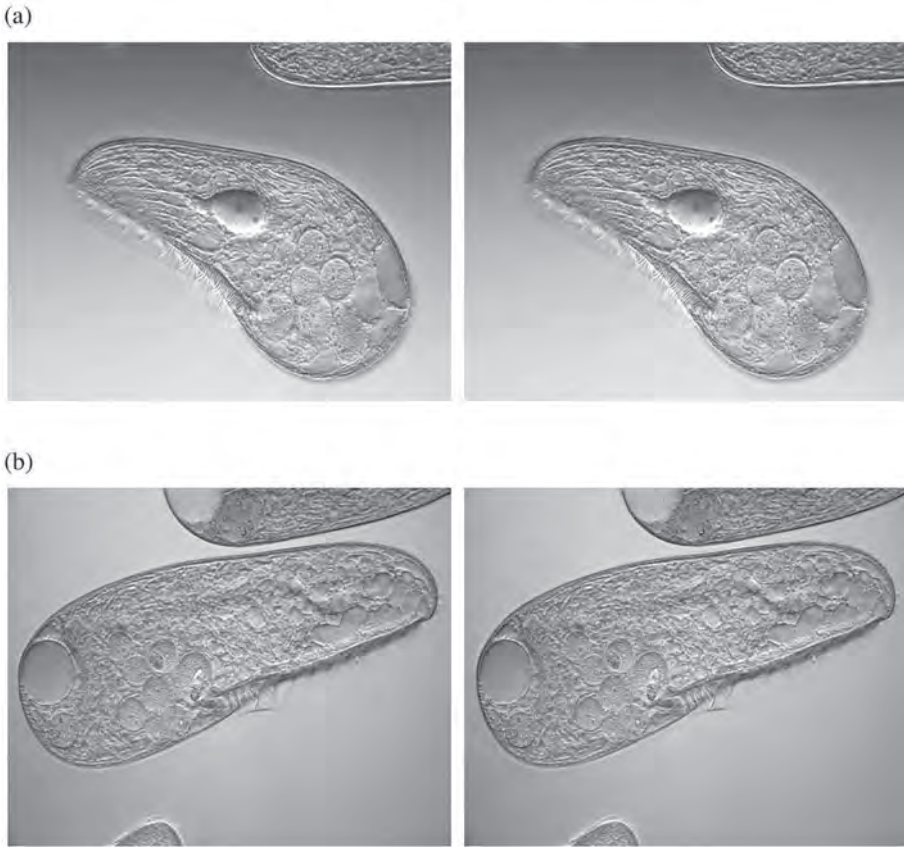


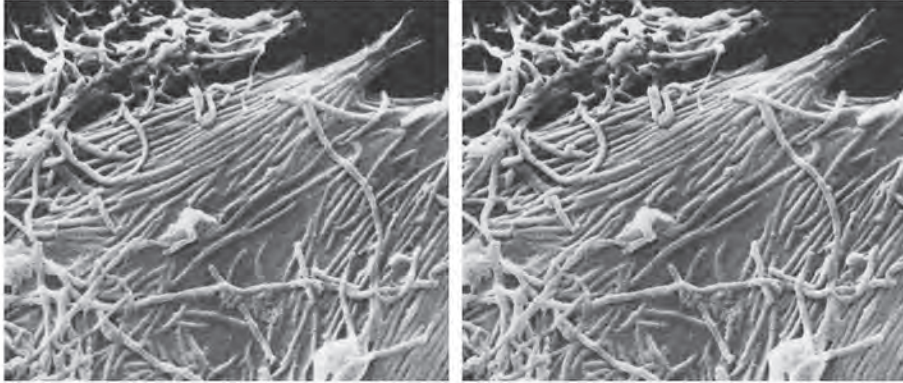
Abb. 3: Stereoskopische Bildbeispiele aus dem mikrobiologischen Spezialgebiet der Protozoologie: (a) Wimperntierchen *Blepharisma japonica* mit charakteristischem Zellkern und Vakuolen; (b) Andere Ansicht von *B. japonica*.

Diskussion

Wie bereits anhand zahlreicher vorangegangener Publikationen demonstriert werden konnte, bahnt sich die Stereoskopie kontinuierlich ihren Weg in den Naturwissenschaften (GOLDSTEIN et al. 2003; CYPIONKA et al. 2016; STURM 2013, 2015, 2016a, 2016b). Während dieses optische Visualisierungsverfahren in der Entomologie, Zellbiologie, Malakologie und Kristallografie schon weitgehend Fuß fassen konnte (STURM 2018a, 2018b, 2018c), gibt es auch noch Forschungsdisziplinen, welche bislang auf die Verwendung des Raumbildes größtenteils verzichteten. Zu diesen wissenschaftlichen Gebieten zählt von wenigen Ausnahmen abgesehen auch die Mikrobiologie, die jedoch über ein breites und sich ständig aktualisierendes methodisches Spektrum verfügt. Gerade im Bereich der Licht- und Elektronenmikroskopie gilt der zusätzliche Gewinn von räumlicher Information eines Untersuchungsobjektes oftmals als erstrebenswertes Ziel. Die zu diesem Zweck empfehlenswerte Anwendung stereoskopischer Techniken hat mittlerweile viel

von ihrer Komplexität verloren und stellt zudem keinen zeit- und kostenaufwendigen Faktor mehr dar, so dass einer Etablierung der Methode in den mikrobiologischen Forschungszweigen nichts mehr im Wege steht (STURM 2016a, 2016b).

(a)



(b)

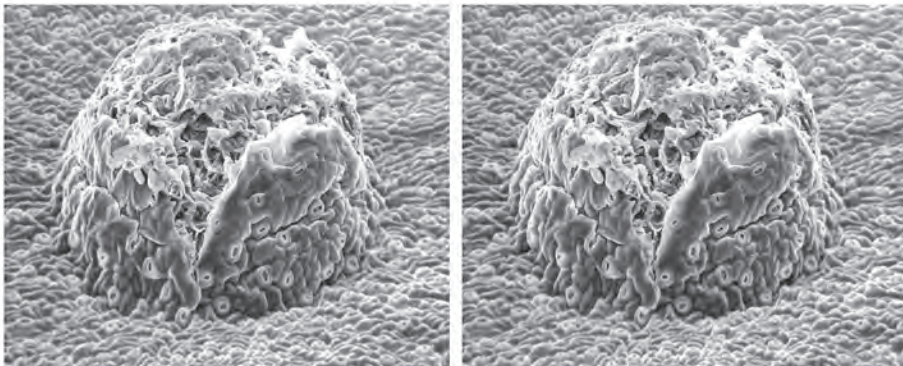


Abb. 4: Stereoskopische Bildbeispiele aus dem mikrobiologischen Spezialgebiet der Virologie: (a) Stereobildpaar des hochinfektösen Ebola-Virus; (b) Stereobildpaar des als Aids-Erreger in Erscheinung tretenden Immundefektvirus.

Die oben gezeigten Bildbeispiele bringen sehr klar zum Ausdruck, dass die stereoskopische Fotografie im Rahmen der Erkundung kleinster Lebewesen eine wichtige unterstützende Funktion anzunehmen vermag. Bei der mikroskopischen Untersuchung von Bakterien und Viren gelingt es mithilfe des Raumbildes beispielsweise, zusätzliche Erkenntnisse zu Morphologie und Oberflächenstruktur von einzelnen Objekten zu gewinnen. Darüber hinaus besteht noch die Möglichkeit, Wechselwirkungen dieser Mikroorganismen mit umliegenden Zellen oder Geweben auf effizientere und aussagekräftigere Art und Weise darzustellen (STURM 2018a, 2018b, 2018c). Bei der Lichtmikroskopie von Einzellern erfolgt durch Anwendung der stereoskopischen Methode eine teils signifikante Steigerung der Plastizität des abgebildeten Objektes, wodurch die Funktionalität einzel-

ner zellulärer Komponenten in einem klareren Licht erscheinen kann. All die genannten Punkte weisen darauf hin, dass die Stereofotografie auch in der Mikrobiologie ihren Platz einzunehmen und einen konstruktiven Beitrag zur Wissenserweiterung zu leisten vermag.

Während es den stereoskopischen Techniken mittlerweile gelungen ist, zahlreiche naturwissenschaftliche Disziplinen zu erobern und sich dort als Standardvisualisierungsmethode zu etablieren, blieben derartige Erfolge in der Mikrobiologie bislang noch aus. Trotz aller oben genannten Vorteile des Verfahrens und des Umstandes, dass dem Anwender kaum mehr zeitliche oder finanzielle Zusatzaufwendungen entstehen, steht die Stereoskopie in den mikrobiologischen Spezialdisziplinen noch am Anfang und bedarf weiterer Publikationen für ihre nachhaltige Festsetzung in diesem Wissenschaftsbereich.

Zusammenfassung

Der vorliegende Beitrag versucht mögliche Anwendungsfelder der Stereoskopie in den mikrobiologischen Wissenschaften zu veranschaulichen. Da die dreidimensionale Bildgebung während des vergangenen Jahrzehnts bedeutende Fortschritte in der Licht- und Elektronenmikroskopie gemacht hat, kann die Stereofotografie mittlerweile als effiziente Methode zur detaillierteren Erforschung von Mikroorganismen betrachtet werden. Die Erstellung von Stereopaaren kann auf unterschiedliche Art und Weise erfolgen: (1) durch fotografische Aufnahme des Untersuchungsobjektes aus zwei unterschiedlichen Blickwinkeln, (2) durch Verwendung einer Digitalaufnahme des Objektes und Produktion der stereoskopischen Halbbilder mithilfe geeigneter Computer-Software. Die Arbeit präsentiert ausgewählte Stereobilder unterschiedlicher Mikroorganismen, welche im Mittelpunkt der modernen mikrobiologischen Forschung stehen. Basierend auf diesem fotografischen Material sollen Vor- und Nachteile der dreidimensionalen Bildgebung sowie zukünftige Erwartungen gegenüber der optischen Technik diskutiert werden.

Literatur

- CYPIONKA H. (2006): Grundlagen der Mikrobiologie. — Heidelberg u. a. (Springer-Verlag): 412 pp.
- CYPIONKA H., VÖLCKER E. & M. ROHDE (2016): Stacking-Programm PICOLAY — Erzeugung virtueller 3D-Bilder mit jedem Lichtmikroskop oder REM. — *BIOspektrum* **22**: 143-145.
- GOLDSTEIN J.I., NEWBURY D.E., JOY D.C., LYMAN C.E., ECHLIN P., LITSHIN E., SAWYER L. & J.R. MICHAEL (2003): Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis. — New York (Springer): 378 pp.
- HELMHOLTZ H. (1910): Handbuch der physiologischen Optik, Bd. 3. — 523 pp., Hamburg, Leipzig (Leopold Voss-Verlag).
- RAAP E. & H. CYPIONKA (2011): Vom Bilderstapel in die dritte Dimension: 3D-Mikroaufnahmen mit PICOLAY. — *Mikrokosmos* **100**: 140-144.
- SCHEIDEL A.J. (2009): Stereoskopie in Bild und Video – Möglichkeiten, Anwendungen und Grenzen des räumlichen Sehens. — Mainz (Universität Mainz): 156 pp.
- SCHLEGEL H.G. (2004): Geschichte der Mikrobiologie. Stuttgart (Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft): 378 pp.
- STURM R. (2009): 3D photography of fossils: Ammonites from the Northern Limestone Alps in Austria. — *Dep. Mag.* **18**: 10-13.
- STURM R. (2011): 3D photographs of fossil gastropods from the ancient Paratethys ocean. — *Dep. Mag.* **24**: 12-15.

- STURM R. (2015): Die Stereofotografie biologischer Objekte. — BIUZ **45**: 52-55.
- STURM R. (2016a): Stereoskopie in Mathematik und Naturwissenschaften. — Göttingen (Cuvillier-Verlag): 127 pp.
- STURM R. (2016b): Die Stereofotografie und ihre Nutzung zur Klärung wissenschaftlicher Fragestellungen. — Mikroskopie **3**: 86-100.
- STURM R. (2017a): Stereoskopische Methoden in Mathematik und Naturwissenschaften. — Naturw. Rundsch. **70**: 168-174.
- STURM R. (2017b): Stereoscopic Photography in Transmitted Light Microscopy. — Microsc. Today **27**: 47-49.
- STURM R. (2017c): Cricket embryos in 3D. — Micscape Magazine, June 2017.
- STURM R. (2017d): Use of stereophotography in insect science – methods and applications. — Linzer biol. Beitr. **49** (2): 1209-1218.
- STURM R. (2018a): Stereofotografie in der Elektronenmikroskopie. Teil 1: Entomologie. — Mikroskopie **5**: 66-72.
- STURM R. (2018b): Stereophotography of malacological objects. — Linzer biol. Beitr. **50** (1): 723-731.
- STURM R. (2018c): Stereofotografie in der Elektronenmikroskopie. Teil 2: Mikropaläontologie. — Mikroskopie **5**: 129-136.
- STURM R. (2018d): Stereofotografie in der Elektronenmikroskopie. Teil 3: Kristallografie. — Mikroskopie **5**: 188-199.
- WHEATSTONE C. (1838): Contributions to the Physiology of Vision, Part the First, On Some Remarkable, and Hitherto Unobserved, Phenomena of Binocular Vision. — Phil. Trans. Royal Soc. London **128**: 371-394.

Anschrift des Verfassers: M M M M M Mag. Dr. Robert STURM
 Brunnleitenweg 41
 A-5061 Elsbethen, Österreich
 E-Mail: sturm_rob@hotmail.com

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Linzer biologische Beiträge](#)

Jahr/Year: 2019

Band/Volume: [0051_1](#)

Autor(en)/Author(s): Sturm Robert

Artikel/Article: [Zur Rolle der Stereoskopie in der Mikrobiologie 569-577](#)