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

Oberösterreichisches
Landesmuseum
II 90372/66
1977

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/
O.Ö. LANDESMUSEUM
BIBLIOTHEK

MIKROKOSMOS

Zeitschrift für angewandte Mikroskopie,
Mikrobiologie, Mikrochemie,
mikroskopische Technik

Herausgegeben von

DR. DIETER KRAUTER

Redaktion: Rainer Gerstle, Dr. Dieter Krauter

66. Jahrgang · 1977

Franckh'sche Verlagshandlung, W. Keller & Co., Stuttgart
Alle Rechte, besonders das Übersetzungsrecht, vorbehalten
Printed in Germany / Imprimé en Allemagne
Druck: Konrad Triltsch, Graphischer Betrieb, Würzburg

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

Adlmannseder, Dr. Anton, Der Schweinebandwurm (Taenia solium) — ein Schmarotzer mit vollendetem Haftapparat 41
Appelt, Dr. Heinz, **Meyer-Arendt,** Prof. Dr. Jürgen R., Farbkontraste in mikroskopischen Präparaten mit Hilfe von Verlaufinterferenzfiltern 224
Bartsch, Dr. Ilse, Meeresmilben im Sandlückensystem. Zwei Beispiele von Wegen der Anpassung 197
Becker, Dr. Ditmar P., Experimenteller Nachweis der biologischen Stickstoff-Fixierung 21
Bernhard, Paul, Nierenkörperchen mit Gefäß- und Harnpol 321
Birkenbeil, Helmut, Schimmelpilze im Unterricht. Morphologie und Physiologie von Alternaria tenuis 254
Bode, Dr. Fritz, Schnitt durch die Kopfhaut des Menschen 226
Bode, Dr. Fritz, **Horstmann,** L., **Wangorsch,** G., Mikrofotografie mit Lichtleiteroptik und Elektronenblitz 261
Büll, Dr. Lotar, Bildung der Fortpflanzungszellen bei der Grünalge Cladophora 113
Bukatsch, Prof. Dr. Franz, **Jung,** Prof. Dr. Josef, Einheimische Hölzer: Mikroskopische Untersuchung. 1. Nadelhölzer: Douglasie, Fichte und Tanne 69
Bukatsch, Prof. Dr. Franz, **Jung,** Prof. Dr. Josef, Einheimische Hölzer: Mikroskopische Untersuchung. 2. Nadelhölzer: Lärche und Kiefer 97
Bukatsch, Prof. Dr. Franz, **Jung,** Prof. Dr. Josef, Einheimische Hölzer: Mikroskopische Untersuchung. 3. Ringporige Laubhölzer: Eiche, Esche, Ulme 129
Bukatsch, Prof. Dr. Franz, **Jung,** Prof. Dr. Josef, Einheimische Hölzer: Mikroskopische Untersuchung. 4. Zerstreutporige Laubhölzer: Rotbuche, Pappel, Birke und Linde 169
Bukatsch, Prof. Dr. Franz, Das Breitwegerich-Blatt — ein günstiges Objekt zur Darstellung der Wasserleitungsfunktion 387
Burwitz, Peter, Eine sonderbare „Koloniebildung" des Rädertieres Philodina megalotrocha 293
Buxbaum, Prof. Dr. Franz, Kakteensamen unter Lupe und Mikroskop I. 268
Buxbaum, Prof. Dr. Franz, Kakteensamen unter Lupe und Mikroskop. II. Die steinharten Samen der Opuntioideen 307
Collegium Ambrosianum, Kurs II, Algen im Schülerpraktikum 54
Dawid, Dr. Wolfgang, Fruchtkörperbildende Myxobakterien. IV. Die Melittangium-Arten: M. lichenicola, M. boletus, M. alboraceum 73
Dawid, Dr. Wolfgang, Fruchtkörperbildende Myxobakterien. V. Die Polyangium-Arten: P. cellulosum, P. fumosum, P. sorediatum, P. vitellinum 364
Dietrich, Klaus, Der Schimmelpilz Phycomyces blakesleeanus. Ein günstiges Objekt zur Demonstration phototropischer Reaktionen 123
Dietrich, Klaus, Sporenkeimung beim Schimmelpilz Phycomyces 304
Dietrich, Klaus, Saugwurmlarven in Kiemen der Strandkrabbe Carcinus maenas 381
Drews, Rudolf, Randpartie eines Moosblättchens im Farb-Differential-Interferenzkontrast 280
Dunk, Dr. Kurt von der, Die Torfwand im Moor — unter dem Mikroskop 8
Dunk, Dr. Kurt von der, **Dunk,** Dr. Klaus von der, Laubmoose in fließendem Wasser 101
Dunk, Dr. Kurt von der, **Dunk,** Dr. Klaus von der, Vegetative Fortpflanzung bei Laubmoosen 341
Fricke, Jürgen, **Hoc,** Siegfried, Schneckenzungen 360
Friedl, Thomas, Zieralgen aus einem Stadtrandtümpel 374
Göke, Gerhard, Methoden der Fluoreszenzmikroskopie. 2. Die praktische Arbeit 24
Göke, Gerhard, Methoden der Fluoreszenzmikroskopie. 3. Schmalbandfluoreszenz 148
Göke, Gerhard, Konversionsfilter für die Farbmikrofotografie 82
Göke, Gerhard, Polarisationsmikroskopie in der Biologie. 1. Einführung und qualitative Beobachtungen 233
Göke, Gerhard, Polarisationsmikroskopie in der Biologie. 2. Quantitative Untersuchungen 263
Göltenboth, Dr. Friedhelm, Reifeteilungen der Spermatocyten beim Strudelwurm Mesostoma 106
Göltenboth, Dr. Friedhelm, Das Y-Chromosom in den Spermatocytenkernen der Taufliege Drosophila hydei 211
Grave, Eric, 100 Jahre New York Microscopical Society 99
Grave, Eric, Pantoffeltier im Interferenzkontrast 115
Grebel, Prof. Dr. Dieter, Leichen in den Tierfallen des Wasserschlauchs 172
Hauck, Arthur, Mitochondrienuntersuchungen an lebenden und fixierten Zellen 338
Hausmann, Dr. Klaus, Bakteriengeißeln 200
Hausmann, Dr. Klaus, Diatomeenschalen im elektronenmikroskopischen Bild 144
Hausmann, Dr. Klaus, Negativkontrastierung und Bedampfung. Präparationsmethoden für die Elektronenmikroskopie 175

II P0372/66
LANDESMUSEUM
BIBLIOTHEK
Inv.-Nr. 185/1977

Hausmann, Dr. Klaus, Osmoregulation bei Protozoen. Die pulsierende Vakuole des Pantoffeltieres 326
Hoc, Siegfried, **Fricke,** Jürgen, Schneckenzungen 360
Horstmann, L., **Wangorsch,** G., **Bode,** Dr. Fritz, Mikrofotografie mit Lichtleiteroptik und Elektronenblitz 261
Jentzen, Alfred, Aufgaben einer Mikrobiologischen Vereinigung. Beispiel: Die Mikroskopische Vereinigung Hamburg 232
Jung, Aribert, Pollen. Leicht beschaffbare Studienobjekte 384
Jung, Prof. Dr. Josef, **Bukatsch,** Prof. Dr. Franz, Einheimische Hölzer: Mikroskopische Untersuchung. 1. Nadelhölzer: Douglasie, Fichte und Tanne 69
Jung, Prof. Dr. Josef, **Bukatsch,** Prof. Dr. Franz, Einheimische Hölzer: Mikroskopische Untersuchung. 2. Nadelhölzer: Lärche und Kiefer 97
Jung, Prof. Dr. Josef, **Bukatsch,** Prof. Dr. Franz, Einheimische Hölzer: Mikroskopische Untersuchung. 3. Ringporige Laubhölzer: Eiche, Esche, Ulme 129
Jung, Prof. Dr. Josef, **Bukatsch,** Prof. Dr. Franz, Einheimische Hölzer: Mikroskopische Untersuchung. 4. Zerstreutporige Laubhölzer: Rotbuche, Pappel, Birke und Linde 169
Jurzitza, Prof. Dr. Gerhard, Pflanzengewebe unter dem Raster-Elektronenmikroskop. 11. Blatt-Typen 14
Jurzitza, Prof. Dr. Gerhard, Pflanzengewebe unter dem Raster-Elektronenmikroskop. 12. Die Epidermis 295
Kaufmann, Manfred, Vegetative und sexuelle Fortpflanzung beim Pantoffeltier Paramecium caudatum 286
Kaufmann, Manfred, Das Deckglas — Stiefkind des Mikroskopikers? 352
Koehler, Hartmut, Gregarinen als Beispiel für Entoparasiten 60
Koste, Walter, Das Rädertier-Porträt. Ptygura pedunculata, ein Rädertier mit kristallklarem Gehäuse 37
Krauter, Dr. Dieter, Drüse in der Haut einer Unke 30
Krauter, Dr. Dieter, Pollenmutterzellen der Lilie während der ersten Reifeteilung 83
Krauter, Dr. Dieter, Kleinmagnetrührer für das Mikrolabor 127
Kremer, Dr. Bruno P., Beobachtungen zur Blattanatomie an Pflanzen mit C_4-Photosynthese 315
Kremer, Dr. Bruno P., Die Adventiv-Rotalge Compsopogon hookeri 330
Lenzenweger, Rupert, Zieralgen aus Lappland 334
Lindauer, Dr. Rudolf, Ein Elektronenblitzgerät für Mikroaufnahmen 132
Lom, Dr. Jiri, Amyloodinium — ein Außenparasit an Aquarienfischen 33
Lustig, Karl, Die Lyraorgane der Spinnen 116
Mandl, Dr. Alexandra, Untersuchung der gebräuchlichsten Heilteemischungen. I. Husten- und Brusttees 309
Marwan, Wolfgang, Schwanzbildung beim Riesenwimpertier Blepharisma japonicum 357
Metze, Gottfried, und **Saake,** Erich, Ein Photomikroskop für die Phototasche 249
Meyer-Rochow, Dr. Viktor B., Zähne — eine vergleichend-anatomische Studie 301
Mischor, Bruno, Herstellung von Dünnschliffen tierischer Hartgewebe 153
Müller, Dr. Marliese, Nicht nur Fischfutter: Artemia salina. III. Modifikabilität 1
Negretti, Werner, Warum kann man sich an Gräsern schneiden? Sichtbar gemacht am Knäuelgras (Dactylis aschersoniana) 294
Nitzsche, Dr. Werner, Zur Herstellung von Karmin-Essigsäure: Beruht die Mengenangabe auf einem Kommafehler? 127
Noll, Dr. Manfred, Eine einfache Methode zur Sauerstoffbestimmung 86
Opitz, Hans, Moderne Textilfarbstoffe in mikroskopischen Farbfixiergemischen. Versuche mit neuen Kombinationen 119
Pareto, Alexander (Ref.), Dauerpräparate von mit Jodjodkali gefärbter Stärke in pflanzlichen Geweben 29
Pareto, Alexander (Ref.), Neue Methode zur Darstellung argyrophiler endokriner Zellen des Magen-Darm-Trakts 31
Pareto, Alexander (Ref.), Eine Modifikation der raschen Golgi-Methode für Amphibien- und Säugetiergehirne 61
Pareto, Alexander (Ref.), Mahons Myelinfärbung für in Celloidin eingebettetes Nervengewebe 62
Pareto, Alexander (Ref.), Paraffinschnitte von haploiden Pollenembryonen 62
Pareto, Alexander (Ref.), Anilinblau und Silbernitrat zur gleichzeitigen Darstellung von Zellkörpern und Faserbündeln im Zentralnervensystem verschiedener Entwicklungsstadien von Insekten 94
Pareto, Alexander (Ref.), Gleichzeitige Knorpel- und Knochendarstellung bei Totalpräparaten formol-fixierter Wirbeltiere 95
Pareto, Alexander (Ref.), Über den Einfluß verschiedener Fixiergemische auf tierisches Gewebe, insbesondere Säugetiermuskeln 95
Pareto, Alexander (Ref.), Eisen-Gallein-Färbung für elastische Fasern als Ersatz für die Verhoeffsche Hämatoxylin-Methode 126
Pareto, Alexander (Ref.), Kallose-Färbung mit Ponceau S für Dauerpräparate von pflanzlichem Material 157
Pareto, Alexander (Ref.), Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin zur Darstellung von Gliafasern 162

Pareto, Alexander (Ref.), Schnellmethode zur Darstellung der Zellkörper von Nervenzellen im Zentralnervensystem von Wirbellosen 195
Pareto, Alexander (Ref.), Einfaches Verfahren zur Herstellung von Serienschnitten von kleinen Blöcken harten Gewebes 196
Pareto, Alexander (Ref.), Färbung von Geweben von Nadelhölzern mit Lactopropiono-dimethylsulfoxid-carmin (LPDC) 196
Pareto, Alexander (Ref.), Wasserstoffsuperoxid und Essigsäure als Hilfsmittel zur Herstellung von Häutchenpräparaten von Koniferen-Nadeln 220
Pareto, Alexander (Ref.), Hydroxyäthyllactamid als Lösungsmittel für Vitalfarbstoffe 228
Pareto, Alexander (Ref.), Tieffrieren statt Fixieren beschleunigt die Herstellung von mit Baumwollblau gefärbten, pflanzlichen Totalpräparaten 228
Pareto, Alexander (Ref.), Eine einfache Silberlösung zur Färbung retikulärer Fasern 253
Pareto, Alexander (Ref.), Eine Bodian-Methode für aufgeklebte Gefrierschnitte 259
Pareto, Alexander (Ref.), Überblick über verschiedene Verfahren, pflanzliche Objekte durchsichtig zu machen 291
Pareto, Alexander (Ref.), Ausstrichverfahren zur Untersuchung der Chromosomen von Schmetterlingen 314
Pareto, Alexander (Ref.), Tannin-Eisenalaun-Reaktion als Methode der Wahl für makroskopische Gehirnschnitte, die in Kunststoff eingebettet werden sollen 322
Pareto, Alexander (Ref.), „Stains All" zur gleichzeitigen unterschiedlichen Anfärbung von Nucleinsäuren und Proteinen auf histologischen Präparaten mit Hilfe des J-Band-Effektes 322
Pareto, Alexander (Ref.), Eine Modifikation der Gleeschen Silbermethode für aufgeklebte Paraffinschnitte von normalem und degenerierendem Nervengewebe 322
Pareto, Alexander (Ref.), Über die Verwendung von Tinopal AN zur Darstellung von Bakterien in Pflanzengewebe 346
Pareto, Alexander (Ref.), Darstellung von Pilzhyphen in Kiefernadeln 354
Pareto, Alexander (Ref.), Vergleiche verschiedener Oxidationsmittel für Alaunhämatoxylin 354
Pareto, Alexander (Ref.), Sechsfarbenmodifikation der Movatschen Fünffachfärbung 354
Pareto, Alexander (Ref.), Neutralrot und Evansblau zur Unterscheidung lebender von toten Planktonorganismen 355
Pareto, Alexander (Ref.), Neues Einbettungsmedium für schwer schneidbares Material 356
Pareto, Alexander (Ref.), Eine Färbemethode für Milchröhren bei Hevea, dem Kautschukbaum 356
Pareto, Alexander (Ref.), Muskelfärbung für quantitative Untersuchungen und automatisierte Morphometrie 373
Pareto, Alexander (Ref.), Modifiziertes Verfahren zur Untersuchung der Blattepidermis von Getreidearten 382
Patzelt, Dr. Walter J., Reflexionskontrast. Eine neue lichtmikroskopische Technik 78
Perscheid, Andreas, Experimente zur Ammonifikation in Abwässern 348
Peters, Dr. Renate, Die Metamorphose der Mottenschildläuse 137
Peters, Prof. Dr. Werner, Gliederantenne eines Hundertfüßlers im polarisierten Licht 347
Pflugfelder, Prof. Dr. Otto, Phaosomaugen 246
Reinert, Guido Georg, Kaltlichtbeleuchtung in der Mikroskopie. Eine neuartige Durchlichtbeleuchtung 180
Reinert, Guido Georg, Der Objektrotator. Eine neue Objekthalterung zur allseitigen Betrachtung kleiner Gegenstände 284
Reiß, Dr. Jürgen, Verschimmeltes Brot im licht- und elektronenmikroskopischen Bild 274
Richter, Wolfgang, Gibt es pflanzliche Flagellaten mit drei Geißeln? Zur Funktion und Struktur des Haptonemas 239
Rietschel, Prof. Dr. Peter, Mikrokosmos — schon durch die Lupe 93
Rietschel, Prof. Dr. Peter, Fundgrube Feinschill. I. Einführung 282
Roeser, Kurt-Rainer, Die Luftwurzel der Orchidee Dendrobium 65
Roeser, Kurt-Rainer, Das Elektronentransportsystem der Chloroplasten. Mikroskopische Untersuchung 185
Roeser, Kurt-Rainer, Untersuchungen an isolierten Chloroplasten 216
Saake, Erich, **Metze,** Gottfried, Ein Photomikroskop für die Phototasche 249
Sauer, Dr. Frieder, Mit dem Mikroskop am Meer 221
Sauer, Dr. Frieder, Die Karpfenlaus als Parasit an Lurchen 19
Sauer, Dr. Frieder, Insektenschuppen unter dem Mikroskop 350
Sauer, Dr. Frieder, Das Moostierchen Plumatella repens 383
Schneider, Prof. Dr. Heinz, Volvox aureus-Kolonien mit Tochterkugeln und Eizellen 194
Schneider, Prof. Dr. Heinz, Massenauftreten des Flagellaten Colacium vesiculosum in einem Stadtparkweiher 229
Scholz, Heinz, Sorbit in der makroskopischen und mikroskopischen Präparationstechnik 5

Smolle, Josef, Histologisches Färben im Flüssigkeitsfilm 58
Stockem, Prof. Dr. W. und Mitarbeiter, Nahrungsaufnahme beim Pantoffeltier Paramecium caudatum. Versuche zur Phagocytose und Cyclose I. 163
Stockem, Prof. Dr. W. und Mitarbeiter, Nahrungsaufnahme beim Pantoffeltier Paramecium caudatum. Versuche zur Phagocytose und Cyclose II. 202
Streble, Dr. Heinz, Auge eines jungen Gepfriemten Zwergkalmars (Alloteuthis subulata) 63
Thaler, Prof. Dr. Helmut, Mikrosublimation von Farbstoffen I 158
Thaler, Prof. Dr. Helmut, Mikrosublimation von Farbstoffen II 190
Voß, Hans-Jürgen, Algen und biologische Abwasserreinigung. Untersuchungen über die Lebens- und Vermehrungsfähigkeit von Algen in Abwässern 207
Voß, Hans-Jürgen, Aufnahme organischer Verbindungen durch Grünalgen 378
Voßwinkel, Dr. Rolf, Das Auge. Präparationsanleitung und Auswertung 89
Wangorsch, G., **Horstmann,** L., **Bode,** Dr. Fritz, Mikrofotografie mit Lichtleiteroptik und Elektronenblitz 261
Weinert, Dr. Heinz, Die Entwicklung der Schließzellen des Porrees (Allium porrum). Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen 43

Sachregister

Abies balsamea 97
Abwasserreinigung, biologische 207
Acantholeberis curvirostris 173
Acaromantis armatus 199
Achtgabelzahnmoos 101
Adrenalin, spezifische Fluoreszenz 151
Adventiv-Rotalge 330
Aeolidia papillosa, Zunge 362
Äquifaziales Blatt 14
Ätheralkohol 162
Äthylennachweis 21
Aflatoxine 274
Akkommodation 92
Alaunhämatoxylin 354
Alcianblaulösung 95
Aleurochiton complanatus 143
Aleyrodes proletella 137
Aleyrodina 137
Algen 54, 56, 101, 207
Allium cepa, Fluoreszenzmikroskopie 26
Allium porrum, Schließzellenentwicklung 43
Alloteuthis subulata, Auge 63
Alonella exigua 173
Alternaria tenuis 254
Alveoläre Drüsen 30
Ammoniakalische Silbernitratlösung 322
Ammoniakalkohol 355
Ammonifikation 348
Amyloodinose 35
Amyloodinium 33
Anaphase 111
Anatomie, Vergleichende 301
Anilinblau 94
Anisotrope Objekte 263
Anisotropie 264, 280
Anomahalacarus minutus 199
Anthere 385
Archidoris tuberculata, Zunge 362
Area centralis 92
Argulus foliaceus 19
Arillus 307
Arillushaut 273
Artemia salina 1
Arteriole 321
Arthrodesmus bulnheimii 337
Arthrodesmus incus 335
Aspe 171
Aspergilus flavus 274, 277
Auflicht-Durchlicht-Mikroskop 261
Auge eines Gepfriemten Zwergkalmars 63
Auge, Präparationsanleitung 89
Augentierchen 378
Ausstrichverfahren 314
Außenparasiten an Aquarienfischen 33
Autolytus prolifer 223
Automatisierte Morphometrie 373
Azan-novum-Färbung nach Geidies 31
Azotobacter vinelandii 22
Baker-Lösung 340
Bakterien 28, 167, 200, 346
Bakteriengeißeln 200
Bakterien-Sporen, Nachweis 28
Bakterien-Zucht 167
Balkenzüngler 361
Balsamtanne 97
Bandwürmer 41
Bandzüngler 361
Barbital-Natrium-Puffer 62
Basacrylrot 120
Baumwollblau 228
Bedampfung 175
Belichtungsmesser 134
Belichtungszeit, Bestimmung 133
Bergulme 132
Berlinerblau-Methode 322
Betula verrucosa 171
Bildaufspaltung, differentielle 281
Biologische Abwasserreinigung 207
Binokular 93
Birke 169
Blatt, Breitwegerich- 387
Blattanatomie 315
Blattepidermis von Getreidearten 382

Blatt-Typen, REM-Untersuchung 14
Blaufilter für die Farbmikrofotografie 82
Blauviolettanregung 24
Blepharisma americanum 357
Blepharisma japonicum 357
Blinder Fleck 89
Blitzröhre 135
Blutregenalge 55
Bodians Entwickler 31
Bodian-Methode für aufgeklebte Gefrierschnitte 259
Bowmansche Kapsel 321
Breitbandfluoreszenz 148
Breitwegerich-Blatt 387
Brillantscharlach-Lösung 373
Brot, verschimmeltes 274
Brusttees 309
Brutkörbchen 343
Bryum argenteum 345
Bryum erythrocarpum 343
Bulbus 89, 92
C_4-Photosynthese 315
Carcinus maenas 381
Carnoy 157
Cercarien 381
Cestoden 41
Champy-Fixiergemisch 340
Chloralhydrat 386
Chlorella pyrenoidosa 378
Chloroplasten, Elektronentransportsystem 185
Chloroplasten, Isolierung 217
Chromfarbstoffe 121
Chromosomenuntersuchung 211, 314
Chrysochromulina chiton 243
Chrysochromulina parva 243
Chrysochromulina strobilus 242
Cibanalorange 121
Ciliaten 357
Cinclidotus aquaticus 102
Cinclidotus fontinaloides 102
Cladonia 12
Cladophora 113
Cladophora glomerata 101
Closterium cynthia 376
Clostridium 21
Coccolithinen 241
Coccolithophoriden 241
Coccolithus hyalinus 243
Colacium vesiculosum 229
Coli-Fleck-Methode 365
Colletotrichum acutatum 354
Compsopogon coeruleus 332
Compsopogon hookeri 330
Conus, Zunge 362
Cornea 89, 92
Corynebacterium insidiosum 346
Cosmarium botrytis 376
Cosmarium pseudoholmii 335
Cosmarium quadrifarium 335
Cosmarium taxichondrum 335
Crepidula formicata, Zunge 362
Cristallolithus hyalinus 243
Cyclose 163, 202
Dactylis aschersoniana 294
Datura innoxia 62
Dauerpräparate, pflanzliche 157
decamired-Werte 82
Deckglas 352
Defäkationsvakuolen 165
Dendrobium, Luftwurzel 65
Dentinzähne 302
Desmidiaceen, fädige 376
Desmidium swartzii 376
Desmosomen 31
Diakinese 84, 109
Dialeurodes 137
Diastole 326
Diatomeenschalen 144
Dichroismus 266
Dichroitische Substanzen, Nachweis 266
Dicranella cerviculata 11
Dicranum flagellare 345
Differentialinterferenzkontrast 281
Differentielle Bildaufspaltung 281
Dioptrie 92
Diplotän 84, 108
Discomyceten 12
Dispersion der Doppelbrechung 266
Docoglossa 361
Dopamin, spezifische Fluoreszenz 151
Doppelbrechung 263, 280
Douglasie, mikroskopische Untersuchung 69
Drosera 10
Drosophila hydei 211
Drüsen in der Haut einer Unke 30
Dünnschliffe tierischer Hartgewebe 153
Dulux-Super Enamel-Lack 354
Durchlichtbeleuchtung 180
Durchsichtigmachen pflanzlicher Objekte 291
Eiche 129
Eigendoppelbrechung 233, 265
Eigenfluoreszenz 24
Einbetten 154, 356
Einbettungsmedium für schwer schneidbares Material 356
Einheimische Hölzer 69, 97, 129, 169
Einschlußmittel 386
Einzeller 202, 229, 239, 286, 326, 357
Eisen-Gallein-Färbung für elastische Fasern 126
Eisenhämatoxylin, Weigertsches 355
Eizellen von *Volvox aureus* 194
Elektronenblitz 261
Elektronenblitzgerät 132
Elektronenmikroskopie 144, 175
Elektronentransportsystem der Chloroplasten 185
Epidermis 295
Epidermiszellen 295
Enteromorpha livida 332
Entoparasiten 60
Epoxid-Harze 196
Erste Reifeteilung 83, 107
Esche 129
Espe 171
Euastrum bidentatum 376
Euastrum didelta 376
Euastrum gemmatum 335
Euastrum lapponicum 335

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

Euastrum oblongum 376
Euastrum pinnatum 376
Euastrum verrucosum 335
Eudorina 55
Euglena gracilis 55, 378
Eutrophierung 57
Evansblau 355
Exine 385
FAA-Lösung 62
Fadenschnecke, Zunge 362
Fächerpalme 268
Fädige Desmidiaceen 376
Färbemethode für Milchröhren 356
Färbemethode für altes Rindengewebe 356
Färbemethode für junges Rindengewebe 356
Färbung elastischer Fasern mit Eisen-Gallein 126
Färbung retikulärer Fasern 253
Fagus silvatica 169
Farbdia-Aufnahmen mit Tageslichtfilm 133
Farb-Differential-Interferenzkontrast 280
Farbfixiergemisch zur Kernfärbung von Paramecium caudatum 287
Farbfixiergemische 119
Farbkontraste in mikroskopischen Präparaten 224
Farbmikrofotografie, Konversionsfilter 82
Farbstoffe, Mikrosublimation 158, 190
Faserbündeldarstellung im Zentralnervensystem von Insekten 94
Feinschill 282
Feldulme 132
Feuchte Kammer 365
Fichte 69
Filter, Bestimmung 82
Filter, lichtdämpfende 134
FITC 150
Fixiergemische 95
Flachblatt 14
Flagellaten 229, 239
Flagellaten, pflanzliche 239
Flagellen 200
Flatterulme 132
Flechten 12, 56
Fluoresceinisothiocyanat 150
Fluoreszenz, spezifische 151
Fluoreszenzmikroskopie 26, 148
Fluorochrome 24, 151
Fluorochromierung 26
Fluorochromlösung 26
Förderliche Vergrößerung 93
Fontinalis antipyretica 102
Formdichroismus, künstlicher 267
Formdoppelbrechung 233, 265
Formol-Calcium 340
Fortpflanzung beim Pantoffeltier 286
Fortpflanzung, vegetative 341
Fortpflanzungszellen, Bildung 113
Fovea centralis 92
Fraxinus excelsior 130
FRILUX-Köhler-Beleuchtung 183
Fruchtkörperbildende Myxobakterien 73, 364
Fünffachfärbung, Movatsche 354
Funiculus 273
Gefäßpol 321
Gehirnschnitte, makroskopische 322
Geißeln 200, 239
Gelatine, Sorbit- 7
Gelatine-Toluol-Modell 25
Geophilus 347
Georgia pellucida 343
Gepfriemter Zwergkalmar, Auge 63
Gesamtdoppelbrechung 265
Getreide, Blattepidermis 382
Gewebefärbung von Nadelhölzern 196
Gitterzahnmoos 101
Glanzkörper 246
Gleesche Silbermethode 322
Gliafasern, Darstellung mit Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin 162
Gliederantenne eines Hundertfüßlers 347
Glomerulum 321
Golgi-Methode 61
Graufilter, Neutral- 134
Graues Zwergkrebschen 173
Gregarina polymorpha 61
Gregarinen 60
Grünalgen 113, 378
Haarentwicklung 226
Haematococcus 55
Hämatoxylin 162
Häutchenpräparate von Koniferen-Nadeln 220
Haftapparat des Schweinebandwurms 41
Halacariden 197
Haliotis, Zunge 361
Haploide Pollenembryonen, Paraffinschnitte 62
Haptonema 239
Harnpol 321
Hartes Gewebe, Herstellung von Serienschnitten 196
Hartgewebe, tierische 153
Harz-Wachs-Gemisch 356
Haupts Gemisch 356
Hautdrüsen einer Unke 30
Heidenhains Hämatoxylin 340
Heilteemischungen 309
Helix pomatia, Zunge 362
Hellfeldbeobachtung 338
Hilum 273
Histologisches Färben im Flüssigkeitsfilm 58
Hochmoorsphagnen 8
Hölzer, einheimische 69, 97, 129, 169
Hoftüpfel 70
Hüpferling, Teich- 173
Hundertfüßler, Gliederantenne 347
Hustentees 309
Hyalotheca dissiliens 376
Hyalotheca mucosa 376
Hydroxyäthyllactamid 228
Hyphen 278
Imbibitionsmethode 267
Immersionskontrastverfahren 78
Immunfluoreszenz 149
Innersekretorische Zellen 31
Insekten, Zentralnervensystem 94
Insektenschuppen 350
Integument, Drittes 307

© Gustav Fischer Verlag GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

Interferenzkontrast 115, 280, 339
Interferenzkontrastmikroskopie 224
Interkinese 112
Interphase 111
Intine 385
Iris 92
Isolierung von Chloroplasten 217
Isopterygium elegans 345
Isotrope Objekte 263
Jamin-Lebedeff-Ausrüstung für Interferenzkontrast 115
Janusgrün 339
J-Band-Effekt 322
Käferschnecken, Zunge 363
Kakteensamen 268, 307
Kaliumpermanganatlösung 162
Kalkflagellaten 241
Kalkkörperchen 241
Kallose-Färbung mit Ponceau S 157
Kaltlichtbeleuchtung 180
Kameraaugen 63
Karmin-Essigsäure 84, 127
Karpfenlaus 19
Katecholamin, spezifische Fluoreszenz 151
Kationische Farbstoffe 120
Kegelschnecke, Zunge 362
Kernechtrotlösung 32
Kernfarbstoffe 121
Kernfärbung von *Paramecium caudatum* 287
Keulenhaare 343
Kiefer, mikroskopische Untersuchung 97
Kieselsäure 294
Kirkpatricks Fixiergemisch 346
Kleiner Wasserschlauch 172
$KMnO_4$-Fixierung 51
Knäuelgras 294
Knochendarstellung 95
Knopsche Nährlösung 357
Knorpeldarstellung 95
Köder-Methode 364
Köhlersches Beleuchtungsverfahren 263
Köpfchenschimmel 123, 304
Körnerdrüsen 30
Kokkolithen 241
Koloniebildung 293
Konidien 279
Koniferen-Nadeln, Häutchenpräparation 220
Konjugation bei *Paramecium caudatum* 289
Konjugation bei *Spirogyra* 54
Konversionsfilter 82
Kopfhaut des Menschen 226
Kristallviolett 120
Küchenzwiebel, Fluoreszenzmikroskopie 26
Künstlicher Formdichroismus 267
Lactophenol 228
Lactophenol-Baumwollblau 354
Lacto-propiono-dimethylsulfoxid-carmin 196
Lärche 97
Lampenbürstenschleifen des Y-Chromosoms 216
Lappländische Zieralgen 334
Larven, planktische 223
Laubhölzer, ringporige 129
Laubhölzer, zerstreutporige 169
Laubmoose 101, 341
Leitbündel 388
Lepidopleurus asselus, Zunge 363
Leptobryum pyriforme 342
Leptotän 84, 107
Leuchtmoos 343
Licht, polarisiertes 234
Lichtdämpfende Filter 134
Lichtleiteroptik 261
Lichtwahrnehmung bei Schnecken 246
Lilie, Pollenmutterzellen 83
Linde 169
Linsenkapsel 92
Littorina littorea, Zunge 361
Lodoicea maldivica 268
Lösungsmittel für Vitalfarbstoffe 228
LPDC 196
Luftwurzeln 65
Lugolsche Lösung 29
Lupe 93
Lunatia nitida, Zunge 361
Lungenschnecken, Zunge 362
Lurchparasiten 19
Lyraorgane 116
Macula lutea 92
Magnetrührer 127
Mahons Myelinfärbung 62
Mais, Blattanatomie 315
Makroskopische Gehirnschnitte 322
Makroskopische Konservierung mit Hilfe von Sorbit 7
Mantelaugen 247
Markstrahltracheiden 70
Maxillonfarbstoffe 120
Meeresmilben 197
Mehrfachbelichtung 135
Meiose 83, 107
Melittangium alboraceum 77
Melittangium boletus 76
Melittangium lichenicola 74
Meristematische Schließzellen 50
Mesocyclops leuckarti 173
Mesophyll 14, 388
Mesostoma, Reifeteilungen der Spermatocyten 106
Mesostoma ehrenbergii 106
Mesotaeniales 374
Metacercarien 381
Metallkomplexfarbstoffe 120
Metamorphose 137
Metaphase 109
Methylenblau 36
Methylgrün 120
Methylmethacrylat 154
Micrasterias brachyptera 335
Micrasterias rotata 353, 375
Micrasterias truncata 376
Microscopical Society New York 99
Mikrobiologische Vereinigung Hamburg 232
Mikrofotografie 78, 82, 115, 132, 152, 180, 249, 261
Mikrofotografie, farbige Fluoreszenzbilder 152
Mikrosublimation von Farbstoffen 158, 190
Mikrotubuli 326

Milchröhren-Färbung 356
Mimese 37
Miracidium 381
Mitochondrien 338
MMA 154
Moorkrebs 173
Moosbeere, Blattquerschnitt 13
Moosblättchen, Randpartie 280
Moose 101, 341
Moostierchen 383
Morphometrie, automatisierte 373
Mottenschildlaus, Metamorphose 137
Movatsche Fünffachfärbung 354
Mucopolysaccharide, Nachweis 120
Mucoraceen 123, 304
Mulligans Lösung 322
Muskelfärbung 373
Mycetocyten 142
Mycetomzellen 142
Mycotoxine 274
Myelinfärbung von Nervengewebe 62
Myriapoden 347
Myxobakterien, fruchtkörperbildende 73, 364
Myxosporen 368
Nachweis der Stärkespaltung 258
Nachweis der biologischen Stickstoff-Fixierung 21
Nachweis dichroitischer Substanzen 266
Nachweis von Bakterien-Sporen 28
Nachweis von Plasmodien 28
Nachweis von sauren Mucopolysacchariden mit Maxillonfarbstoffen 120
Nachweis von Trypanosomen 28
Nachweis von Tuberkulose-Bakterien 29
Nadelhölzer 69, 97
Nadelhölzer, Gewebefärbung 196
Nährlösung für *Azotobacter vinelandii* 22
Nährlösung für *Paramecium caudatum* 286
Nährlösung für Schimmelpilze 306
Nahrungsaufnahme beim Pantoffeltier 163, 202
Nahrungsvakuolen 164
Naphtholgrün B-Lösung 355
Napfschnecke, Zunge 361
Natriumjodatlösung 162
Nautas Reduktionslösung 322
Navashins Gemisch 157
Negative Doppelbrechung 263
Negativer Dichroismus 267
Negativkontrastierung 175
Nephron 321
Nervengewebe, Myelinfärbung 62
Netrium digitus 374
Neurospora crassa 277
Neutral-Graufilter 134
Neutralrot 355
New York Microscopical Society 99
Nicotiana tabacum 62
Nierenkörperchen 321
Noradrenalin, spezifische Fluoreszenz 151
Nucella lapillus, Zunge 362
Nucleinsäure, Anfärbung 322
Objekthalter 284
Objektrotator 284
Octodiceras julianum 101
Opuntioideen-Samen 307
Ora terminalis 92
Orcein-Essigsäure 84
Orchideen, Luftwurzel 65
Orthotrichum lyellii 342
Ortolanrot 121
Osmose 326
Osmoregulation 326
OsO_4-Fixation 50
Oxalsäurelösung 94
Oxidationsmittel 354
Pachytän 84, 108
Palisadenparenchym 14
Pantoffelschnecke, Zunge 362
Pantoffeltier 115, 166, 202, 286, 326
Pantoffeltier, Nahrungsaufnahme 163, 202
Papilla optica 92
Pappel 169
Paramecium caudatum 115, 163, 166, 202, 286, 326
Paraphyllien 343
Parasiten 19, 41, 60, 381
Patella vulgata, Zunge 361
Penicillium expansum 277
Pfeilzungenschnecken, Zunge 362
Pflanzengewebe 295
Pflanzliche Flagellaten 239
Pflanzliche Objekte, Durchsichtigmachen 291
Pflanzliche Totalpräparate 228
Phagocytose 163, 202
Phaosomaugen 246
Phasenkontrast 339
Philodina megalotrocha 293
Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin 162
Phosphorwolframsäure-Phosphormolybdänsäure 355
Photomikroskop 249
Photosynthese, C_4- 315
Phototropische Reaktionen 123
Phycomyces-Arten 123, 304
Pigmentepithel 92
Pilotlichtquelle 261
Pilzhyphen 278, 354
Pinus maritima 97
Pinus nigra 97
Pinus resinosa, Pollenfärbung 196
Pinus silvestris 97
Planktische Larven 223
Plantago maior, Blatt 387
Plasmalemma 327
Plasmodien, Nachweis 28
Plastide der meristematischen Schließzellen 52
Platychrysis 239
Pleurotaenium nodosum 335
Plumatella repens 383
Polarisationsfilter 234
Polarisationsmikroskopie 233, 263
Polarisiertes Licht 234, 347
Polfilter 134, 236
Polfilter, verkittete 236
Pol-Folie 236
Pollen 384
Pollenembryonen, Paraffinschnitte 62
Pollenfärbung von *Pinus resinosa* 196

Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbe

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten

Pollenkorn 385
Pollenmutterzellen der Lilie 83
Polyangium cellulosum 364
Polyangium fumosum 364
Polyangium sorediatum 364
Polyangium vitellinum 364
Polyplacophora 363
Polytrichum strictum 12
Populus alba 171
Populus nigra 171
Populus tremula 171
Ponceau S-Färbelösung 157
Porree, Schließzellenentwicklung 43
Positive Doppelbrechung 263
Positiver Dichroismus 267
Potamides obtusus, Mantelauge 247
Präparation eines Auges 89
Präparation der Spermatocytenkerne 212
Präparationsmethoden für die Elektronenmikroskopie 175
Prometaphase 109
Prospektive Potenz 226
Protami 250
Protein, Anfärbung 322
Protozoen 202, 229, 239, 286, 326, 357
Prymnesium parvum 242
Ptygura longipes 39
Ptygura pedunculata 37
Ptygura pilula 39
Ptygura tihanyensis 293
Puffer zur Isolierung von Chloroplasten 217
Pulmonaten, Zunge 362
Pulsierende Vakuole 326
Quellenmoos 101
Quercus robur 130
Querteilung von *Paramecium caudatum* 287
Radula 303, 360
Rädertiere 37, 293
Raspelzunge 303
RB 200 151
Reaktivfarbstoffe 121
Reduktionsteilung 83, 107
Reflexionskontrast 78
Regaud-Gemisch 340
Reifeteilungen 83, 106
Reinberg-Beleuchtung 115
Reißzahnzunge 362
Remacol 121
REM-Untersuchung 14, 295
Resorcinfuchsin 355
Resorptionsvakuolen 165
Retikuläre Fasern, Färbung 253
Retina 92
Rhizobium 21
Rhodamin RB 200 151
Rhodophyceae 330
Riesenwimpertier 357
Rindengewebe, Färbung 356
Rindenparenchymzellen-Färbung 356
Ringporige Laubhölzer 129
Rohabwasser-Reinigung 208
Rosafilter für die Farbmikrofotografie 82
Rosamin B 151
Rostellum 41
Rotalge, Adventiv- 330
Rotbuche 169
Saccharum officinale, Blattanatomie 315
Säugetiermuskeln, Fixiermitteleinfluß 95
Safranfärbung 355
Samen der Fächerpalme 268
Samenanhang 273
Samenschale 273
Samenstrang 273
Sandlückensystem 197
Sauerstoffbestimmung nach Hofer 86
Sauerstoffbestimmung nach Winkler 86
Saugwurmlarven 381
Scenedesmus obliquus 378
Scharlachfarbenmischung 355
Scheibenpilze 12
Schichtenmischkörper 265
Schimmelpilze 123, 254, 274, 304
Schistosoma haematobium 382
Schistostega pennata 343
Schleimdrüsen 30
Schließzellen, Entwicklung 43
Schließzellen, meristematische 50
Schließzellenmutterzelle 43
Schmalbandfluoreszenz 148
Schmarotzer 41
Schmetterlings-Chromosomen, Untersuchung 314
Schneckenaugen 247
Schneckenzungen 360
Schneiden 356
Schrägbeschattung 178
Schraubenalge, Konjugation 54
Schraubentracheiden 70
Schwammparenchym 14
Schwanzbildung bei *Blepharisma japonicum* 357
Schwarzkiefer 97
Schwarzpappel 171
Schweinebandwurm 41
Schwer schneidbares Material 356
Sclera 93
Scolex 42
Sechsfarbenmodifikation 354
Seeohr, Zunge 361
Semipermeable Wand 327
Serienschnitte von hartem Gewebe 196
Sexuelle Fortpflanzung beim Pantoffeltier 286
Seychellen-Nuß, Samen 268
Silberlösung 253
Silbermethode, Gleesche 322
Silbermoos 345
Silbernitratlösung 94
Silbernitratlösung, ammoniakalische 322
Sonnentau 10
Sorbit 5
Sorbit-Gelatine 7
Spermatocyten, Reifeteilungen 106
Spermatocytenkerne der Taufliege 211
Spermatocytenkerne, Präparation 212
Spezifische Fluoreszenz 151
Sphagnen, Hochmoor- 8
Sphagnum acutifolium 8
Sphagnum cimbifolium 8
Sphagnum cuspidatum 8

Sphagnum medium 8
Sphagnum squarrosum 10
Spinnen, Lyraorgane 116
Spirogyra, Konjugation 54
Spirotaenia condensata 374
Spirotaenia obscura 374
Spongioplasma 326
Sporangien 368
Sporenkeimung 304
Sporentierchen 60
Sporozoa 60
Spreizzahnradula 361
Stärke, Dauerpräparate 29
Stärkespaltung 258
Stains All 322
Starrzahn-Radula 361
Staurastrum-Arten 337
Stengelparenchym 387
Stenoglossa 362
Sternschnecke, Zunge 362
Stickstoff-Fixierung, Nachweis 21
Stieleiche 130
Stomata 53
Strandkiefer 97
Strandkrabbe 381
Strandschnecke 361
Strophiola 273
Strudelwurm, Reifeteilungen der Spermatocyten 106
Struggersches Gelatine-Toluol-Modell 25
Struggersches Zellulosemodell 25
Süßwasserbryozoen 383
Süßwasserrotalge 331
Supracenviolett 121
Systole 326
Taenia solium 41
Taenioglossa 361
Tanne, mikroskopische Untersuchung 69
Tannin-Eisenalaun-Reaktion 322
Tapetum lucidum 93
Tartrazinlösung 373
Taufliege, Spermatocytenkerne der 211
Teich-Hüpferling 173
Testa 273
Tetramethylrhodaminisothiocyanat 151
Textilfarbstoffe 119
Texturdoppelbrechung 233
Thylakoidbildung 50
Tieffrieren pflanzlicher Totalpräparate 228
Tierfallen 172
Tierisches Gewebe, Fixiermitteleinfluß 95
Tierische Hartgewebe, Dünnschliffe 153
Tilia cordata 172
Tinopal AN 346
Tochterkugeln von *Volvox aureus* 194
Toluidinblaulösung 195
Torfmoos 8
Totalpräparate, pflanzliche 228
Toxoglossa 362
Tracheiden von Nadelhölzern 70
Tradescantia-Chloroplasten 217
Trematoden 381
Trialeurodes vaporaroirum 137
TRITC 151
Triphenylmethanfarbstoffe 120
Triploceras gracile 335
Trypaflavin 36
Trypanosomen, Nachweis 28
Tuberkulose-Bakterien, Nachweis 29
Ulme 129
Ulmus carpinifolia 132
Ulmus glabra 130, 132
Ulmus laevis 132
Ultrahistologie der meristematischen Schließzellen 50
Unifaziales Blatt 14
Utricularia minor 172
Vaccinium oxycoccus, Blattquerschnitt 13
Vakuole, pulsierende 326
Vegetative Fortpflanzung 286, 341
Velamen radicum 65
Verdauungsvakuolen 164
Vergleichende Anatomie der Zähne 301
Verhoeffsche Hämatoxylinfärbung 126
Verkittete Polfilter 236
Verlaufinterferenzfilter 224
Verschimmeltes Brot 274
Vierzahnmoos 343
Vitalfarbstoffe, Lösungsmittel für 228
Vitalfluorochromierung 25
Vitalfärbung mit Janusgrün 339
Vitaluntersuchung 338
Volvox 55, 194
Volvox aureus 194
Vorharn 321
Waldkiefer 97
Wassermoose 101
Wasserschlauch, kleiner 172
Wasserspeichergewebe 14
Weigertsches Eisenhämatoxylin 355
Weinbergschnecke, Zunge 362
Widertonmoos 12
Wimpertiere 357
Wirbellose, Zentralnervensystem 195
Wollastonprisma 281
Xanthidium antilopaeum 376
Xanthidium cristatum 335
Xeromorphie 14
Y-Chromosom 211
Zähne 301
Zea mays, Blattanatomie 315
Zellkörperdarstellung 94, 195
Zellulosemodell nach Strugger 25
Zentralnervensystem 94, 195
Zerstreutporige Laubhölzer 169
Zieralgen 334, 353, 374
Zitterpappel 171
Zucht von Bakterien 167
Zucht von *Drosophila hydei* 211
Zucht von *Paramecium caudatum* 166, 286
Zuckeralkohol Sorbit 5
Zuckerrohr, Blattanatomie 315
Zweite Reifeteilung 112
Zwergkalmar, Gepfriemter 63
Zwergkrebschen, Graues 173
Zygotän 84, 107
Zylindermischkörper 265

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbe

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

Christen, H. R., **Freytag,** Kurt: Chemie organischer Naturstoffe (Ref. Prof. Dr. F. Bukatsch) 227
Hayat, M. A., Principles and Techniques of Electron Microscopy. Vol. 6 (Ref. Prof. Dr. G. Jurzitza) 64
Helmdach, F.-F., Leitfaden zur Bestimmung fossiler und rezenter Ostrakoden (Ref. Dr. H.-J. Oertli) 323
Hirschmann, W. (Hrsg.), Acarologie. Schriftenreihe für vergleichende Milbenkunde (Ref. Dr. Egon Popp) 323
Kater, S. B., **Nicholson,** C., editors: Intracellular Staining in Neurobiology (Ref. Alexander Pareto) 290
Klein, K., Praktische Biochemie (Ref. Dr. B. Kremer) 64
Todt, D. (Hrsg.): Funkkolleg Biologie 1 und 2 (Ref. H. Bahr) 227

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

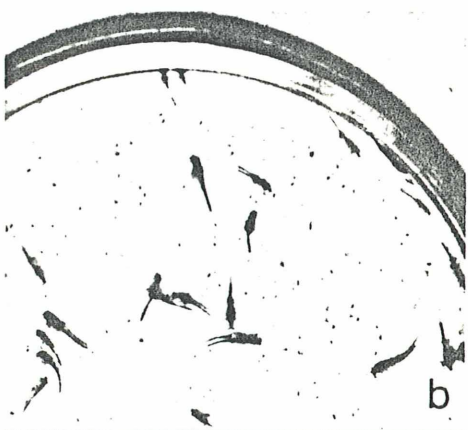
Marliese Müller

Nicht nur Fischfutter: Artemia salina

III. Modifikabilität

Im vorhergehenden Teil wurde *Artemia salina* als eine Art bezeichnet, die fähig ist, große Schwankungen im Salzgehalt ihres Lebensmilieus zu ertragen. Inwieweit diese Aussage zutrifft und welchen Einfluß unterschiedliche Salzkonzentrationen auf die Tiere haben, soll wiederum ein leicht nachvollziehbares Experiment darlegen. Es handelt sich um einen Versuch unter Extrembedingungen, wie sie in der Natur nur sehr selten vorkommen dürften: Die Tiere werden nicht mehr oder weniger langsamen Veränderungen der Salzkonzentration ausgesetzt, sondern in zwei- bis dreiprozentigem Medium frisch geschlüpfte Larven werden auf vier Gefäße mit vier-, zehn-, sechzehn- und achtzehnprozentiger Artemiensalzlösung verteilt und, wie in Teil I beschrieben, bis zur Geschlechtsreife aufgezogen. Die Resultate eines solchen Experimentes auf morphologischem Gebiet sind in den Bildern 1—5 festgehalten.

Die Bilder 1 a—c zeigen in gleichem Größenmaßstab vier Wochen alte Artemien aus den Konzentrationsstufen 4, 10 und 18%. In den Bildern 2 a—d sind vier geschlechtsreife männliche Tiere aus den einzelnen Konzentrationsstufen zum Größenvergleich abgebildet. Auf den ersten Blick ist auffällig, daß die Tiere um so kleiner geblieben sind, je höher die Salzkonzentration ist, in der sie leben. Die Längenmaße variieren etwa zwischen 12 und 7 mm. Außerdem sind die Individuen aus hohen Konzentrationen insgesamt zierlicher im Bau als die aus niederen Salzkonzentrationen. Aus Bild 3 geht eine parallel erfolgende Proportionsverschiebung hervor: Die Tiere sind





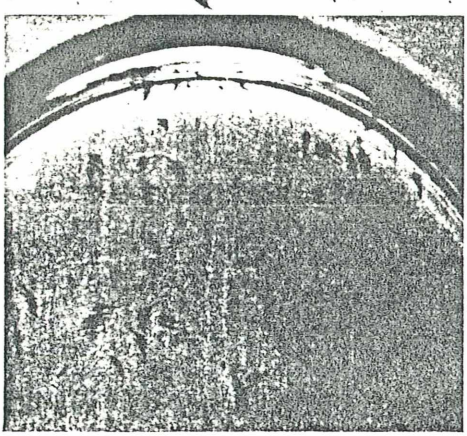


Bild 1: Vier Wochen alte Artemien, in 4%iger (a), 10%iger (b) und 18%iger (c) Artemiensalzlösung aufgewachsen. Größenvergleich.

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

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

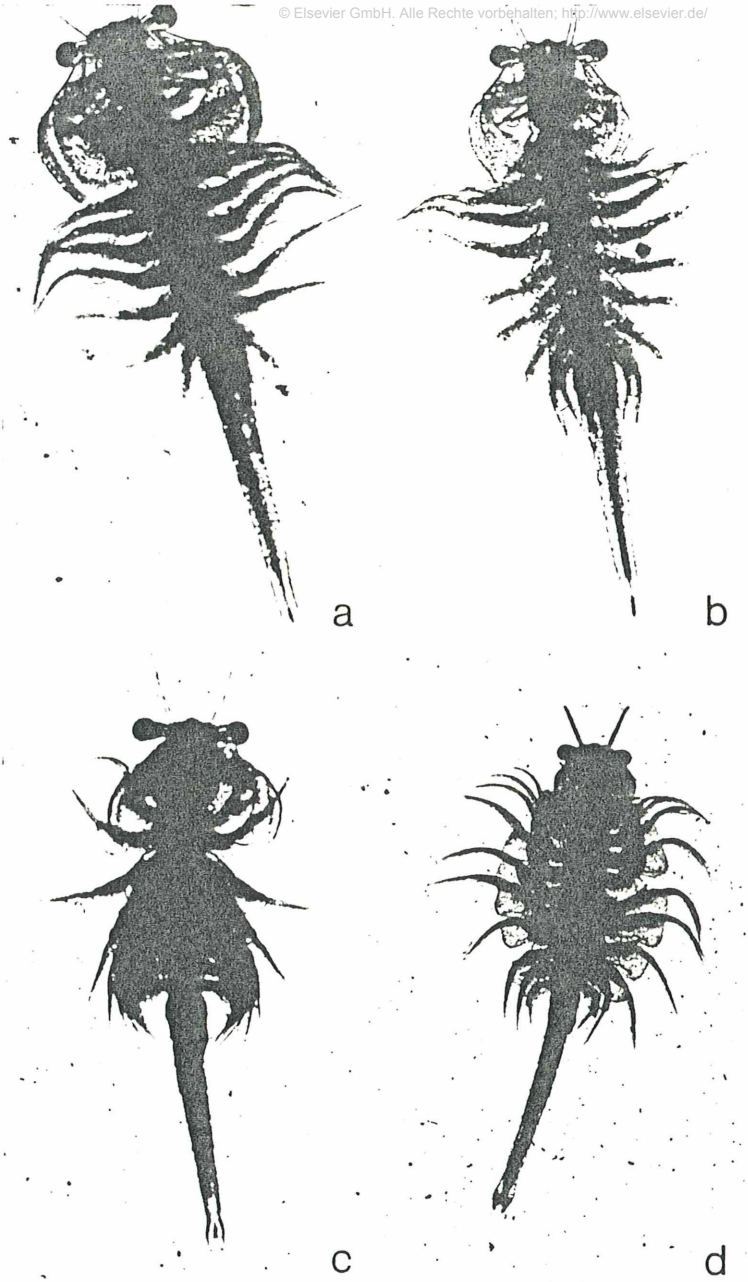


Bild 2: Erwachsene männliche Artemien aus 4‰igem (a), 10‰igem (b), 16‰igem (c) und 18‰igem (d) Zuchtmedium. Größenvergleich.

Teil I „Larvalperiode" erschien in Mikrokosmos 65, H. 11, 325—329, 1976, Teil II „Erwachsene Artemien" in Mikrokosmos 65, H. 12, 363—366, 1976.

auf dieselbe absolute Thoraxlänge vergrößert worden. Dabei wird deutlich, daß der Anteil des Abdomens an der Gesamtlänge mit Erhöhung der Salzkonzentration steigt. (Statt des in Bild 2 dargestellten Männchens zeigt Bild 3 ein Weibchen aus derselben Zucht, da das männliche Tier wegen seiner gekrümmten Körperhaltung für die Proportionsdarstellung ungeeignet war.)

Die Bilder 4 a—d geben die Veränderungen wieder, die die Furca erfährt: Je höher die Salzkonzentration, desto stärker werden ihre beiden Blätter und die Anzahl der auf ihr inserierenden Borsten reduziert. Die Durchschnittswerte sinken von ca. 24 Borsten in 4‰iger auf ca. 6 Borsten in 18‰iger Salzlösung ab.

Während die bis hierhin geschilderten Ein-

© Biologiezentrum Linz/Austria; download unter www.biologiezentrum.at

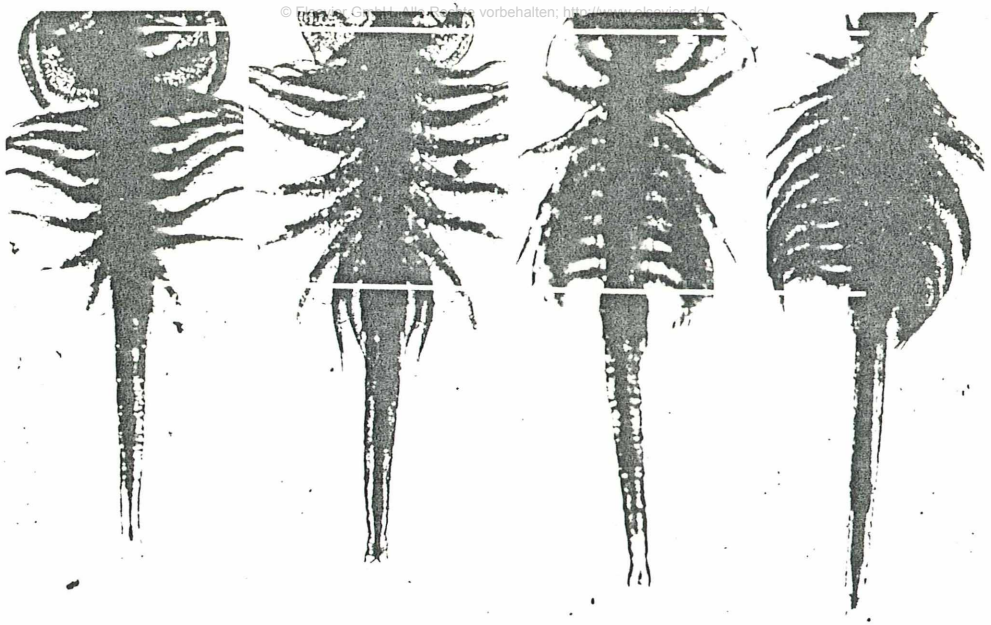
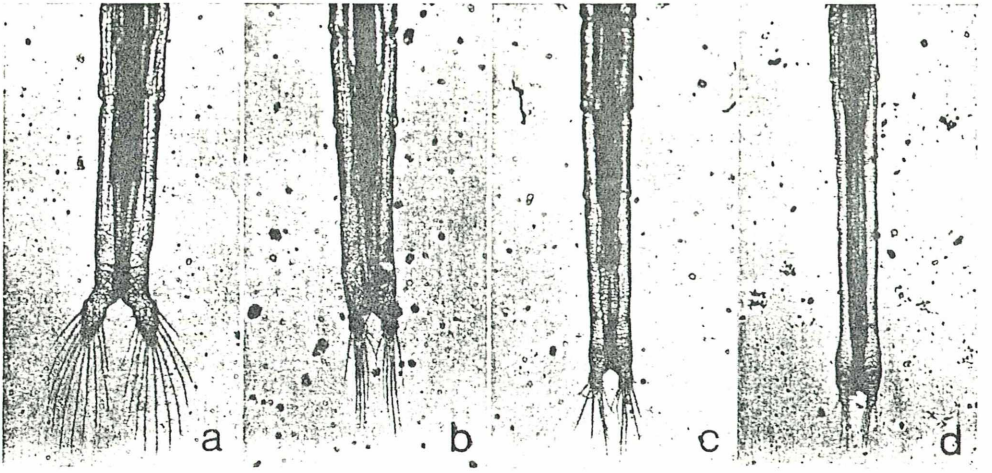


Bild 3: Proportionsunterschiede der in Bild 2 dargestellten Tiere.

flüsse beide Geschlechter betreffen, läßt sich bei den männlichen Tieren eine zusätzliche Auswirkung feststellen: Die 2. Antennen unterliegen einer Reduktion, die um so stärker ist, je mehr die Salzkonzentration steigt. In den Stufen bis 16 Prozent sind vor allem Größe und Breite der Organe betroffen. Wie man sich anhand zahlreicher Pärchen im Zuchtgefäß überzeugen kann, sind sie jedoch voll funktionsfähig. Anders dagegen in 18‰iger Lösung. Hier sind die 2. Antennen der Männchen neben ihrer Kleinheit oft deformiert, so daß sie als Klammerorgane kaum noch geeignet sind. Die Bilder 5 a—d zeigen die nach vorne geklappten 2. Antennen lebender Tiere im gleichen Größenmaßstab nebeneinander.

Unterschiedliche Salzkonzentrationen führen demnach zu einer Änderung im Erscheinungsbild (Habitus) der Artemien, zu einer Modifikation. Gemäß der Definition, daß Modifikation eine durch Umwelteinflüsse bedingte, nicht erhebliche Veränderung des Habitus darstellt, dürften die Nachkommen z. B. der aus der sechzehnprozentigen Lösung stammenden Tiere, in einem Kontrollversuch in vierprozentiger Lösung herangezogen, sich nicht von den-

Bild 4: Modifikation der Furca bei Tieren aus 4-‰igem (a), 10‰igem (b), 16‰igem (c) und 18‰igem (d) Zuchtmedium.



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

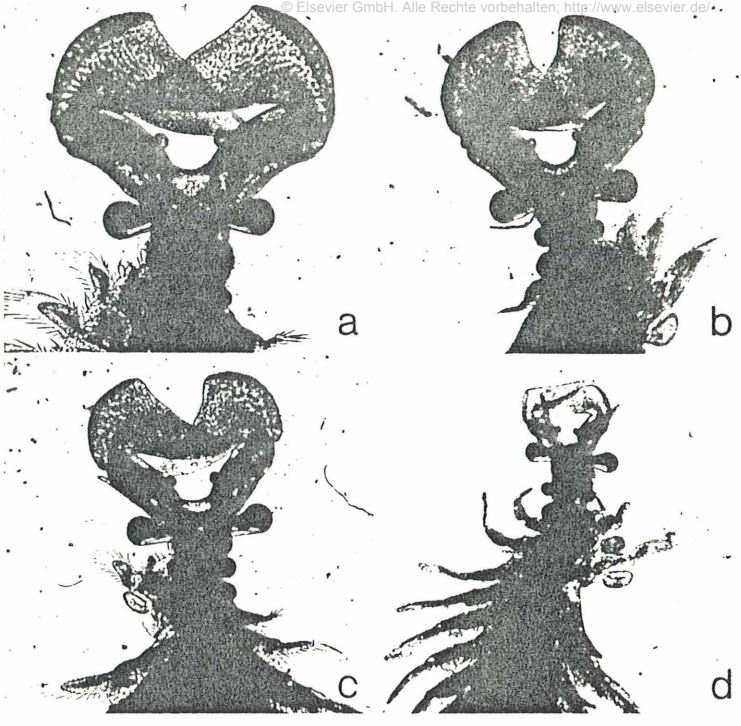


Bild 5: Modifikation der 2. Antenne männlicher Tiere aus 4‰igem (a), 10‰igem (b), 16‰igem (c) und 18‰igem (d) Zuchtmedium.

jenigen Artemien unterscheiden, die beim ersten Versuch in 4‰iger Salzlösung aufgewachsen sind. Diese Hypothese läßt sich durch den geschilderten Versuch leicht überprüfen — und beweisen.

Neben der morphologischen Modifikabilität zeigen sich die Artemien auch physiologisch beeinflußt. In allen Stufen bis einschließlich sechzehn Prozent bringen die Tiere Nachkommen hervor. Überprüft man jedoch deren Anzahl, so stellt man fest, daß sie um so geringer bleibt, je höher die Salzkonzentration ist. In 18‰iger Lösung kam es bei den eigenen Versuchsreihen nur zu Paarungsversuchen; Jungtiere wurden nicht erzeugt.

Ebenfalls physiologisch begründen läßt sich die Tatsache, daß die Länge der Artemien in 4‰iger Lösung am stärksten streut: Diese Konzentration stellt den Wert dar, an den die Tiere besonders gut angepaßt sind. Hierfür spricht ja auch, daß sie sich in 4‰iger Lösung am besten entwickeln und die meisten Nachkommen produzieren. Der Stoffwechsel wird also vermutlich durch die niedrige Salzkonzentration nicht oder kaum belastet, so daß auch schwache Tiere eine Überlebenschance haben. Aus ihnen setzt sich dann die Gruppe der relativ kleinwüchsigen Individuen innerhalb der Vierstufe zusammen. Steigert sich jedoch mit zunehmender Salzkonzentration die osmoregulatorische Stoffwechselbelastung, so dürften schließlich nur noch die kräftigsten Tiere übrigbleiben, deren morphologische Differenzierung weitgehend übereinstimmend verläuft. Ein Vergleich der Sterblichkeitsrate der Larven in den einzelnen Konzentrationsstufen bestätigt diese Hypothese: Während sich in 4‰iger Lösung fast alle Nauplien entwickeln, nehmen die Ausfälle bis zur 16‰igen Salzkonzentration merklich zu, und in 18‰iger Lösung überleben nur wenige Larven. Damit geht aus dem Versuch folgendes hervor:

1. Die Aussage, daß *Artemia salina* große Schwankungen in der Konzentration des Salzgehaltes ihres Lebensmilieus übersteht, trifft zu: Die Tiere ertragen eine Spanne zwischen vier und sechzehn Prozent ohne weiteres (auch bis 1 Prozent, wie mit dem geschilderten Versuchsmodus nachzuweisen ist). Sie können als euryhaline Organismen bezeichnet werden.
2. Eine achtzehnprozentige Salzkonzentration stellt in etwa die obere Grenze dar, die individuell noch überlebt werden kann. Für die Population ist allerdings mit diesem Wert schon das Maximum (d. h. die obere erträgliche Grenze) überschritten; denn es findet keine Fortpflanzung mehr statt.
3. Die Konzentration des Mediums beeinflußt *Artemia salina* morphologisch wie physiologisch. Morphologisch kommt es

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

zu Änderungen im Habitus im Sinne einer Modifikation, physiologisch werden die Überlebenschancen und die Fortpflanzungsfähigkeit beeinflußt. In diesem Zusammenhang sind auch die Resultate des Experiments zu bedenken, das in Teil I im Kapitel „Analyse von Schlüpfbedingungen" als Versuch 2 vorgeschlagen wurde: Damit, daß oberhalb einer Salzkonzentration von ca. 9 Prozent die Entwicklung der Embryonen verhindert wird, ist die Gewähr gegeben, daß die Nauplien nur unter günstigen Bedingungen schlüpfen.

Die Fähigkeit von *Artemia salina*, kurzfristig (d. h. bis etwa einen Tag) Schwankungen der Salzkonzentration zu ertragen, also ihr Osmoregulationsvermögen bei wenigstündiger Belastung, ist noch weit größer, als es bei dem diskutierten Langzeitversuch zum Ausdruck kommt. Der Versuchsaufbau für eine solche Überprüfung ist einsichtig, eine Versuchsanleitung daher überflüssig.

Abschließend sei angemerkt, daß der angegebene Maximumwert von 18 Prozent und die Einzelheiten der Modifikationserscheinungen für die spezielle Artemienrasse gelten, die aus den im Handel erhältlichen Dauereiern gezogen wurde. Von *Artemia salina* sind nämlich viele Rassen bekannt, die teils parthenogenetisch, teils bisexuell sind und sich vor allem durch ihr Genom (Gesamtzahl der Chromosomen einer Zelle) unterscheiden: Nach Kaestner (1959) gibt es di-, tri-, tetra-, penta- und octoploide parthenogenetische sowie di- und tetraploide bisexuelle Rassen. Bei ihnen variieren z. T. die Modifikationserscheinungen im Ausprägungsgrad, ebenso kann der Maximalwert für die Salzkonzentration etwas höher oder tiefer liegen.

Literaturhinweise:

Kaestner, A. (1959): Lehrbuch der Speziellen Zoologie, Teil I: Wirbellose. — Jena, 4. Aufl.

Müller, M. (1976): Experimente mit Kleinkrebsen. Versuche für Schule und Hochschule. — Praxisreihe Biologie, Köln (im Druck).

Verfasserin: Dr. Marliese Müller-Blana, Am Vogelherd 18, 5060 Bergisch Gladbach 2.

Heinz Scholz

Sorbit in der makroskopischen und mikroskopischen Präparationstechnik

1868 entdeckte der französiche Chemiker Jean Baptiste Boussingault (1802—1887) den Zuckeralkohol Sorbit, als er sich im Verlauf seiner Forschungsarbeiten über Früchte, die zur Herstellung von Branntwein dienten, mit der Fermentierung von Vogelbeeren befaßte. Die Bezeichnung „Sorbit" stammt vom Entdecker und erklärt sich aus dem Vorkommen des Zuckeralkohols in den Vogelbeeren, franz. „les sorbes". S. J. Tannhauser und K. H. Meyer gewannen Sorbit durch Reduktion von Traubenzucker (Glucose), der seit 1929 unter dem wortgeschützten Namen Sionon von den Farbenfabriken Bayer AG, Leverkusen, als Diätetikum für Diabetiker in den Handel gebracht wird. Im Handel gibt es folgende Sorbitbezeichnungen: Arlex, Atlas-Sorbitol, Karion (Merck AG), Néosorb, Nivitin, Sionit, Sorbex, Sorbo.

Über die Entstehung des Sorbits weiß man noch sehr wenig, obwohl er einer der in der Natur am weitesten verbreiteten Zuckeralkohole ist. Der Sorbit findet sich besonders in Früchten und Blättern und kann als biochemische Zwischenstufe für die Synthese der Stärke, Zellulose, Fruktose, Sorbose und der Ascorbinsäure betrachtet werden.

Sorbithaltige Früchte sind u. a. Kirschen, Pflaumen, Birnen, Äpfel, Aprikosen, Pfirsiche, Reineclauden, Datteln. In heranwachsenden Birnen und Pflaumen wird zunächst Sorbit gespeichert, der erst später, während der Lagerung dieser Früchte, in Fruchtzucker übergeht. Dieser Vorgang ist nicht nur auf Pflanzen beschränkt, sondern kommt, wie kürzlich entdeckt wurde, auch im tierischen Organismus vor.

Eigenschaften

Sorbit ist ein Zuckeralkohol der Hexitgruppe; er ist sechswertig und mit dem Mannit und Dulcit isomer. Mannit entsteht durch Reduktion von Fruchtzucker und bei der

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



Bild 1: Der Entdecker des Sorbits, Jean Baptiste Boussingault.

schleimigen Gärung aus Traubenzucker. Sorbit wird — wie schon erwähnt — durch Reduktion von Traubenzucker und Dulcit durch Reduktion von Galaktose hergestellt. Der Sorbit ($C_6H_{14}O_6$) ist ein weißes, kristallines Pulver von süßem Geschmack. Die Süßkraft des Sorbits ist etwa halb so stark wie die des Rohr- bzw. Rübenzuckers.

Sorbit ist in kaltem Alkohol fast unlöslich, ebenso in Äther, Chloroform, Petroläther, Xylol; er löst sich dagegen in Wasser (235 g in 100 g H_2O, 25 °C) fast in allen Proportionen und bildet eine sirupartige Lösung, die nur sehr langsam kristallisiert. Interessant ist die Tatsache, daß eine Sorbitlösung gegenüber einer gleichkonzentrierten Glycerinlösung eine viel höhere Viskosität aufweist (Bild 2). Diese Tatsache wendet man bei den Arzneizubereitungen an. Viele Elixiere, Abführemulsionen, Hustensäfte u. a. enthalten durch den Sorbitzusatz eine befriedigende Viskosität. Zu den feuchthaltenden und weichmachenden Eigenschaften des Sorbits kommt noch hinzu, daß der Zuckeralkohol nur mäßig hygroskopisch ist. Sorbit ist thermostabil und läßt sich auch in konzentrierter Lösung 15 Minuten lang bei 120 °C ohne merkliche Zersetzung sterilisieren. Hochkonzentrierte Sorbitlösungen verhindern das Wachstum von Bakterien fast vollständig. In niederen Konzentrationen dient Sorbit als Nährboden (M. Barr und L. F. Tice). Aus diesem Grunde müssen verdünnte Sorbitlösungen konserviert werden (0,12% Methyl- und 0,02% Propylester der p-Hydroxybenzoesäure). Auch Sorbinsäure wird als Konservierungsmittel empfohlen.

In Metallgefäßen nimmt aufbewahrter Sorbit leicht Metallspuren auf. Sorbit sollte daher in Glasgefäßen gelagert werden; dies ist besonders dann erforderlich, wenn der Sorbit zur Herstellung metallempfindlicher, z. B. Ascorbinsäure enthaltender Medikamente, verwendet werden soll.

Im Organismus werden etwa 98% der üblichen oralen Dosen (Zuckerkranke wenden Sorbit an, da der Zuckeralkohol nur langsam vom Darm aufgenommen wird, demzufolge bleibt der Blutzuckerspiegel niedriger als bei anderen Zuckern) von Sorbit verwertet, nur 2% davon werden im Harn ausgeschieden.

Interessant ist Sorbitan, auch Monoanhydrosorbit genannt. Diese Verbindung wird aus Sorbit durch Entzug von 1 Mol Wasser hergestellt. Sorbitan kann mit Fettsäuren verestert werden, hierbei entstehen die Spans, durch anschließende Äthoxylierung die Tweens, die als Emulgatoren, Lösungsvermittler etc. verwendet werden.

Sorbit in der Bakteriologie

Sorbit wird im Bereich der Bakteriologie zur Differenzierung von Streptokokken und pathogener *Coli*-Stämme verwendet. G. Lebek verwendete Sorbit in Nährlösungen zur Differentialdiagnostik von menschenpathogenen Tuberkelbakterien und saprophytischen Mykobakterien. Braun, Kondo, Olivar und Lebek konnten zeigen, daß sich Tuberkelbakterien im Nährstoffbedarf von säurefesten Saprophyten darin unterscheiden, daß sie eine geringe Anzahl der von Saprophyten nutzbaren Alkohole, Kohlenhydrate und organischen Säuren als Kohlenstoffquelle verwerten können. Ist Ammoniumchlorid als einzige Stickstoffquelle vorhanden, dann vermögen Tuberkelbakterien weder mit Äthanol noch mit Sorbit als einziger Kohlenstoffquelle zu gedeihen. Folgende Nährlösungen wurden von den Autoren verwendet:

1. 0,5 g Äthanol, 0,5 g NH_4Cl, 0,5 g Na_2SO_4 anhydr., 0,01 g $MgCl_2 \cdot 6\,H_2O$, 0,05 g KH_2PO_4 n. Sörensen, 0,15 g K_2HPO_4, mit bidest. Wasser auf 100 ml auffüllen.
2. Statt Äthanol dieselbe Menge Sorbit.

Die Lösungen wurden in der Versuchen 30 Minuten im Kochschen Damptopf sterilisiert und zu 5 ml in Reagenzröhrchen abgefüllt. Das Äthanol ist ebenfalls auf Sterilität zu untersuchen. Nach Zusatz der verschiedenen Bakterienstämme wurde bei 37 °C bebrütet. Lebek prüfte folgende Stämme: 20 humane Tb-Stämme, 28 Stämme säurefester Saprophyten der Arten *Mc. phlei* und *smegmatis*, 5 Stämme der Species *Mc. fortuitum* und 5 skotochromogene Stämme.

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

Sorbit in der makroskopischen Konservierungstechnik und histologischen Technik

Versuche, die an der Anatomischen Anstalt der Freien Universität Berlin durchgeführt wurden, ergaben, daß Sorbitlösungen in der makroskopischen Konservierungstechnik und histologischen Technik dem Glycerin gleichwertig, in vielen Fällen sogar überlegen ist.

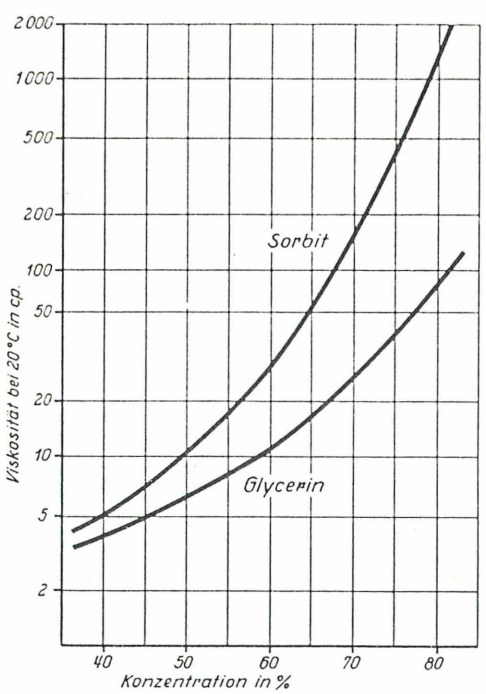
Makroskopische Konservierungstechnik

Nach H. J. Clemens treten nach Zusatz von Sorbitlösungen zu den Konservierungsflüssigkeiten Jores II und Kaiserling II die natürlichen Farben besser hervor. Ebenfalls erzielt man eine gute Oberflächentransparenz. Er fand heraus, daß für innere Organe, wie Leber, Milz, Herz und Niere der Sorbitzusatz höher zu wählen ist (nicht bei Lungengewebe). Eine dunkle Färbung entsteht bei Muskelpräparaten. Die natürliche Farbe tritt jedoch nach längerem Stehen hervor. Für die Konservierungstechnik gelten (nach Merck) folgende Arbeitsgänge:

1. Fixation in Jores I oder in 10%igem Formol,
2. Wässern,
3. Einlegen in Endlösung: 1000 ml dest. Wasser, 600—1200 ml Karion (= Sorbitlösung) flüssig, 300 g Kaliumazetat.

Gute Ergebnisse erzielte Clemens bei Konservierung ganzer Leichen, indem er das Glycerin durch Sorbitlösung ersetzte.

Bild 2: Abhängigkeit der Viskosität von der Konzentration bei wäßrigen Glycerin- und Sorbitlösungen. Nach G. Schramm.



Histologische Technik

Bekanntlich wird in der histologischen Technik Glycerin als Einschlußmittel für Präparate verwendet, die vor dem Einschluß nicht mehr mit Alkohol, Xylol, Terpineol u. ä. Stoffen in Berührung kommen dürfen. Nachteilig war oft, daß gewisse Färbungen, z. B. die mit Teerfarbstoff oder Hämatoxylin, schlecht haltbar sind. Infolge der wasseranziehenden Wirkung des Glycerins treten bei den Präparaten Schrumpfungen auf. Clemens fand in der Sorbit-Gelatine einen gleichwertigen Austauschstoff. Die Vorzüge sollen hier kurz angegeben werden:

Einschlußmethode n. Zeller: Erhaltung der metachromatischen Toluidinblaufärbung.

Fettfärbungen (Sudan III, Osmiumtetroxid, Nilblau): kein Unterschied bei Verwendung der Einschlußmedien Sorbitlösung, Sorbitgelatine, Glycerin DAB. 6 und Glyceringelatine. Die Kernfärbung von mit Nilblau gefärbten Präparaten wurde durch Sorbitlösung bzw. Sorbit-Gelatine besser erhalten.

Hämatoxylin-Kernfärbungen: Färbungen lassen bei Verwendung von Sorbitlösung bzw. Sorbitgelatine wesentlich langsamer nach als in Glycerin bzw. Glyceringelatine. Nach Clemens treten beim Einschluß in Sorbitlösungen bei unfixiertem Material nur ganz geringe Schrumpfungen auf, während bei fixiertem Material keinerlei Schrumpfungen festgestellt wurden. Für die Azan- und van-Gieson-Färbung sind die Sorbit-Präparate nicht geeignet.

Sorbit wird ferner als Einschlußmittel für die histologische Jod-Reaktion verwendet.

Literaturhinweise:

1. *Clemens, H.-J.:* Karion „Merck", ein wasserlösliches Einschlußmittel in der histologischen Technik. Z. wiss. Mikr. 61, 364—369, 1952/53.
2. *Clemens, H.-J.:* Karion „Merck" als Austauschmittel in der makroskopischen Konservierungstechnik. An. An. 99, 322—327, 1953.

Verfasser: Heinz Scholz, Siedlung 25, 8851 Kaisheim.

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

Kurt von der Dunk

Die Torfwand im Moor — unter dem Mikroskop

Wer einmal einen Torfstich im Moor gesehen hat, dem ist der fast drohende, düstere Eindruck im Gedächtnis, den so eine oft meterhohe senkrechte schwarzbraune Torfwand macht, an deren Fuß sich eine undurchsichtige, grünschillernde Brühe gesammelt hat.
Unwillkürlich denkt man an die Droste-Hülshoff: „. . . schaurig ist's, übers Moor zu gehen . . .".
Daß aber die Torfwand auch ganz andere Eindrücke vermitteln kann, das sei hier an einzelnen Beispielen für den Bereich des Mikroskops dargestellt. Unerwähnt sei das viele makroskopisch Interessante für den Naturfreund aus dem botanischen und zoologischen Bereich.
Es muß auch nicht gleich eine ganze Torfwand sein, die den meisten ja sowieso nur während eines Urlaubs zugängig sein könnte.
Es genügt eine Prise Torfmull zwischen zwei Fingerspitzen!
Jeder kennt die großen Ballen Gartentorf, die vor allem aus Norddeutschlands Mooren — nebenbei liegt Nordwestdeutschland mitten in den wichtigsten Moorgebieten der Erde — wohlverpackt zu uns kommen und dazu dienen, der Gartenerde beigemischt, lange Zeit dem Boden genügend Feuchtigkeit zu erhalten. Woher diese Eigenschaft des Torfes kommt, sehen wir bald, wenn wir ein paar Krümelchen Torf unter dem Binokular zerzupfen und davon eine Kleinigkeit unter das Mikroskop bringen.
Wir finden eine Vielzahl pflanzlicher Überreste, aus denen die so homogen aussehende Masse Torf zusammengesetzt ist, überwiegend Stengel und Blätter des Torfmooses *Sphagnum* (Bild 1), die so gut erhalten sind, daß man sie von gleichen Teilen frischer Moospflanzen kaum unterscheiden kann (Bild 2). Wenn man bedenkt, daß diese Moorteile, aus denen der Gartentorf stammt, vor mehr als tausend Jahren gewachsen sind, so staunen wir noch mehr über den guten Erhaltungszustand, der es uns erlaubt, heute noch feststellen zu können, um welche Arten des Torfmooses es sich jeweils handelt und uns dabei zu überzeugen, daß es die gleichen Arten sind, die auch heute noch im Hochmoor leben. Die häufigsten Hochmoorsphagnen sind (vgl. Bild 3): *a — Sphagnum cuspidatum, b — Sphagnum cimbifolium, c — Sphagnum medium, d — Sphagnum acutifolium.*
Der letzteren Art gehören die in Bild 1 und 2 gezeigten Teile an.
Der Grund für die gute Konservierung der fossilen Moose liegt darin, daß die Pflanzen unter Luftabschluß in ein saures Medium (Moorsäure) eingebettet wurden, das ein Verwesen verhinderte. Die gleichen Ursachen haben uns auch die Blütenpollen erhalten (Bild 4).

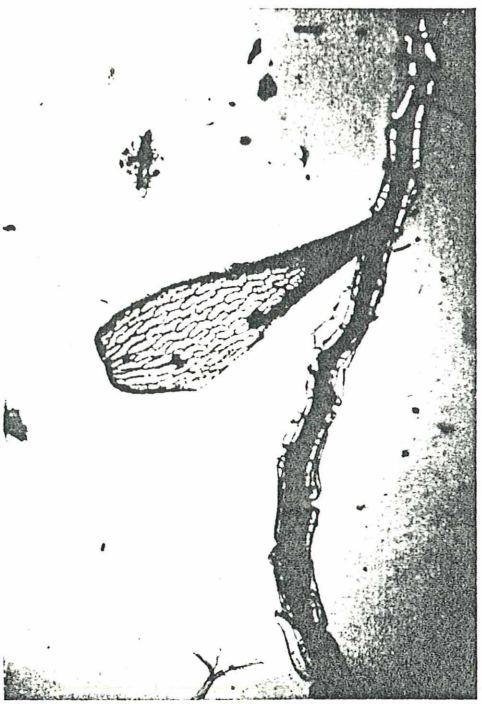


Bild 1: Fossile Sphagnumreste, Stengel und Blättchen, aus dem Gartentorf.

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

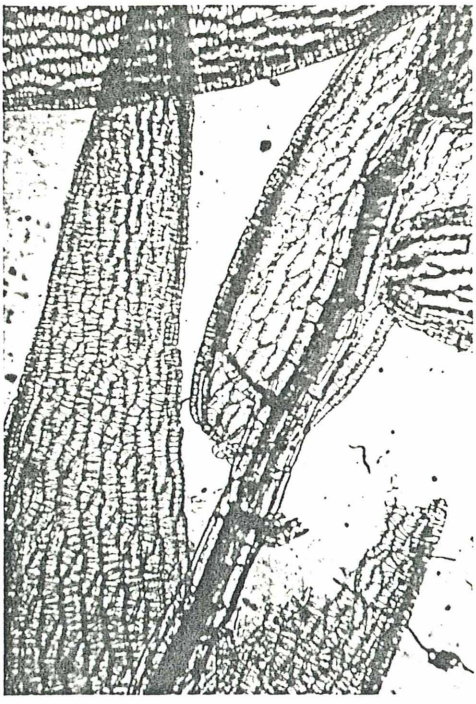


Bild 2: Korrespondierende Teile von frischem *Sphagnum acutifolium*, einem typischen Hochmoormoos.

Mit etwas Geduld wird man im Gartentorf stets auch fossile Pollenkörner finden, wenn man sich darauf einstellt, unter dem Detritus etwa die kleinsten regelmäßigen Formen stärker zu vergrößern.
Fast stets finden sich die dreiteiligen Kieferpollen mit etwa 60 µm Breite. Kleiner sind schon die Pollen der Birke mit drei Erweiterungen, etwa 34 µm, und die Pollen der Erle mit fünf Erweiterungen am Außenrand, mit etwa 22 µm Durchmesser. Dann aber finden sich noch Sporen des Torfmooses, ebensogroß wie die Pollen der Erle, also 22 µm Durchmesser, die man an dem charakteristischen Y-Spalt in der Mitte erkennen kann.
Bei beiden Fotos zeigen, wie die nicht immer gut erhaltenen Teile unter dem Mikroskop aussehen, die Zeichnungen dazu geben die genaue Form von Kieferpollen und *Sphagnum*-Spore.
Aus der Vielfalt und der Häufigkeit der Pollen kann man bekanntlich auf die Zusammensetzung der Flora zur Zeit der Moorbildung schließen. (Vgl. Aufsatz über Pollenanalyse in KOSMOS H. 7, 1975.)
Torfmoose sind Pflanzen ohne Anfang und ohne Ende, wenn man so will. Sie wachsen immer weiter und bilden, dichtgedrängt, dicke frischgrüne oder rote Polster, die in der Lage sind, das Gewicht eines Erwachsenen zu tragen, ohne nennenswert zusammengedrückt zu werden. Isolieren wir aber ein einzelnes Pflänzchen, so sehen wir, daß es nicht allein stehen kann mit seinem schlaffen Stengel. Nur im Polsterverband hält es sich aufrecht! Das dichte Polster verringert zugleich zu starken Wasserverlust durch Verdunstung. Nach unten hin geraten die Moosstengel unter Lichtabschluß

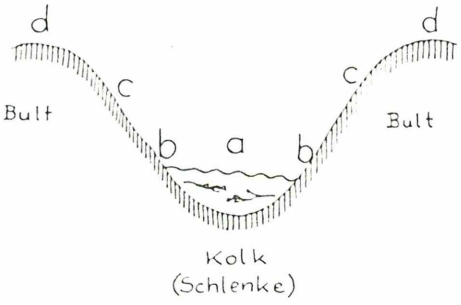
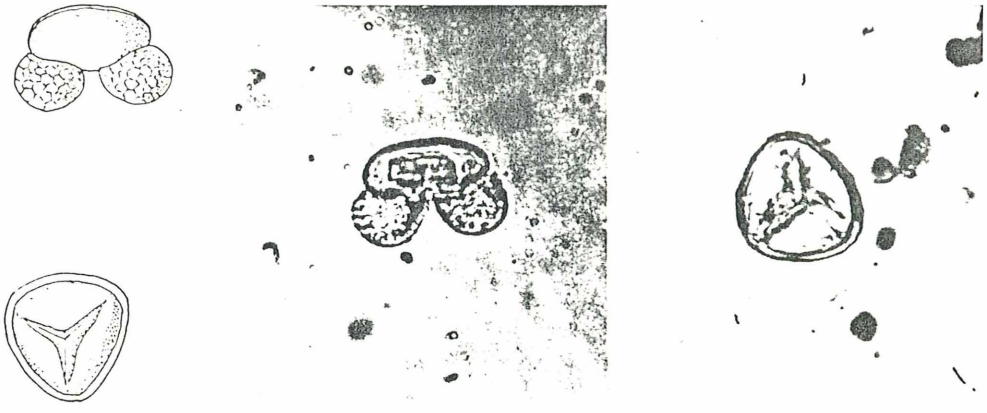


Bild 3: Verteilung der 4 wichtigen Torfmoose Mitteleuropas in Kolken und auf Bulten (nach v. Bülow, „Handbuch der Moorkunde").

Bild 4: Fossiler Pollen der Kiefer und fossile Spore von *Sphagnum* aus dem Gartentorf. Der Erhaltungszustand ist immerhin noch so, daß man die Art erkennen kann. Zum Vergleich je eine Zeichnung der genauen Form.



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

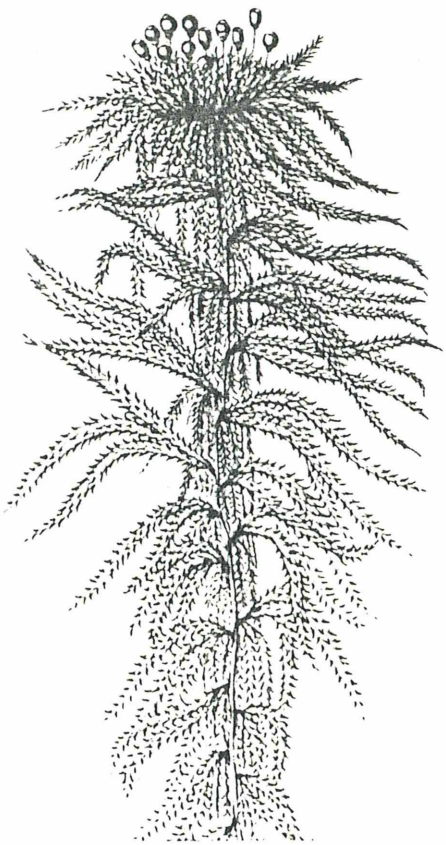


Bild 5: Teilreproduktion einer Zeichnung von *Sphagnum squarrosum* nach Schimper, 1858.

und sterben ab, werden im Laufe der Zeit immer mehr zusammengedrückt, bis sie den uns bekannten Torf bilden. Der Mikrokosmos brachte 1969 einen interessanten Aufsatz von Herrn H. Forstinger unter dem Titel: „Torfmoos unter dem Mikroskop"; Daher erübrigt es sich, näher auf den Bau der Moose einzugehen.

Die auffallendsten Teile des mikroskopischen Aufbaues sind die zahlreichen Leerzellen an Stengeln und Blättern, die alle Teile umhüllen und durch Poren mit der Außenwelt in Verbindung stehen. Sie sind bei der lebenden Pflanze mit Wasser gefüllt. Preßt man einmal eine Handvoll frischer Torfmoospflanzen aus, so ist man immer wieder aufs neue überrascht über die fast unglaubliche Menge Wasser, die daraus hervorkommt. Diese Eigenschaft, viel Wasser festhalten zu können, macht auch den Gartentorf in der Untermischung zur Gartenerde so wertvoll, da sich die fossilen Sphagnumpflanzen genauso wie die frischen verhalten. Man hat festgestellt, daß die Moose etwa das 15—20fache des Trokkengewichtes, die Sproßspitzen sogar bis zum 50fachen an Wasser aufnehmen können!

Ein gutes Bild des eigenartigen Aufbaues einer Sphagnumpflanze gibt die Reproduktion einer der Meisterzeichnungen aus dem alten Torfmoosbuch von Schimper, wie man sie besser wahrlich nicht herstellen kann! (Bild 5). Mit welcher Sorgfalt hat sich der Forscher aller Einzelheiten angenommen, die durch Mikroaufnahmen schlechterdings nur bruchstückweise in zahlreichen Einzelteilen wiederzugeben wäre. (Dr. W. Ph. Schimper, 1858. „Versuch einer Entwicklungsgeschichte der Torfmoose", Stuttgart.) Die quirlartig in Etagen am Stämmchen stehenden Seitenästchen sehen wie Peitschenenden aus. Mehrere stehen waagerecht vom Stämmchen ab, andere hängen schlaff daran herunter, so daß der ganze Stengel wie ein Docht davon eingehüllt ist. Die Seitenästchen bilden sozusagen eine einzige, ununterbrochene Wassertreppe, die dem Wasser einen bequemen Weg nach außen am Stämmchen empor, bzw. zwischen den vielen im Polster stehenden Einzelpflanzen bietet. Wenn man sich nun fragt, wozu eine Pflanze, die ja sowieso im nassen Moor wächst, ein derartig aufwendiges und perfektes Wasserführungssystem benötigt, so muß man berücksichtigen, daß die an sich kahle Mooroberfläche ständig den austrocknenden Winden und der Sonnenstrahlung ausgesetzt ist. Daher gehören die auf dem Moor lebenden Pflanzen den Xerophyten, d. h. den der Trockenheit angepaßten Arten an. Ihre Blätter sind klein, oft lederartig hart wie bei Heidekraut, Preiselbeere, Moosbeere, und ihre Wurzeln durch-

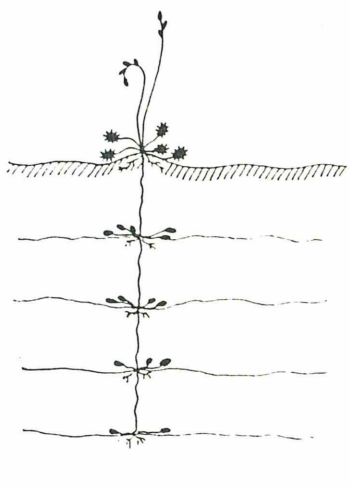


Bild 6: Jahresetagen von *Drosera* (Sonnentau) im Abstand dem Jahreszuwachs von *Sphagnum* angepaßt (nach E. W. Bauer: „Pflanzenwelt voller Wunder, Esslingen 1975).

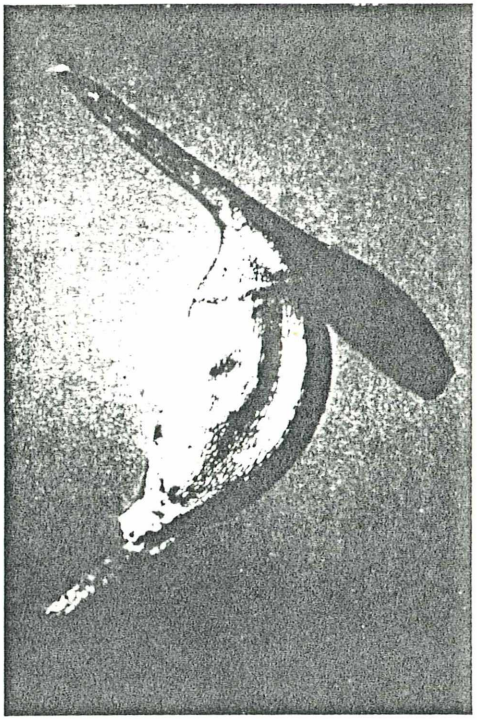


Bild 7: Sporenkapsel von *Dicranella cerviculata* mit Kropf am Kapselhals.

ziehen weitverzweigt wie ein feines Netz das Torfmoospolster.

Die Torfmoose wachsen jährlich um mehrere Zentimeter in die Höhe, die radiale Ausbreitung ist noch größer. Dieses rapide Höhenwachstum ist eine der Ursachen für die Pflanzenarmut auf dem Moor. Wenn die Pflanzen überleben wollen, müssen sie sich anpassen und jährlich ihre Wurzelplatte, wenn man das System einmal so nennen will, höherlegen (Bild 6).

Der ungeheuer üppige Wuchs der Torfmoospolster wirft aber eine weitere, sehr viel schwieriger zu beantwortende Frage auf, nämlich die nach der Ernährung!

Bekanntlich ist ein Moor äußerst nährstoffarm. Besonders der Stickstoffmangel macht es den meisten Pflanzen unmöglich, sich auf diesem Untergrund zu entfalten, der zudem durch Kalkarmut einen extrem sauren Charakter hat. Die ständig zunehmende Mächtigkeit des Torfpolsters hat den Weg zu dem vielleicht noch Nährstoffe enthaltenden Untergrund versperrt. Nahrung kann also nur durch den Wind und vom Regen ausgewaschenen Staub herangeführt werden. Während sich höhere Pflanzen z. T. über Pilze und Bakterien Nahrung verschaffen, andere sich den fehlenden Stickstoff durch Fang von Insekten (tierisches Eiweiß) beschaffen (Sonnentau, Fettkraut), hat das Torfmoos, durch zahlreiche Untersuchungen nachgewiesen, in den hyalinen Leerzellen die Eigenschaft, aus den zugeführten staubförmigen Nährstoffen die Kationen herauszulösen und durch Wasserstoffionen zu ersetzen.

Diesen Äquivalentenaustausch haben vor allem experimentelle Überprüfungen durch Brehm bestätigt. Durch diese ständige Bildung von Säuren erklärt sich auch die zunehmende Ansäuerung des Moorwassers.

Aufschlußreich ist es ferner zu erfahren, daß auch die fossilen Sphagnen aus dem Torf eine identische Kationen-Austausch-Kapazität besitzen. Auf Grund dieses Phänomens hat man zeitweise die Zellwände der *Sphagnum*-Moose mit dem treffenden



Bild 8: Scheibenpilze (Discomyceten) an der Torfwand, dazwischen Kapseln von *Dicranella cerviculata* und Einzelpflanzen von *Polytrichum strictum*.

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

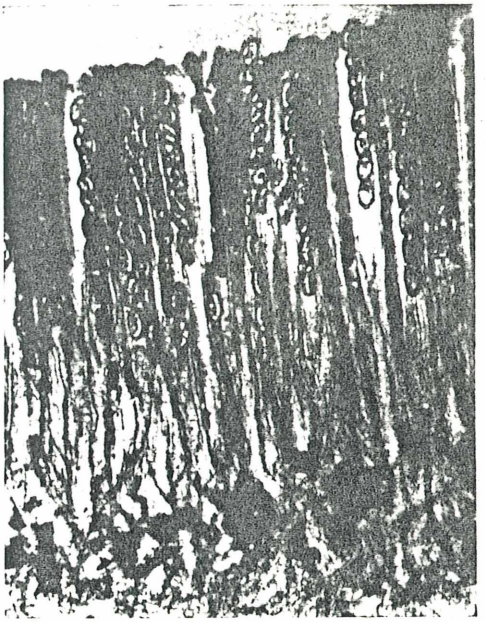


Bild 9: Schnitt durch den Fruchtkörper eines Discomyceten mit den jeweils acht Sporen enthaltenden Schläuchen.

Namen „Nährstoff-Fangorgan" bezeichnet. Im Prinzip trifft das auch für die Zellwände der Phanerogamen (Blütenpflanzen) zu, aber nicht in dem Ausmaß, wie es das Torfmoos zeigt.

Die Torfwand ist Menschenwerk und ändert in einem betriebenen Torfstich ständig ihre Lage. Deutlich kann man die parallel untereinander verlaufenden Bänder verfolgen, in ihrer Breite der Länge des Moorspatens entsprechend. Nach Stillegung des Abbaus bleibt der anstehende Torf wegen seiner Unfruchtbarkeit zunächst von einer Besiedlung von Pflanzen frei. Das ausfließende saure Moorwasser hat die Austrocknung und den Verfall des Moores zur Folge. An der Oberkante der Wand im Übergang zu dem oberflächigen Moorboden bilden sich dann charakteristische Lebensgemeinschaften, an denen besonders die Laubmoose Anteil haben. Für die Lebermoose ist der Untergrund noch zu trocken. Zu den ersten Besiedlern gehört das Moos *Dicranella cerviculata*, das in dichten, niedrigen Polstern von kaum 1 cm Höhe meist reichlich fruchtend die Torfwände und auch die zum Trocknen aufgestapelten Soden überzieht. Kenntlich sind diese Moose an einem Kropf der Sporenkapsel (Bild 7). Neben ihm findet sich das stets häufige Widertonmoos *Polytrichum strictum*. Es ist zwar in seiner Familie eines der kleinsten, gegenüber der *Dicranella* aber ein Riese. Entsprechend dem Standort auf dem der Austrocknung ausgesetzten Moor schützen die Blätter die auf ihrer Oberfläche stehenden Reihen von Assimilationszellen durch Überschlagen der Blattränder (vgl. Mikrokosmos Heft 4, 1974, „Moose mit Sonnenschirm", Bild 4).

In den feuchten grünen Moospolstern finden wir als Nutznießer oft kleine flachrunde Pilze, die wie lebhaft orange gefärbte Pfennigstücke aussehen und auch die gleiche Größe haben (Bild 8). Es sind Scheibenpilze, Discomyceten, deren Fruchtscheibe fast flach ist und in überaus dichter Lage die Fruchtschläuche (Asci) enthält. In jedem Schlauch liegen 8 Sporen, die nach der Reife aus dem aufplatzenden Ascus entlassen werden (Bild 9). Ein sichtbares Zeichen der Oberflächen-Trockenheit des Moores bilden die ebenfalls überall häufigen grauen Flechten, besonders der Gattung *Cladonia*, deren Lager meist mit zierlichen Bechern geschmückt sind (Bild 10). In einem Schnitt läßt das wiederum dankbare Objekt unter

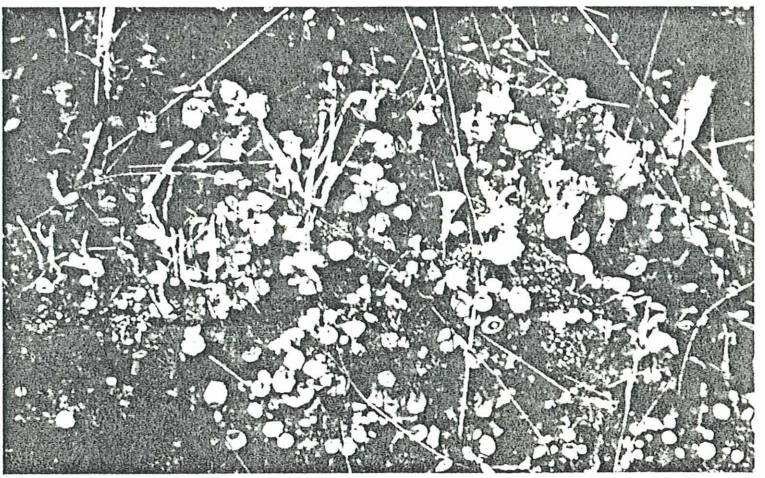


Bild 10: Becherflechten an der Torfwand (*Cladonia vyxidata*).

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



Bild 11: Soredienbildung an der Außenwand der Flechte. Gut zu sehen sind die Pilzhyphen, die die dunkle Algenmasse umhüllen.

dem Mikroskop den eigenartigen Zwitteraufbau aus Pilzen und Algen erkennen. Zwischen den farblosen Pilzhyphen liegen die grünen Zellkugeln der Algen. Das Seltsamste dieser Symbiose ist, daß jeweils nur ein bestimmter Pilz mit einer bestimmten Alge wiederum nur eine durch Form, Größe und Farbe charakteristische Flechte hervorbringen. An der Oberfläche der Becher entstehen als vegetative Fortpflanzungsgebilde kleine Kugeln, die Soredien, die vom Winde fortgetragen der Verbreitung der Flechten dienen. Diese Soredien (Bild 11) bestehen aus einer Anzahl von kugeligen Algen, umhüllt von Pilzhyphen.

Es gäbe noch genügend interessante Dinge zu erwähnen, jedoch sei der tunlichen Kürze wegen nur noch ein Blattquerschnitt der die Mooroberfläche wie Spinnennetze überziehenden Moosbeere, *Vaccinium oxycoccus*, gezeigt (Bild 12), an dem man deutlich den xeromorphen Bau erkennen kann: dicke Oberhaut (Cuticula), Steinzellen, besonders in der Blattrippe, nur auf der Unterseite geschützt liegende Spaltöffnungen. Aus den zierlichen roten Blüten dieses Pflänzchens entstehen dann im Herbst zentimeterdicke rote, eßbare Früchte, die Moosbeeren.

Literaturhinweise:

1. *Baumann, A.*, 1909: Untersuchungen über die Humussäure. Mitt. d. K. Bayer. Moorkulturanstalt, Heft 3, Stuttgart, Verlag Ulmer.
2. *Baumann, A.*, und *Gully, E.*, 1910: Die freien Humussäuren der Hochmoore, ihre Natur, ihre Beziehungen zu den Sphagnen und zur Pflanzenernährung. Mitt. d. K. Bayer. Moorkulturanstalt, Heft 4.
3. *Brehm, K.*, 1967: Untersuchungen zur Ernährungsphysiologie der Sphagnen unter besonderer Berücksichtigung des Kationenaustausches, Kiel (Dissertation).
4. *Brehm, K.*, 1968: Die Bedeutung des Kationenaustausches für den Kationengehalt lebender Sphagnen. Planta (Best.) 79, 324—345.
5. v. *Bülow, K.*, 1929: Handbuch der Moorkunde, I. Allgemeine Moorgeologie, Berlin.
6. *Burgeff, H.*, 1961: Mikrobiologie des Hochmoores unter besonderer Berücksichtigung der Erikazeen-Pilzsymbiose. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
7. *Forstmeier, H.*, 1969: Torfmoos unter dem Mikroskop. Mikrokosmos 58, H. 4, 120—123.
8. *Magdefrau, K.*, 1937: Der Wasserhaushalt der Moore. Annales Bryologici, Volume X.
9. *Marthaler, H.*, 1939: Die Stickstoffernährung der Hochmoorpflanzen. Jahrb. f. wissensch. Botanik, 88 Bd., Heft 5.
10. *Müller-Stoll, W. R.*, 1946: Der Einfluß der Ernährung auf die Xeromorphie der Hochmoor-Pflanzen. Planta, 35. Bd., 1. bis 2. Heft, 225 bis 251.
11. *Rudolph, H.*, und *Brehm, K.*, 1965: Kationenaufnahme durch Ionenaustausch? Neue Gesichtspunkte zur Frage der Ernährungsphysiologie der Sphagnen. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 78, 484—491.

Verfasser: Dr. Kurt von der Dunk, Schenkstraße 136, 8520 Erlangen.

Abbildungen: Dr. Klaus von der Dunk, Ringstraße 25, 8521 Spardorf.

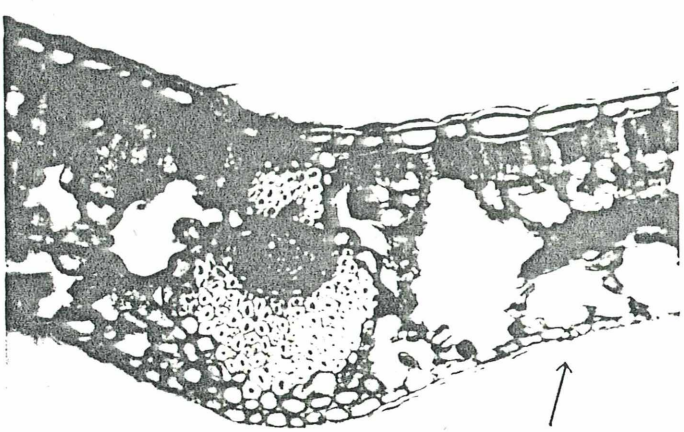


Bild 12: Schnitt durch ein Blatt der Moosbeere (*Vaccinium oxycoccus*). Der Pfeil zeigt auf eine Spaltöffnung an der Blattunterseite.

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

Gerhard Jurzitza

Pflanzengewebe unter dem Raster-Elektronenmikroskop

11. Blatt-Typen

Der anatomische Bau des Laubblattes ist weitgehend von seiner Funktion geprägt. Zwischen den beiden Epidermen liegt das Mesophyll, das zumeist in ein Photosynthese- („Palisadenparenchym") und ein Durchlüftungsgewebe („Schwammparenchym") differenziert ist. Beim bifazialen Blatt ist ersteres der Ober-, letzteres der Unterseite zugekehrt. Dieser als „normal" betrachtete Aufbau kann durch Umweltfaktoren, in erster Linie durch Licht und Wasser, verändert werden.
Schon die Blätter einer Einzelpflanze sind häufig verschieden gebaut, je nachdem, ob sie an der Licht- („Sonnenblätter") oder der Schattenseite stehen („Schattenblätter"). Im ersteren Falle ist das Palisadenparenchym stärker entwickelt.



Die Ausbildung des Schwammparenchyms hängt mit der Intensität des Gasaustausches zusammen, und diese von der Verfügbarkeit des Wassers. Ist es im Überschuß vorhanden und muß rasch abgegeben werden, dann sind die Interzellularen groß. Bei Schwimmblättern werden oft besondere Luftkammern ausgebildet.
Wird der Lichtgenuß übermäßig, dann bieten die Blätter der Sonne häufig nicht die Fläche, sondern die Kante dar. In diesen Fällen liegen auf beiden Blattflächen Palisadenparenchyme. Diese Erscheinung kann entweder durch Ausbildung eines zusätzlichen Palisadenparenchyms auf der Blattunterseite zustande kommen („Äquifaziales Blatt"), oder aber durch eine Reduktion der Blattoberseite („Unifaziales Rund- oder Flachblatt"). Das Palisadenparenchym liegt in diesem Falle auf der morphologischen Blattunterseite, die die gesamte Außenfläche des Blattes bildet.
Standortbedingter Wassermangel wirkt sich auf die Form des Blattes aus („Xeromorphie"). Oft wird die Oberfläche verkleinert, was zu Rund- oder Nadelblättern führt, die Blätter werden eingerollt („Rollblätter"), oder es treten Wasserspeichergewebe auf („Sukkulenz"). Auf andere Einrichtungen zur Verringerung der Wasserverluste soll in weiteren Folgen dieser Serie eingegangen werden.

Verfasser: Prof. Dr. Gerhard Jurzitza, Botanisches Institut der Universität, Lehrstuhl 1, Kaiserstr. 12, 7500 Karlsruhe.

In dieser Serie sind bisher erschienen: *1.* Kiefernholz, 63, 355—359, 1974; *2.* Hoftüpfel, 64, 1—5, 1975; *3.* Laubhölzer, 64, 33—36, 1975;; *4.* Thyllenbildung, 64, 101—105, 1975; *5.* Bast und Kork, 64, 129 bis 134, 1975; *6.* Primärer Aufbau des Sprosses, sekundäres Dickenwachstum, 64, 259—263, 1975; *7.* Die Wurzel, 64,, 327—331, 1975; *8.* Die Leitbündel, 65, 39—43, 1976; *9.* Die Elemente der Wasser- und Assimilateleitung, 65, 112—116, 1976; *10.* Das bifaziale Laubblatt, 65, 336—340, 1976.

Die Bilder 2—10 finden Sie auf den Seiten 15—19.

Bild 1: Efeu-Blatt im Lichtmikroskop, quer (Glyzeringelatine-Präparat); 250×. Das Bild zeigt den typischen Aufbau eines bifazialen Blattes mit mehrschichtigem Palisadenparenchym.

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

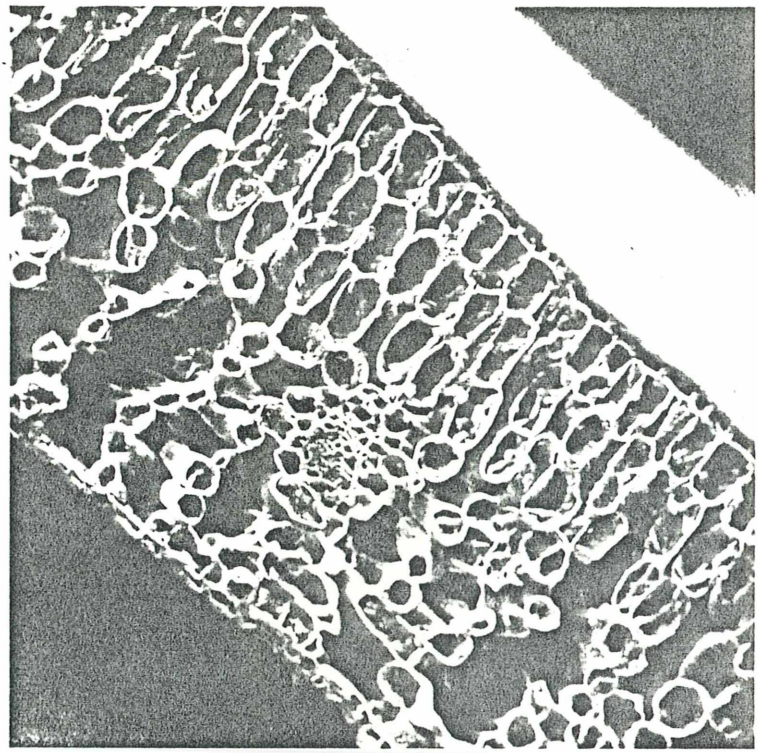


Bild 2: Efeu-Blatt, quer; REM-Aufnahme, 300×. An die obere Epidermis schließt sich ein dreischichtiges Palisadenparenchym an; Interzellularenkanäle ziehen bis zur Epidermis hinauf. Die Zellen enthalten zahlreiche, wandständige Chloroplasten. Das anschließende Schwammparenchym besteht aus schlauchförmigen, verzweigten Zellen, die große Interzellularen einschließen. Etwas unterhalb der Bildmitte ist ein Blattleitbündel quer getroffen.

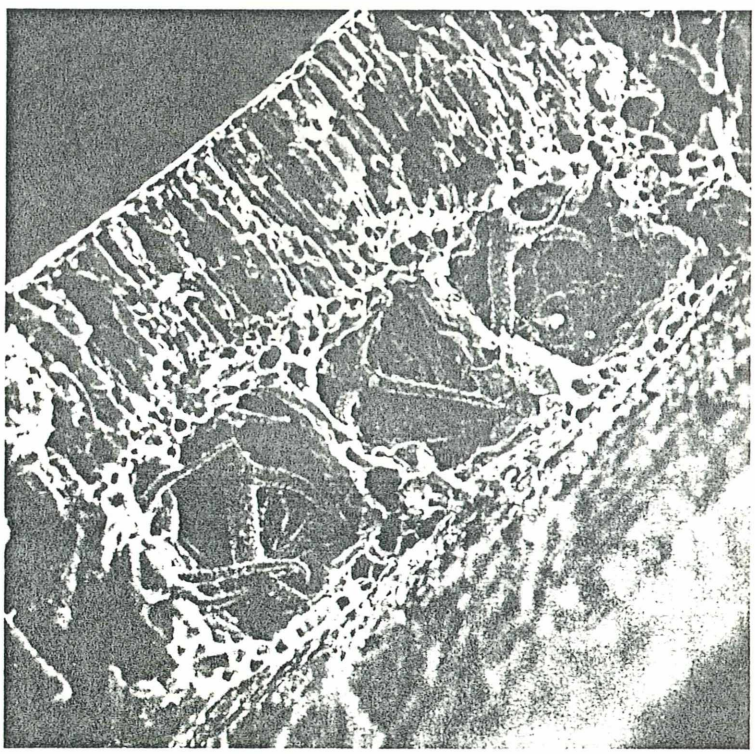


Bild 3: Seerosenblatt, quer; REM-Aufnahme, 138×. Das Palisadenparenchym ist mehrschichtig; die Interzellularen, die es bis zur oberen Epidermis durchziehen, sind verhältnismäßig groß, da bei diesem Schwimmblatt die Spaltöffnungen auf der Oberseite liegen („Epistomatisches Blatt"). Im Schwammparenchym sind Schwimmkammern ausgebildet, in die große, sternförmig verzweigte Sklereiden ragen, deren Ausläufer sich auch zwischen die Palisadenzellen schieben.

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

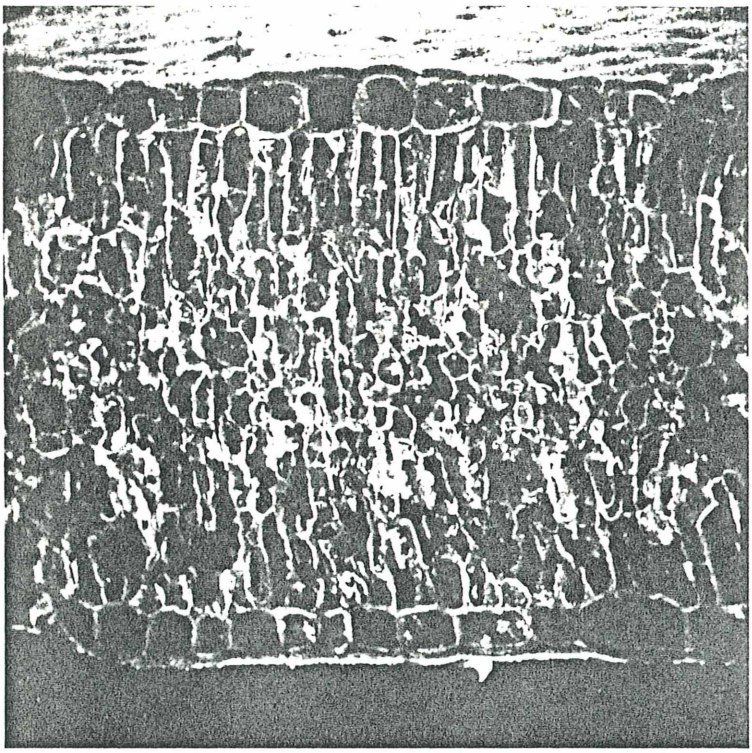


Bild 4: Blatt des Kompaßlattich, quer; REM-Aufnahme, 254×. Der Kompaßlattich ist eine Ruderalpflanze; auf solchen Standorten ist er der Sonneneinstrahlung ungeschützt preisgegeben. Seine Blätter stehen senkrecht in Nord-Südrichtung (Name!), so daß sie der Mittagssonne nur ihre Kanten darbieten. Das Blatt ist äquifazial gebaut, zwischen zwei mehrschichtigen Palisadenparenchymen liegt ein sehr dichtes Schwammparenchym. Rechts im Bild ist ein kleines Blattleitbündel zu erkennen.

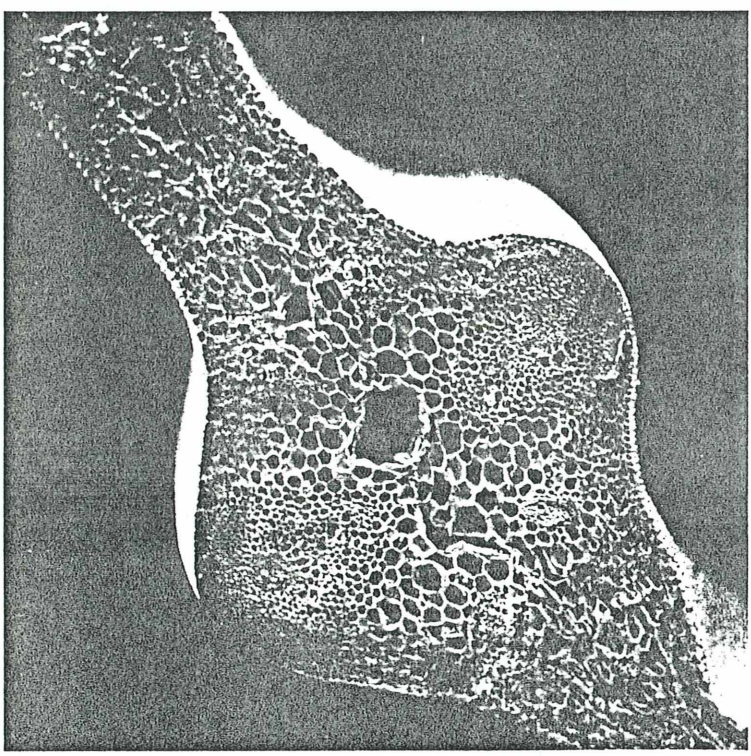
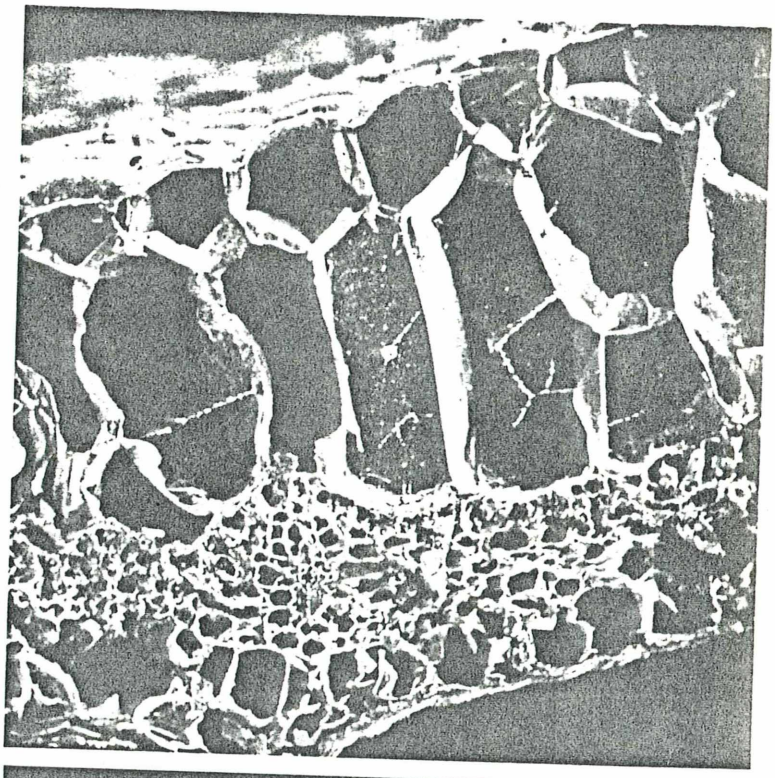
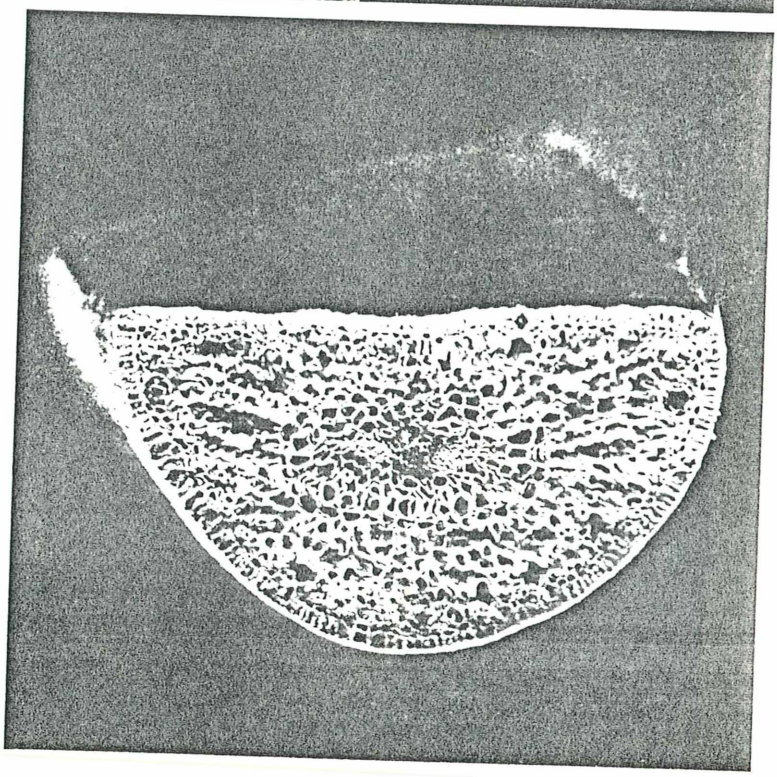


Bild 5: Blatt einer Schwertlilie, quer; REM-Aufnahme, 52×. Auch dieses Blatt wendet dem Licht seine Kante zu. Auf die Epidermen beider Seiten folgen Photosyntheseparenchyme aus fast isodiametralen Zellen. Das lockere Gewebe in der Blattmitte entspricht dem Schwammparenchym. Eine Blattrippe ist getroffen; in ihr stehen sich zwei Leitbündel gegenüber. Ihre Phloeme weisen nach außen; da sie in einem bifazialen Blatt der Unterseite zugekehrt sind, müssen beide Epidermen des *Iris*-Blattes der Unterseite entsprechen; Das Blatt ist unifazial gebaut.

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



: Blatt von
na spec., quer;
Aufnahme.
Das Blatt ist
lent; sowohl
roßzellige
Epidermis
ch die an-
ßende Hypo-
is, die aus
en Zellen be-
dienen als
rspeicher.
das untere
el des Blatt-
chnittes zeigt
hotosynthese-
chym, das
in Palisaden-
Schwamm-
chym geglie-
st. Auch die
e Epidermis ist
großzellig. In
Wasserspeicher-
n sind die Pro-
ten erhalten
ben: Der
, wandstän-
Plasmabelag
cht zu er-
n, wohl aber
ei Zellen die
e sowie feine
afäden, die,
enen ausge-
die Vakuole
ziehen. Sie
nen Perlen-
ren, die Ver-
ngen durften
rganellen
koplasten,
chondrien?)



: Kiefernnadel,
REM-Auf-
e, 77×. Dieses
morphe Blatt
uifazial ge-
Die Wände
pidermiszellen
stark verdickt,
Lumina fast
hwunden. Es
eine Lage von
artigen Hypo-
szellen. Das
ließende Meso-
besteht aus
n, deren Wände
alten ins Lu-
hineinragen
palisaden",
). An jeder
der Nadel ver-
ein Harz-
. Im Zentrum
n zwei Leit-
el schräg
ander; sie
n ein „Trans-
sgewebe" ein-
tet, das
tsächlich aus
den Paren-
zellen und
wandigen, ver-
en Tracheiden
loftüpfeln
ht. Eine Endo-
is umgibt die-
Zentralstrang.

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



Bld 8: Armpalisaden aus einer Kiefernnadel; REM-Aufnahme, 520×.

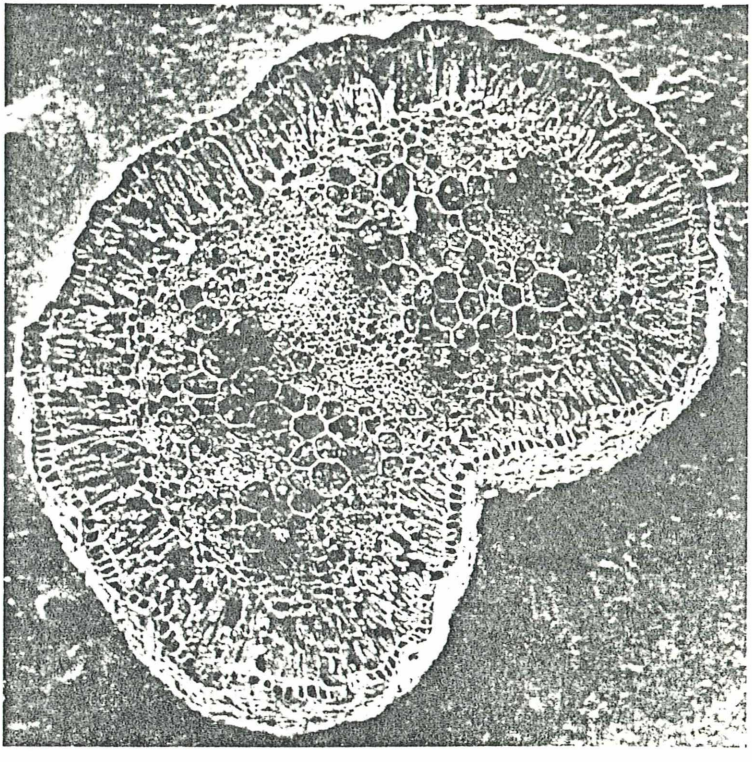


Bild 9: Blatt von *Hakea* spec., quer; REM-Aufnahme, 103×. Auch dieses Rundblatt ist äquifazial gebaut. Die Epidermis besteht aus dickwandigen Zellen, das anschließende Palisadenparenchym ist von verholzten Sklereiden durchzogen. Innerhalb davon liegt ein großzelliges, interzellularearmes Schwammparenchym dessen Zellen viel Stärke enthalten. Das einzige Leitbündel liegt in der Mitte des Blattes.

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

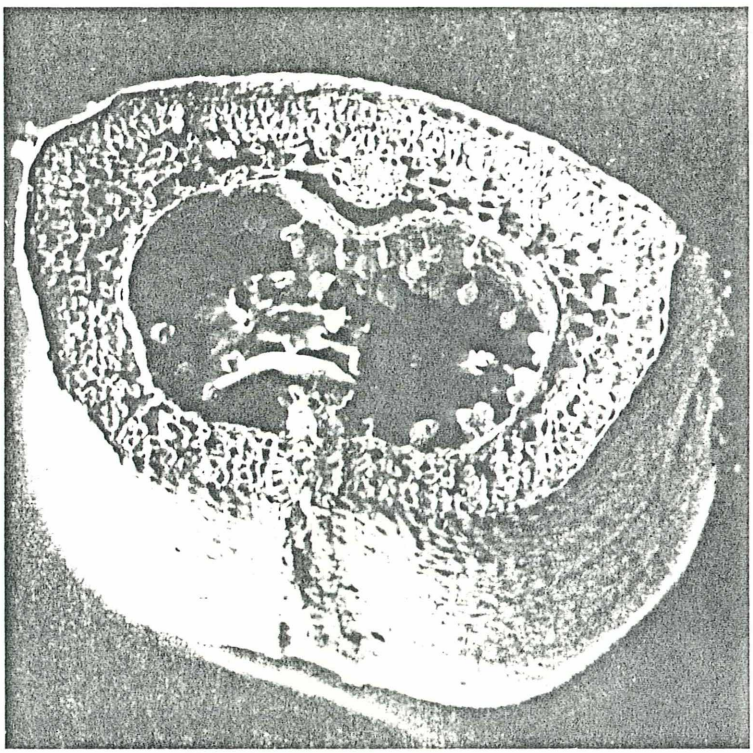


Bild 10: Blatt der Krähenbeere, quer; REM-Aufnahme, 93×. Ein bifaziales Blatt hat sich eingerollt; seine Ränder tragen zahlreiche Haare, die miteinander verfilzt sind und den Innenraum der so entstandenen Röhre nach außen hin verschließen. In diesen hinein ragen zahlreiche Drüsenhaare, und hier munden auch die Spaltöffnungen. An die untere (=innere) Epidermis schließt sich ein lockeres Schwamm-, sodann ein mehrschichtiges Palisadenparenchym an. Den äußeren Abschluß bildet eine feste Epidermis. Unter dem Leitbündel der Hauptrippe liegt ein großer Interzellularenraum.

Zur Einführung in die Mikroskopie

Frieder Sauer

Die Karpfenlaus als Parasit an Lurchen

Meine erste Begegnung mit der Karpfenlaus war von rein wissenschaftlichem Interesse. Ich hatte den Auftrag bekommen, Formen des Parasitismus zu fotografieren und holte mir Rat bei dem Parasitologen der tiermedizinischen Fakultät. „Die Karpfenlaus", so erfuhr ich dort, „finden Sie derzeit auf dem Fischmarkt, wo immer lebende Fische angeboten werden. Nur — Sie müssen sie sehen!"

Ich hatte damals längst die Literatur durchsucht. Ich wußte, daß die Karpfenlaus ein Einzelgänger ist unter den Ruderfußkrebsen, sie ist der einzige Vertreter einer eigenen Familie. Ihr wissenschaftlicher Name: *Argulus foliaceus*. Sie lebt als zeitweiser Außenparasit auf Cypriniden, also dem Karpfen und seinen Verwandten.

In den nächsten Wochen durchmusterte ich sorgfältig alle jene Becken in Fischhallen und Warenhäusern, in denen Karpfen und Schleien dicht zusammengedrängt auf den Verkauf warteten. Eine Karpfenlaus fand ich dort nicht.

Jahre später hielt ich einen spannenlangen Hecht im Aquarium, und es fiel mir auf, daß er nach einigen Wochen begann, blutrote Stellen am ganzen Körper und ausge-

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

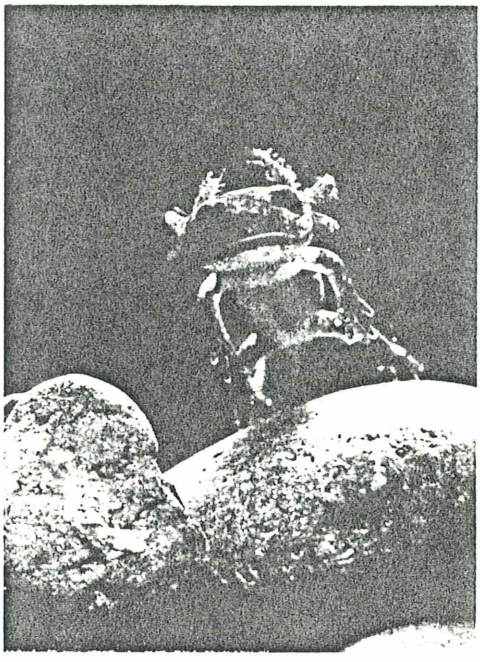


Bild 1: Selbst Salamanderlarven können von Karpfenläusen befallen werden.

fressene Stellen in den Flossen zu entwikkeln. Ich nahm ihn aus dem Wasser und musterte ihn genauer, fand aber nichts. Als ich ihn wieder ins Becken zurücksetzte, lösten sich von seinem Körper ganze Scharen von millimeterlangen Tieren, die mit gleichförmiger Geschwindigkeit durch das Wasser kurvten: Karpfenläuse!
Sie mußten also doch häufiger sein, und nun wurde mir klar, warum ich schon öfter beobachten konnte, wie sich Karpfen geradezu verbissen am Steingrund ihrer Wohngewässer scheuern. Sie schwammen dazu rasch schräg abwärts, legten sich im letzten Moment auf die Seite und rutschten dann mit wildem Flossenschlag eine kurze Strecke über die Steine. Die Karpfenläuse mußten ihnen schmerzhafte Stiche zufügen.
Später bekam ich aus einem Quellbach eine Feuersalamanderlarve, für die alleine ich eine kleines Aquarium herrichtete. Die Larve wuchs bei Fütterung mit Hackfleisch rasch heran. Schließlich begann sie, in kurzen Abständen an der Wasseroberfläche Luft zu schnappen. Ich hielt das für ein Zeichen dafür, daß ihre Lungen zu arbeiten begannen, und daß sich so der Übergang zum Landleben vorbereitete. Tage später lag die Larve aber tot im Wasser. Ich öffnete ihren Körper, um nach dem Zustand der Lunge zu schauen, denn ich fürchtete, sie sei ertrunken, weil ich ihr noch keine Landestelle hergerichtet hatte, und die Kiemen bereits ihre Funktion beendet hatten. Die Kiemen waren aber intakt, und eine Lunge fand ich überhaupt nicht vor. Statt dessen fand ich im verwaisten Becken zahlreiche Karpfenläuse. Ich hatte sie dort gar nicht vermutet und war erst nach einem Blick durch das Mikroskop überzeugt. Ich zählte 32 Tiere, eine Belegschaft, die ausgereicht haben dürfte, um die Salamanderlarve durch Giftbisse zu töten.
Man sollte in der Karpfenlaus aber nicht nur einen vernichtenswerten Schädling sehen, den z. B. Aquarianer mit allen Mitteln, zum Beispiel Bädern in hoch verdünnter Permanganatlösung (schwach rosa) ausrotten. Unter der starken Lupe oder dem Mikroskop ist die Karpfenlaus ein reizvolles Beobachtungsobjekt. Der typische Krebskörper ist abgeflacht und unter einem uhrglasförmigen Panzer verborgen. Ein Paar der Mundgliedmaßen ist zu einem Paar Saugnäpfe umgestaltet, zwei weitere kleine Saugnäpfe finden sich am Körperhinterende. Die Mundteile sind zum Stechen und Saugen eingerichtet. Auch die schiere Unsichtbarkeit der Karpfenlaus auf dem Wirtskörper findet unter der Lupe eine leichte Erklärung: Das Tier ist fast vollkommen durchsichtig.

Verfasser: Dr. Frieder Sauer, Eichenweg 8, 8047 Karlsfeld.

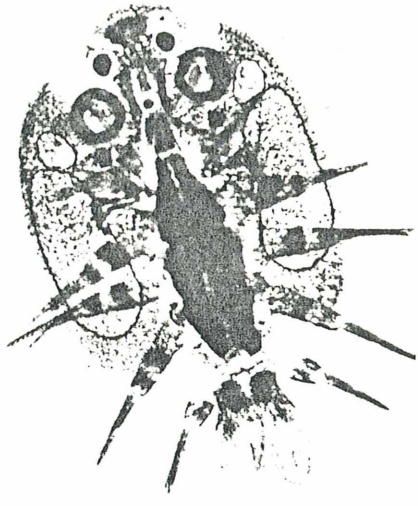


Bild 2: Die Karpfenlaus *Argulus foliaccus*.

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

Ditmar P. Becker

Experimenteller Nachweis der biologischen Stickstoff-Fixierung

1. Grundlagen

Der Stickstoff stellt ein für alle Lebewesen lebensnotwendiges Element dar. Obwohl die Erdatmosphäre mit fast 80% einen nahezu unerschöpflichen Vorrat an molekularem Stickstoff (N_2) besitzt — gegenüber nur ca. 0,03% Kohlendioxid — ist der Stickstoff für die meisten Pflanzen „Mangelware". Weder die höheren Pflanzen, noch die zellkernbesitzenden grünen Algen haben einen Weg gefunden, den Stickstoff in dieser Form unmittelbar zu nutzen. (Deshalb müssen wir unseren Kulturpflanzen laufend Stickstoffdünger zuführen.) Lediglich ein geringer Teil der Bakterien und Blaualgen ist in der Lage, den Luftstickstoff zu Ammoniak zu reduzieren und somit in eine leicht verwertbare Form umzuwandeln. Einige unter diesen sogenannten N_2-fixierenden Mikroorganismen, nämlich die freilebenden Arten, können den Stickstoff ohne Hilfe anderer Organismen binden. Als bekannteste Vertreter seien unter den Bakterien die aerob lebenden *Azotobacter*-Arten sowie die anaeroben *Clostridium*-Arten genannt. Als N_2-fixierende, freilebende Blaualgen konnten ungefähr 40 Arten identifiziert werden. Bestimmte Blaualgen spielen bei der Ertragsleistung von Reisfeldern (wo sie z. T. natürlich vorhanden sind oder künstlich zugesetzt werden) eine sehr wichtige Rolle, da sie eine ansehnliche Stickstoff-Anreicherung von 30—50 kg pro Hektar und Jahr bewirken. Andere Mikroorganismen binden unter natürlichen Bedingungen N_2 nur, wenn sie in Symbiose mit höheren Pflanzen vergesellschaftet sind. Von großer wirtschaftlicher Bedeutung sind hier Arten der Bakterien-Gattung *Rhizobium*, die in den Wurzelknöllchen der Leguminosen vorkommen. Hierauf beruht der beträchtlich ertragssteigernde Nutzen der Verwendung von Leguminosen zur „Gründüngung", der schon seit den frühesten Anfängen der Landwirtschaft empirisch bekannt ist und seither in hohem Maße angewendet wird. (Vgl. zu dieser Thematik den ausführlichen Beitrag von W. Dawid, Mikrokosmos, Heft 4, 1974.)

Die Leistung der biologischen Stickstoff-Fixierung erscheint umso bewundernswerter, wenn man bedenkt, welch hoher Aufwand — nämlich 500 °C und 200 at. (Haber-Bosch-Verfahren) nötig ist, um aus Luftstickstoff und Wasserstoff Ammoniak technisch darzustellen. Die Mikroorganismen bewerkstelligen dies sozusagen „spielend" bei Normaldruck (1 at.) und Normaltemperatur — und zwar enzymatisch. Das als Katalysator wirkende Enzymsystem ist die Nitrogenase.

2. Das Experiment

Versuchsmethode

Die Aktivität der Nitrogenase wollen wir anhand der folgenden Versuchsbeschreibung nachweisen. Dabei kommt uns zu Hilfe, daß dieses Enzymsystem bezüglich seines Substrates (so nennt man die Substanz, die von einem Enzym umgesetzt wird) nicht sehr wählerisch ist. Die Nitrogenase katalysiert nämlich nicht nur die Reduktion von Stickstoff zu Ammoniak, sondern sie vermag auch noch eine Reihe anderer Verbindungen zu reduzieren, darunter auch Acetylen, wobei als Reduktionsprodukt Äthylen gebildet wird. Das Äthylen kann in einem relativ einfachen Farbtest nachgewiesen werden (vgl. LaRue und Kurz, 1973). Dabei wird das Äthylen zunächst durch Oxidation mit Permanganat und Spaltung mit Perjodat in Formaldehyd überführt. Der Formaldehyd wird dann in einer Farbreaktion nach Hantzsch bestimmt, wobei Acetylaceton, Ammonium-Ionen und Formaldehyd miteinander unter Bildung von gelbem 3,5-Diacetyl-1,4-dihydrolutidin reagieren. Die Durchführung des Versuches soll an einem konkreten Beispiel demon-

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

striert werden. Als Versuchsobjekt wurde das freilebende Bodenbakterium *Azotobacter vinelandii* * gewählt. Dieses Beispiel soll lediglich das Grundprinzip und die Leistungsfähigkeit des Testes demonstrieren, in der Hoffnung, damit zu eigener experimenteller Betätigung anzuregen, für die ein weiter Spielraum gegeben ist. Es bietet sich z. B. an, eine Vielzahl weiterer Organismen auf Nitrogenase-Aktivität zu testen. Besonders gut eignen sich z. B. auch Wurzelknöllchen, die man durch Ausgraben der Wurzeln knöllchentragender Pflanzen z. B. einheimischer Hülsenfrüchtler und Abpflücken der Knöllchen leicht in ausreichender Menge gewinnen kann. Wenn die Nitrogenase-Aktivität nicht quantitativ — wie in der folgenden Versuchsbeschreibung — gemessen werden soll, wenn also lediglich geprüft werden soll, ob Nitrogenase-Aktivität vorhanden ist oder nicht, kann der Test entsprechend vereinfacht werden (Wegfall der Eichkurve usw.).

Benötigte Chemikalien und Lösungen

- Acetylaceton
- Ammoniumacetat
- 4 N H_2SO_4
- 0,05 M $NaJO_4$: 1,65 g Natriumperjodat in 100 ml destilliertem Wasser gelöst (die Lösung ist in einer dunklen Flasche höchstens vier Wochen haltbar).
- 0,005 M $KMnO_4$: 0,08 g Kaliumpermanganat in 100 ml destilliertem Wasser gelöst (ebenfalls in einer dunklen, gut verschlossenen Flasche aufbewahren!).
- 4 M $NaAsO_2$: 52 g Natrium-meta-arsenit in 100 ml destilliertem Wasser gelöst.
- Acetylen: kommerziell in Stahlflaschen erhältlich. (Eine weitere Quelle zur Beschaffung des Gases sind Schweißanlagen, die mit einem Acetylen-Sauerstoff-Gemisch arbeiten.)
- Äthylen: (Falls die Aufstellung einer Eichkurve gewünscht wird.) Ebenfalls kommerziell in Gasflaschen erhältlich.

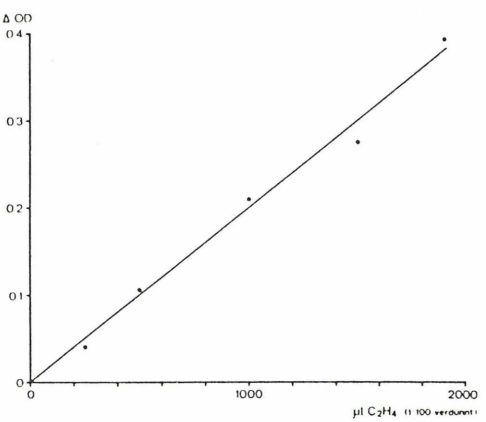


Bild 1: Eichkurve zur quantitativen Äthylen-Bestimmung durch Colorimetrie bei 412 nm.

Das Permanganat-Perjodat-Reagenz (zur Spaltung und gleichzeitigen Oxidierung des Äthylens zu Formaldehyd) enthält 40 ml der 0,05 M $NaJO_4$-Lösung und 5 ml der 0,005 M $KMnO_4$-Lösung. Mit KOH wird auf pH 7,5 eingestellt und anschließend mit destilliertem Wasser auf 50 ml Endvolumen aufgefüllt.

Das Nash-Reagenz (zum Nachweis des Formaldehyds nach Hantzsch) enthält 15,0 g Ammoniumacetat in 99,5 ml destilliertem Wasser gelöst sowie anschließend zugefügten Eisessig (0,3 ml) und Acetylaceton (0,2 ml).

Nährlösung für *Azotobacter vinelandii*:

Glucose	10,0 g
$CaCl_2 \cdot 2\,H_2O$	100,0 mg
$MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$	100,0 mg
$Na_2MoO_4 \cdot 2\,H_2O$	5,0 mg
K_2HPO_4	900,0 mg
KH_2PO_4	100,0 mg
$FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$	10,0 mg
$CaCO_3$	5,0 g

in 950 ml destilliertem Wasser lösen, pH auf 7,3 einstellen und autoklavieren (die 10 g Glucose in 50 ml destilliertem Wasser getrennt autoklavieren und dann erst zugeben).

Versuchsdurchführung

Es hat sich die Verwendung von Serumflaschen als besonders zweckmäßig erwiesen, da sie gasdicht, sterilisierbar und bei der Gasentnahme leicht zu handhaben sind. (Die Serumflaschen sind im Laborhandel erhältlich.) Zunächst wird eine (möglichst) sterilisierte Serumflasche (100 ml) mit 40 ml (sterilem) Kulturmedium (s. o.) gefüllt, mit einer mit *Azotobacter*-Kultur beladenen Impföse beimpft und mit der zugehörigen Gummikappe gasdicht verschlossen. (Sollen Wurzelknöllchen getestet werden, wird die Serumflasche statt mit beimpftem Kulturmedium zu ca. einem Drittel mit Knöllchen gefüllt.) Durch Durchstechen der Gummikappe mit der Nadel einer Spritze können 1—2 ml Luft aus dem Gasraum der Flasche entnommen und durch Acetylen ersetzt werden. Die Entnahme des Acetylens kann aus einer Woulffschen Flasche, die dreimal hintereinander abwechselnd mit einer Wasserstrahlpumpe evakuiert und danach über eine Schlauchverbindung aus der Stahlflasche mit Acetylen gefüllt wird, erfolgen

* Der verwendete Stamm (ATCC 13705) wurde von der „Deutschen Sammlung von Mikroorganismen", D-34 Göttingen, Griesbachstraße 8, bezogen.

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

(Vorsicht: Acetylen ist bekanntlich ein hochexplosives Gas!). Der mittlere Stutzen der Woulffschen Flasche wird mit einer Silikonkappe verschlossen, so daß hier ebenfalls mit der Spritze die gewünschten Gasvolumina entnommen werden können.
Die mit der Bakteriensuspension und dem Acetylen beschickte Serumflasche wird auf einen Schüttler montiert und 72 Stunden leicht bewegt. Während dieser Zeit vermehren sich die Bakterien in der Nährlösung und reduzieren gleichzeitig auf Grund ihrer Nitrogenase-Aktivität einen Teil des zugegebenen Acetylens zu Äthylen.
Das gebildete Äthylen wird auf folgende Weise nachgewiesen: Es werden mit einer Spritze 1 und 2 ml aus dem Gasraum der Serumflasche entnommen und auf 2 kleinere Serumflaschen (35 ml), die 3 ml Permanganat-Perjodat-Reagenz enthalten, verteilt. Diese beiden Flaschen werden auf einem Schüttler bei Zimmertemperatur für 90 Minuten kräftig geschüttelt. Dabei findet gleichzeitig die Oxidation und Spaltung des Äthylens zu Formaldehyd statt. Anschließend wird der Inhalt der kleinen Serumflaschen — um zunächst das überschüssige Permanganat-Perjodat-Reagenz zu zerstören — mit 0,5 ml der Natrium-meta-arsenit-Lösung und 0,5 ml der H_2SO_4-Lösung versetzt und gut geschüttelt. Der Formaldehyd wird anschließend durch Zugabe von 2 ml Nash-Reagenz nachgewiesen: Nach kurzer Zeit färben sich die Proben deutlich gelb. Zur quantitativen Bestimmung des Formaldehyds — und damit des gebildeten Äthylens — müssen die Proben zunächst eine Stunde bei Zimmertemperatur stehen. Anschließend wird die Extinktion bei 412 nm im Spektralphotometer gemessen. Durch Vergleich dieser Meßwerte mit denen einer Eichkurve läßt sich die Menge des gebildeten Äthylens ermitteln. Zur Aufnahme der Eichkurve (vgl. Bild 1) wird authentisches Äthylen zunächst in einer Serumflasche 1 : 100 mit Luft verdünnt. Von diesem Gemisch werden 0—2000 µl wie die Versuchsproben analysiert. Bild 2 zeigt das Aussehen der Proben für die Eichkurve von Bild 1 vor der Messung im Spektralphotometer.

Ergebnis

Die beiden Gasproben von 1 und 2 ml, die nach 72stündiger Inkubation der Bakteriensuspension mit Acetylen analysiert wurden, lieferten eine Extinktion von 0,06 bzw. 0,11. Das entspricht laut Eichkurve einem Gehalt an Äthylen von 3,0 bzw. 5,8 µl. Somit enthielt der gesamte Gasraum (60 ml) 180 µl oder 8 µMol von den Bakterien gebildetes Äthylen.

Verfasser: Dr. Dipl. Biol. Ditmar P. Becker, Gattikonerstraße 77, CH-8135 Gattikon, Schweiz.

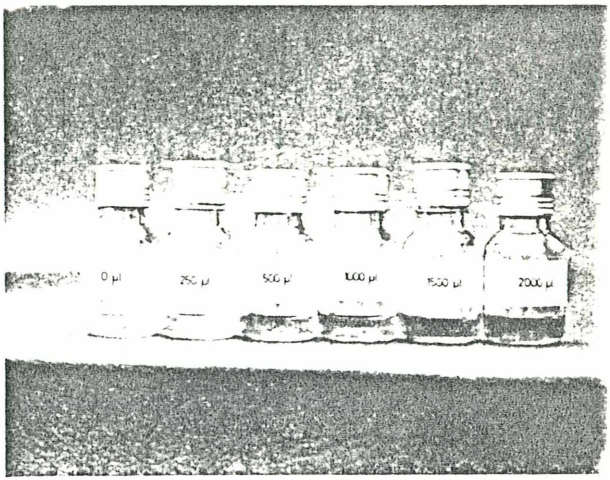


Bild 2: Mit verschiedenen Äthylenmengen angesetzte Proben nach der Reaktion. Hiermit wurde die Eichkurve (Bild 1) erstellt.

3. Spezifität und Leistungsfähigkeit des Tests

Das Permanganat-Perjodat-Reagenz setzt nicht nur Äthylen, sondern auch noch andere, eine endständige Kohlenstoff-Doppelbindung tragende Verbindungen zu Formaldehyd um. Da aber diese Verbindungen in der zur Untersuchung gelangenden Gasphase nicht zu erwarten sind, ist eine Gefahr der Verfälschung der Ergebnisse von dieser Seite weitgehend auszuschließen. Kritischer zu bewerten ist die Tatsache, daß Perjodat auch andere Verbindungen, wie z. B. viele Kohlenhydrate, zu Aldehyden oxidiert. So liefert bereits 1 µg Mannit nachweisbare Mengen Formaldehyd. Es ist daher darauf zu achten, daß keine nichtgasförmigen Stoffe in den Test-Ansatz übertragen werden und daß die Glasgeräte vor Gebrauch sorgfältig gereinigt werden. Vergleichende Messungen mit diesem Test und der Gaschromatographie (einem Verfahren, das in der Wissenschaft routinemäßig zur Bestimmung der Nitrogenase-Aktivität angewandt wird) ergaben identische Meßwerte. Lediglich die Empfindlichkeit ist beim Farb-Test etwas niedriger, was aber durch seinen sehr geringen apparativen Aufwand aufgewogen wird.

Literaturhinweise:

1. *Burns, R. C., Hardy, R. W.:* Molecular Biology, Biochemistry and Biophysics, Vol. 21, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1975.
2. *Dilworth, M. J.:* Biochim. Biophys. Acta, 127, 285—294 (1966).
3. *Koch, B., Evans, H. J.:* Plant Physiol., 41, 1748 to 1750 (1966).
4. *LaRue, T. A., Kurz, W. G. W.:* Plant Physiol., 51, 1074—1075 (1973).

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

Gerhard Göke

Methoden der Fluoreszenzmikroskopie

2. Die praktische Arbeit

Der erste Teil dieses Beitrages behandelte den Aufbau des Fluoreszenzmikroskops bei Durchlicht-, Dunkelfeld- und Auflichtanregung, sowie bei simultaner Kontrastfluoreszenz. Im vorliegenden zweiten Teil werden bewährte Untersuchungsmethoden beschrieben, die ohne großen Aufwand durchgeführt werden können und meistens nur eine Blauviolettanregung mit der Niedervolt- oder Halogenleuchte erfordern.

Die Beobachtung der Eigenfluoreszenz

Für die Arbeit mit den beschriebenen Fluoreszenzeinrichtungen benötigt man Objektträger und Deckgläser aus reinweißem, nicht fluoreszierendem Glas und fluoreszenzfreie Einschlußmittel wie Glyzerin, reines Paraffinöl, Entellan oder UV-Inert.
Eigenfluoreszenz ist besonders häufig bei Mineralien, fossilen Hölzern und Harzen zu beobachten (Bilder 1—3). Zur Demonstration dieser Leuchterscheinungen sind Körnerpräparate von sekundären Uranmineralien, Dünnschliffe von Braunkohlenhölzern und Anschliffe von Achaten sehr gut geeignet. Als Einschlußmittel verwendet man UV-Inert (SERVA, Heidelberg).
Pflanzen enthalten oft fluoreszierende Inhaltsstoffe. Hier können nur wenige Beispiele genannt werden: Das Chlorophyll und seine Abbauprodukte, Glukoside, Alkaloide und eine Reihe von Vitaminen. Holz leuchtet in der Regel blau bis blaugrau. Die Intensität der Blaufluoreszenz wird vom Ligningehalt bestimmt, doch können auch andere Stoffe eine intensive Fluoreszenz der Holzteile bewirken. Schöne Demonstrationsobjekte sind Schnitte durch das Holz der Berberitze, das aufgrund seines Berberingehaltes bei UV-Anregung intensiv grün leuchtet. Auch die Bastbündel der Pflanzen fluoreszieren bläulich, die Kutikula weißlich. Chlorophyllhaltige Pflanzenteile leuchten intensiv rot. Die Samen von *Pinus*, *Picea*, *Albies* und *Fraxinus* lassen in ihren Keimblättern stark leuchtende Stoffe erkennen.
An zoologischen Objekten können primäre Fluoreszenzerscheinungen nicht so häufig beobachtet werden, doch gibt es auch hier interessante Demonstrationsobjekte. Die gelben und roten Flügelschuppen von exotischen Schmetterlingen fluoreszieren bei UV-Anregung sehr intensiv (Pterine). Ein Einschlußmittel ist nicht erforderlich. Auch die gelben und roten Federn der Papageien und Sittiche sind geeignete Objekte. Sie können nach dem Eintauchen in Xylol mit Entellan oder UV-Inert zu Dauerpräparaten verarbeitet werden. Im UV-Licht fluoreszieren die lipophilen Farbstoffe.

Fluoreszenzmikroskopie mit Fluorochromen

Fluorochrome sind Substanzen, die sich den Zell- oder Gewebselementen anlagern ohne sie sichtbar zu färben. Im UV- oder Blaulicht leuchten sie jedoch in charakteristischen Farben. Es gibt Fluorochrome, die das erregende Licht fast verlustlos in Fluoreszenzlicht umsetzen. Andere haben nur eine Ausbeute von wenigen Prozent. Da nur absorbiertes Licht in Fluoreszenzlicht umgewandelt werden kann, ist die Fluoreszenzintensität von der Lichtabsorption der Fluorochrome abhängig. Der Filterschwerpunkt des Erregerfilters und das Absorptionsmaximum des verwendeten Fluorochroms müssen möglichst gut übereinstimmen. In Tabelle 1 sind die Lagen der Absorptionsmaxima und die optischen Schwerpunkte der Fluoreszenz einiger gebräuchlicher Fluorochrome zusammengestellt worden.
Die Blauviolettanregung mit der Halogen- oder konventionellen Niedervoltleuchte führt nur bei solchen Fluorochromen zu guten Ergebnissen, deren Lichtabsorption zwischen 430 und 550 nm liegt. Außerdem

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

Tabelle 1: Absorptionsmaxima und Fluoreszenzmaxima einiger Fluorochrome.

Fluorochrom	Maximum der Lichtabsorption	Maximum der Fluoreszenz	Fluoreszenz-bande	Farbe
Akridinorange	495 nm	585 nm	530—630 nm	gelbgrün
Auramin	—	—	490—590 nm	grün
Chlorophyll	520 nm	655 nm	630—830 nm	rot
Coriphosphin O	535 nm	530 nm	470—660 nm	grün
Eosin	527 nm	580 nm	540—640 nm	gelb
Euchrysin	444 nm	530 nm	470—670 nm	grün
Fluoreszein-Na	490 nm	527 nm	500—600 nm	gelbgrün
Rhodamin B	560 nm	615 nm	550—700 nm	orange
Berberinsulfat	350 420 nm	548 nm	420—570 nm	gelbgrün
Rivanol	363 414 nm	530 nm	450—610 nm	grün
Thiochrom	375 nm	455 nm	—	blau

ist die Fluoreszenz noch von einer Reihe chemischer Faktoren abhängig, zum Beispiel vom pH-Wert des Mediums.

Die Vitalfluorochromierung

Von den genannten Fluorochromen ist das Akridinorange wegen seiner geringen Toxizität am vielseitigsten verwendbar. Es fluoresziert bei einer Verdünnung von 1 : 500 rot und von 1 : 10 000 grün. Bringt man lebende Mikroorganismen in eine wäßrige Lösung von 1 : 10 000 bis 1 : 20 000, so absorbieren sie innerhalb von 15 Minuten den Farbstoff. Lebende Organismen fluoreszieren im blauvioletten Licht leuchtend grün. Das lebende Plasma kann nur wenig Farbstoff aufnehmen. Tote Organismen fluoreszieren hingegen kupferrot, weil das Plasma große Mengen des Farbstoffes zu binden vermag. Diese Reaktion ist für die sichere Unterscheidung lebender und toter Bakterien, Hefen, Protozoen usw. von großer Bedeutung. Anwesende chlorophyllhaltige Zellen, zum Beispiel Algen, zeigen eine tiefrote Fluoreszenz.

Für das Verständnis der Fluoreszenzerscheinungen an lebenden und toten Zellen sind Modellversuche an einfachen Systemen sehr hilfreich. Nachfolgend werden zwei Modellversuche beschrieben, die mit einem improvisierten Fluoreszenzmikroskop durchgeführt werden können. Erforderlich sind drei Hilfsmittel: Eine starke Niedervolt- oder Halogen-Mikroskopierleuchte, das Erregerfilter BG 12 4 mm im Filterträger des Mikroskops und das Sperrfilter OG 530 1 mm im Okular oder vor der Tubuslinse. Als Modell für die Zellwand werden Zellulosefasern, als Modell für das Protoplasma ein Gelatine-Toluol-Modell verwendet.

Das Zellulosemodell (nach Strugger): Zunächst werden wäßrige Akridinorangelösungen 1 : 10 000 mit abgestuftem pH-Wert hergestellt. Der Farbstoff wird in Phosphatpuffergemischen aufgelöst. Man legt Zellulosefasern 20 Minuten lang in diese Lösungen, wäscht sie anschließend in ungefärbten Puffern vom gleichen pH-Wert aus und untersucht sie mit dem Fluoreszenzmikroskop.

Bei pH 2 eingefärbte Fasern fluoreszieren immer grün, auch bei sehr langer Überfärbung. Nach Überschreitung des pH-Wertes 3 beginnen die Fasern das Akridinorange zu speichern. Die Fluoreszenzfarbe wird gelb bis rötlichgelb. Bei pH 4—5 ist die Fluoreszenz kupferrot, über pH 5 gleißend kupferrot. Bei pH 8,5 ist die Fluoreszenz wieder grüngelb und bei pH 11 rein grün. Zur Kontrolle des pH-Wertes genügen die Universalindikatorstäbchen (Nr. 9535) von Merck oder ein ähnliches pH-Papier.

Das Gelatine-Toluol-Modell (nach Strugger): 5 ml einer abgekühlten aber noch flüssigen Gelatine und 1 ml Toluol werden im Reagenzglas durch Schütteln vermischt. Je ein Tröpfchen dieser Emulsion wird auf Objektträgern ausgebreitet. Nach dem Erstarren sitzt auf dem Objektträger eine flache Gelatinekuppe, die mikroskopisch kleine Toluoltröpfchen enthält. Der Eiweißkörper Gelatine simuliert das Protoplasma, während das Toluol als Analogon für lipoide Phasen zu betrachten ist.

Die Objektträger werden 50—60 Minuten in Färbetröge mit den oben beschriebenen Akridinorangelösungen gestellt. Dann wäscht man sie kurz in farbloser Pufferlösung und untersucht den Gelatinefilm mit dem Fluoreszenzmikroskop. Bei pH 2—3 fluoresziert die Gelatine grün. Die Toluoltröpfchen sind farblos. Bei pH 5 fluoresziert die Gelatine trüb kupferrot, die Toluoltröpfchen schwach grün. Bei pH 8 leuchtet die Gelatine wieder schwach grün, die Toluoltröpfchen jedoch intensiv grün. Bei pH 11 ist die Gelatine fast farblos, während die Toluoltröpfchen grell gelbgrün fluoreszieren.

Diese Modellversuche zeigen, daß Zellmembranen im pH-Intervall 3—8 rot fluorochromiert werden, was auf einer Elektroadsorption der Farbkationen an der Zellulose beruht. Der Eiweißkörper Gelatine verhält sich oberhalb seines isoelektrischen Punktes von pH 4 genau so wie die Zellulose. Hingegen färbt sich die organische Phase Toluol erst im stark alkalischen Bereich. Demnach ist zu erwarten, daß die Eiweißkörper des Protoplasmas das Akridinorange als Kation speichern und diese Spei-

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

cherung zwischen pH 5 und pH 8 erfolgen muß. Solche Versuche können auch mit anderen Fluorochromen durchgeführt werden, wenn deren Wirkung erprobt bzw. demonstriert werden soll.

Der nachfolgend beschriebene, einfache Versuch zeigt das Verhalten lebender und toter Zellen gegenüber Akridinorange. Man benötigt die obere Epidermis der Zwiebelschuppe von *Allium cepa* (Küchenzwiebel), die bekanntlich leicht zu isolieren ist. Diese einzellschichtige Haut lebender Zellen soll möglichst unverletzt sein.

1. Versuch: Lebende Epidermishäutchen werden in Akridinorangelösung 1 : 1000 (hergestellt mit Leitungswasser) gelegt. Von Zeit zu Zeit erfolgt nach kurzem Auswaschen in Leitungswasser eine fluoreszenzmikroskopische Untersuchung unter den gleichen Bedingungen, wie sie beim Zellulosemodell beschrieben wurden.

2. Versuch: Lebende Epidermishäutchen werden in kochendem Wasser abgetötet und unter den Bedingungen des ersten Versuches weiterbehandelt.

Ergebnis: Nach ca. 15 Minuten fluoreszieren am lebenden Material die Zellmembrane kupferrot, während das Zytoplasma grün und die Kerne gelbgrün leuchten. Untersucht man das tote Material nach 15 Minuten, so leuchten Zellmembran, Zytoplasma und Zellkerne grell kupferrot. Auch nach 24 Stunden ist am Material beider Versuchsreihen keine prinzipielle Änderung zu beobachten. Das lebende Zytoplasma und die Zellkerne bleiben grün bis gelbgrün, das tote Material hingegen intensiv kupferrot. Demnach vermag lebendes Protoplasma Akridinorange sehr rasch, aber nur in beschränktem Maße zu speichern. Im Gegensatz dazu wird totes Plasma so stark mit Akridinorange beladen, daß bereits in kurzer Zeit eine gleißende, kupferrote Fluoreszenz auftritt.

Die Fluorochromierung von fixiertem Material

Nachfolgend werden einige Arbeitsvorschriften empfohlen, die unproblematisch sind und auch mit einem improvisierten Fluoreszenzmikroskop gute Ergebnisse liefern. Einige Vorbereitungen sind jedoch erforderlich.

Herstellung der Fluorochromlösung: Das Fluorochrom wird in einen 100 ml-Meßkolben eingewogen, in 80—90 ml dest. Wasser gelöst, mit einigen Tropfen verflüssigtem Phenol (Karbolsäure) versetzt und mit destilliertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt. Fluorochrome, die bei einem bestimmten pH-Wert zu verwenden sind, werden in einem geeigneten Puffer ohne Phenolzusatz gelöst. Alkoholische Lösungen werden durch direktes Lösen des Fluorochroms in Alkohol hergestellt.

Fixierung: Frisches oder nur kurz fixiertes Material (Formol 4% ig) ist am besten geeignet. Alle quecksilber- und eisenhaltigen Fixierungsmittel löschen die Fluoreszenz und sind deshalb unbrauchbar.

Fluorochromierung: Von dem auf einem Objektträger liegenden entparaffinierten Schnitt wird das zuletzt verwendete Waschwasser mit Filtrierpapier abgesaugt. Dann gibt man einige Tropfen Fluorochromlösung auf den Schnitt (oder Ausstrich) und läßt sie der Vorschrift entsprechend einwirken. Anschließend saugt man die Lösung mit Filtrierpapier ab und gibt einige Tropfen Wasser zu, die ebenfalls abgesaugt werden. Dieser Waschvorgang wird so oft wiederholt, bis das mit Waschwasser vollgesogene Filtrierpapier farblos bleibt. Man läßt den Schnitt an der Luft trocknen, wenn er nicht in Wasser oder Glyzerin eingebettet werden soll.

Einschluß der Präparate: Je nach Art der Färbung wird der Schnitt bzw. Ausstrich in Wasser, Glyzerin, Paraffinöl, Entellan oder UV-Inert eingeschlossen und mit einem Deckglas bedeckt. Ausstriche, die mit der Ölimmersion ohne Deckglas untersucht werden sollen, versetzt man mit einem Tropfen fluoreszenzfreiem Immersionsöl. Die mit Entellan oder UV-Inert hergestellten fluorochromierten Dauerpräparate sind nicht so lange haltbar wie die mit gewöhnlichen Diachromen gefärbten Präparate.

A. Tierisches Gewebe

Darstellung der Zellkerne

1. Schnitt 3 Minuten in wäßriger Lösung von Akridinorange bzw. Coriphosphin O, Phosphin 3 R oder Euchrysin 1 : 10 000 fluorochromieren.
2. Mit Wasser waschen.
3. 10 Minuten in Formol (4% ig) baden, anschließend trocknen.
4. Lufttrockenen Schnitt in Entellan oder UV-Inert einschließen.

Mikroskopie: Blauviolettanregung mit Filter BG 12/4 mm, Sperrfilter OG 530/1 mm.
Ergebnis: Zellkerne leuchtend gelb.

Darstellung von Eiweiß bei serösen Entzündungen

1. 2—12 Stunden in Carnoyschem Gemisch fixieren.
2. 1—2 Stunden in fließendem Wasser waschen.
3. Paraffineinbettung, Schneiden, Entparaffinieren.
4. 2,5 Minuten in wäßriger Lösung von Euchrysin 2 GNX 1 : 10 000 fluorochromieren.
5. Waschen in Wasser.
6. 0,5 Minuten fluorochromieren in wäßriger Lösung von Thiazinrot R 1 : 10 000 oder Euchrysin 2 GNX 1 : 10 000.

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

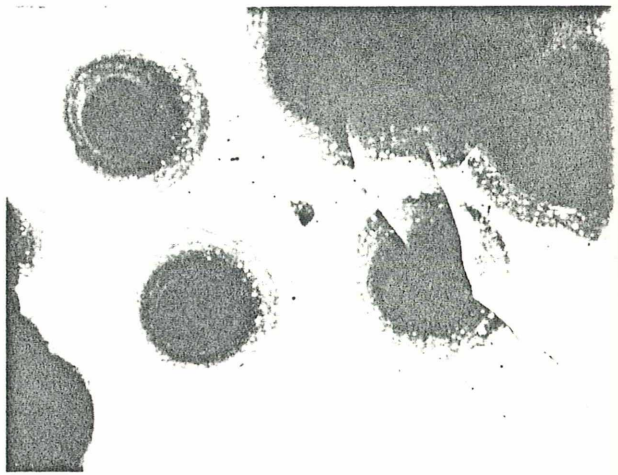
7. Waschen in Wasser (2 Minuten).
8. 2 Minuten in wäßriger, gesättigter Aluminiumsulfatlösung baden.
9. 2 Minuten in Wasser waschen. Einschluß in Wasser.

Mikroskopie: Blauviolettanregung mit Filter BG 12 4 mm, Sperrfilter OG 530 1 mm. UV-Anregung mit Filter UG 1 2 mm + BG 38 2 mm, Sperrfilter GG 455 2 mm.
Ergebnis: Kerne gelb bis dunkelgrün, Bindegewebe gelbgrün bis blaßrosa, Muskelzellen weißblau, ausgetretenes Serumeiweiß braunrot.

Darstellung von Fett

1. Fluorochromieren in wäßriger Lösung von Coriphosphin R 1 : 1000 (1 min), bzw. Phosphin 3 R 1 : 10 000 (2 min), Primulin O 1 : 10 000 (10 min), Neutralrot B 1 : 2000 (2 min) oder Thioflavin S 1 : 10 000 (10 min).
2. Waschen in Wasser.
3. 10 Minuten baden in verdünntem Formol (4% ig).
4. Einbetten in Glyzerin.





Bilder 1 bis 3: Mexikanische Achate bei UV-Auflichtanregung. Vergrößerung 10 : 1. Erregerfilter UG 1/2 mm, Sperrfilter GG 10 2 mm.
Die hellen Zonen sind fluoreszierende Chalcedonlagen, die von verschiedenen Spurenelementen zur Fluoreszenz angeregt werden. Bei den dunkelgrauen bis schwarzen Bändern handelt es sich um eisenoxidhaltige Chalcedonschichten. Eisenverbindungen löschen die Fluoreszenz. Deshalb werden die im gewöhnlichen Licht roten bis rotbraunen Bänder dunkelgrau und tiefschwarz abgebildet.

Mikroskopie: Blauviolettanregung mit Filter BG 12 4 mm, Sperrfilter OG 530 1 mm. UV-Anregung mit Filter UG 1 2 mm + BG 38 2 mm, Sperrfilter GG 455 2 mm.
Ergebnis: Fluoreszenzfarbe des Fettes (Fettzellen) nach Fluorochromierung mit Coriphosphin gelbgrün, mit Neutralrot goldgelb, mit Phosphin grün, mit Primulin grün, mit Thioflavin S dunkelblau.

Fluorochromierung von Leukozyten und Lymphozyten

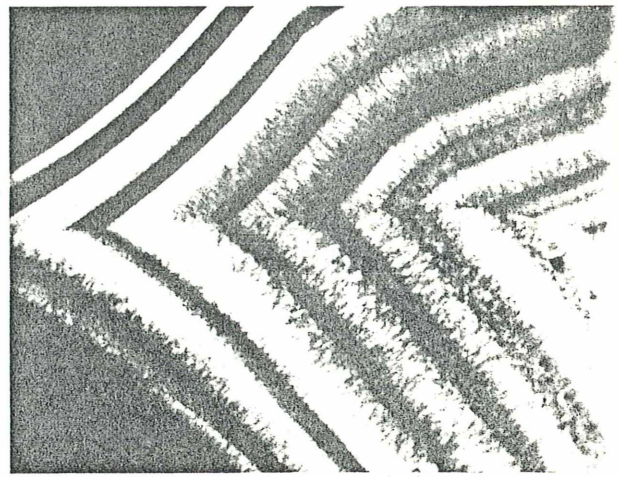
1. Blut sehr dünn auf Objektträger ausstreichen.
2. 10 Minuten fixieren in Methanol.
3. Fluorochromieren 4 Minuten in wäßriger Lösung von Coriphosphin O, bzw. Euchrysin oder Thioflavin S 1 : 1000.
4. In Wasser waschen und trocknen.

Mikroskopie: Blauviolettanregung mit Filter BG 12 4 mm, Sperfilter OG 530 1 mm.
Ergebnis: Leukozyten und Lymphozyten fluoreszieren orange bis gelb.

B. Pflanzliches Gewebe

Zellkerne und Protoplasma (nach Haitinger)

1. 4 min fluorochromieren in Mischung von:



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

Wäßriger Lösung von Coriphosphin O 1 : 10 000 75 ml. Wäßriger Lösung von Fuchsin 1 : 10 000 25 ml.
2. Waschen mit Wasser.
Mikroskopie: Blauviolettanregung mit Filter BG 12/4 mm, Sperrfilter OG 530 1 mm.
UV-Anregung mit Filter UG 1/2 mm + BG 38 2 mm, Sperrfilter GG 455 2mm.
Ergebnis: Zellkerne gelbgrün bis gelb, Protoplasma rot, Kernkörperchen orange, Karyotin gelbgrün, Chromosomen gelbgrün.

Eiweißkristalle neben Fett in fetthaltigen Samen (nach Haitinger)

1. 2 Minuten in kalt gesättigter, alkoholischer (50 Vol%iger) Lösung von Aminoterephtalsäure fluorochromieren.
2. Waschen mit dest. Wasser.
3. 10 Sekunden in wäßriger Lösung von Primulin O 1 : 1000 fluorochromieren.
4. Waschen mit dest. Wasser.
5. Fluorochromieren in Chlorophyll-Extrakt (unverdünnt) je nach Qualität 3 bis 6 Minuten.
6. Waschen in Wasser und Einbetten in Glyzerin.

Mikroskopie: UV-Anregung mit Filter UG 1/2 mm + BG 38/2 mm, Sperrfilter GG 420 2 mm.
Ergebnis: Eiweißkristalle blau, Fett rot, Zellwände gelb.

Zellwände

1. Fluorochromieren 1 Minute in wäßriger Lösung von Coriphosphin O 1 : 1000.
2. Waschen in Wasser.
3. Nachbaden in verdünntem Formol (4-%ig). Trocknen.
4. Einschluß in UV-Inert oder Entellan.

Mikroskopie: Blauviolettanregung mit Filter BG 12/4 mm, Sperrfilter OG 530/1 mm.
Ergebnis: Zellwände orange.

Unterscheidung verholzter und unverholzter Zellen (nach Haitinger)

1. Fluorochromieren mit den in Tabelle 2 geordneten Fluorochromen.
2. Waschen in Wasser.
3. 10 Minuten nachbaden in verdünntem Formol (4%ig).
4. Trocknen und in Entellan oder UV-Inert einschließen.

Nachweis von Antineurin (Vitamin B_1) in Keimlingen

1. 8 Minuten baden in Mischung von: Wäßriger Lösung von rotem Blutlaugensalz (2%ig) 25 ml. Wäßriger Lösung von Natriumhydroxid (20%ig) 25 ml. Äthanol (96%ig) 50 ml.
2. 5 Minuten baden in Isobutanol, danach nicht waschen.

Mikroskopie: UV-Anregung mit Filter UG 1/2 mm + BG 38/2 mm, Sperrfilter GG 435/2 mm.
Ergebnis: Vitamin B_1 in Scutellum und Keimlingen kornblumenblau.

C. Bakteriologisches und parasitologisches Material

Nachweis von Bakterien-Sporen (nach Strugger)

1. Material auf dem Objektträger ausstreichen und an der Luft trocknen.
2. Fixieren in der Flamme.
3. Wäßrige, phenolhaltige Lösung von Brillantsulfoflavin 1 : 400 aufbringen und kurz bis zur Dampfbildung über der Flamme erhitzen. Dann 2 Minuten einwirken lassen.
4. Waschen in dest. Wasser.
5. 40 Sekunden fluorochromieren mit wäßriger Lösung von Coriphosphin O 1 : 1000.
6. Waschen in dest. Wasser.
7. Trocknen an der Luft und in Paraffinöl einschließen.

Mikroskopie: UV-Anregung mit Filter UG 1/2 mm + BG 38/2 mm, Sperrfilter GG 475/2 mm.
Ergebnis: Sporen grüngelb, Bakterien kupferrot.

Nachweis von Trypanosomen und Plasmodien (nach Hagemann)

1. Material auf dem Objektträger ausstreichen. An der Luft trocknen, nicht fixieren.
2. 5 Sekunden fluorochromieren in Mischung von: Wäßriger Lösung von Berberinsulfat 1 : 1000 98 ml. Verflüssigtes Phenol (Karbolsäure) 2 ml.
3. Waschen mit Wasser.
4. Trocknen zwischen Fließpapier.

Tabelle 2: Fluorochrome zur Unterscheidung verholzter und unverholzter Zellen.

Fluorochrom	Konzentration	Zeit	verholzt	unverholzt
Coriphosphin O	1 : 1000	1 min	grüngelb	orange
Euchrysin	1 : 1000	15 s	hellgrün	orangerot
Berberinsulfat	1 : 1000	30 s	grellgelb	—
Primulin O	1 : 500	1 min	gelb	hellgrün
Rhodamin 6 G	1 : 1000	1 min	orangegelb	schwach gelb
Akridinorange	1 : 1000	1 min	grün	—

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

Mikroskopie: UV-Anregung mit Filter UG 1 2 mm - BG 38 2 mm, Sperrfilter GG 475 2 mm.
Ergebnis: Trypanosomen und Plasmodien gelb.

Nachweis von Tuberkulose-Bakterien (nach Haitinger und Schwertner)

1. Material auf dem Objektträger ausstreichen und an der Luft trocknen.
2. Fixieren in der Flamme.
3. Fluorochromieren 30 Sekunden in wäßriger Lösung von Akridingelb 1 : 500.
4. Waschen in Wasser.
5. Differenzieren 15 Sekunden in Mischung: Alkohol (70 Vol" »ig) 97 ml. Konz. Salzsäure 3 ml.
6. Waschen in Wasser.
7. Trocknen an der Luft.

Mikroskopie: Blauviolettanregung mit Filter BG 12 4 mm, Sperrfilter OG 530 1 mm.
Ergebnis: *Mycobacterium tuberculosis* leuchtend gelb.
Von den fluoreszenzmikroskopischen Methoden zum schnellen Nachweis der Tuberkulose-Bakterien ist das Verfahren nach Hagemann mit Auramin, sowie das Verfahren nach Herrmann mit Auramin und Methylenblau von Bedeutung.
Die Reihe der fluoreszenzmikroskopischen Methoden ließe sich noch sehr weit fortsetzen. Mit den hier beschriebenen, leicht durchzuführenden Verfahren sollen jene Mikroskopiker zu eigenen Arbeiten angeregt werden, die bisher die Fluoreszenzmikroskopie wegen des erforderlichen apparativen Aufwandes wenig beachtet haben. Auch mit einfachen oder improvisierten Fluoreszenzmikroskopen lassen sich auf vielen Gebieten gute Resultate erzielen.
Bedeutung hat die Fluoreszenzmikroskopie auch bei der Krebsdiagnose erlangt. Nach der von Bertalanffy beschriebenen Fluorochromierung mit Akridinorange haben Zellen mit hohem RNS-Gehalt, zum Beispiel proliferierende Krebszellen, ein intensiv orange bis feurig rot fluoreszierendes Zytoplasma. Zellen mit mäßigem RNS-Gehalt, zum Beispiel Basalzellen und Leberzellen, fluoreszieren nur rötlich oder rötlich braun. Zellen mit niedrigem RNS-Gehalt, zum Beispiel Niere, endokrine Organe oder Speicheldrüsen, zeigen braune Fluoreszenz. Die Zellkerne leuchten grün bis gelblich. *Trichomonas vaginalis* sind bräunlich rot, *Candida-(Monilia-)*Sporen rot.
Die Antigen-Antikörper-Methode nach Coons dient zum Nachweis spezifischer Antigene in der Immunhistologie und Mikrobiologie, insbesondere Bakteriologie, Virologie, Mykologie und Protozoologie. Dabei spielt die Fluoreszenzmikroskopie (Phasenkontrast-Fluoreszenz) eine bedeutende Rolle. Die speziellen Methoden der Fluoreszenzmikroskopie werden in den nachfolgend aufgeführten Arbeiten ausführlich beschrieben.

Literaturhinweise:

1. *Danckwortt:* Lumineszenzanalyse in filtriertem ultravioletten Licht. Leipzig 1949.
2. *Hagenmann, P.:* Virus-Fluoreszenzmikroskopie. Münch. med. Wschr. 84, 761—765 (1937).
3. *Haitinger, M.:* Fluoreszenzmikroskopie, ihre Anwendung in der Histologie und Chemie. Leipzig 1938.
4. Leitz-Druckschrift über Fluoreszenzmikroskopie im Auflicht.
5. Reichert-Werke: Fluoreszenzmikroskopie mit Fluorochromen. 1951.
6. Reichert-Druckschrift: Über die große Fluoreszenzeinrichtung Lux UV.
7. *Strugger, S.:* Fluoreszenzmikroskopie und Mikrobiologie. Hannover 1949.
8. Zeiss-Druckschriften 537 und 549 (Lumineszenzmikroskop).

Der erste Teil „Grundlagen" erschien in Mikrokosmos 65, 382—286, H. 12, 1976.

Verfasser: Gerhard Göke, Bahnhofstr. 27, 5300 Hagen.

Dauerpräparate von mit Jodjodkali gefärbter Stärke in pflanzlichen Geweben

Am besten läßt sich Stärke in pflanzlichen Geweben immer noch mit einer wäßrigen Lösung von Jod in Jodkali (= Lugolsche Lösung) darstellen. Leider sind so gefärbte Präparate nicht haltbar, da die Färbung nach einigen Tagen oder, bei Aufbewahrung in einer feuchten Kammer, nach einigen Wochen ausbleicht. Das im folgenden geschilderte Verfahren begegnet diesem Umstand durch Zusatz von Jodjodkali zum Einschlußmittel. Totalpräparate, Schnitte, Quetschpräparate oder eine Aufschwemmung von Stärkekörnern werden mit einer im Verhältnis 1 : 5 verdünnten Stammlösung ungefähr 10 Minuten gefärbt. Herstellung der Stammlösung: 2 g Kaliumjodid werden in 100 ml dest. Wasser gelöst, dann 1 g Jodkristalle zugefügt und bis zu deren Lösung geschüttelt. Zur Untersuchung feinerer Details im Aufbau der Stärkekörner bei starken Vergrößerungen kann die Stammlösung auf 1 : 50 bis 1 : 1000 verdünnt werden. Fixiertes Material färbt sich am besten, jedoch kann auch frisches Material verwendet werden, da das Jod auch als Fixiermittel dient. Als Einschlußmittel, in das die Objekte aus der Färbelösung direkt übertragen werden, dient eine 80%ige wäßrige „Karo Red Label corn syrup"-Lösung (ein Produkt der Fa. Corn Products Refining Co., bestehend aus Dextrose, Dextrin und Maltose), der ein kleiner Phenolkristall gegen Schimmelbildung und auf je 5 ml 1 Tropfen Jodjodkali-Stammlösung zugesetzt werden. Nach dem Eindecken mit einem Deckglas wird überschüssiges Einschlußmittel mit Filterpapier abgesaugt; die Präparate werden zum Trocknen wie üblich horizontal gelagert und können nach einigen Wochen mit Nagellack umrandet werden. Solcherart hergestellte und lichtdicht aufbewahrte Präparate haben schon über sieben Jahre ihre Färbung bewahrt.
Hinchman, R. R.: A permanent iodine stain-mountant combination for starch in plant tissues. Stain Techn. 48, 344—346 (1973).

Alexander Pareto

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

Unser Umschlagbild

Dieter Krauter

Drüse in der Haut einer Unke

In der Haut aller Amphibien liegen zahlreiche alveoläre Drüsen. Besonders bei der Unke findet sich in der Unterhaut (Cutis) Drüsenkörper neben Drüsenkörper. Die Drüsen sind einfach (nicht verzweigt), mehr oder minder kugelig und münden mit engen Ausführgängen an der Oberfläche der Epidermis.

Generell lassen sich bei Amphibien Körnerdrüsen mit groben Sekretgranula und (kleinere) Schleimdrüsen mit schaumig-wabigem Cytoplasma unterscheiden, wobei in Analogie zu den Speicheldrüsen der Säuger die Körnerdrüsen auch als „seröse", die Schleimdrüsen als „muköse" Drüsen bezeichnet werden.

Die Haut der Amphibien ist glitschig; sie muß stets feucht gehalten werden, da sie nicht nur ein wichtiges Atmungsorgan ist, sondern auch der Wasseraufnahme dient (Amphibien können nicht trinken!). Ein Austrocknen der oberflächlichen Hautschicht ist für die Tiere tödlich. So wird man in der ständigen Anfeuchtung der Epidermis eine wesentliche Aufgabe der Hautdrüsen, vor allem der Schleimdrüsen, zu sehen haben.

Andererseits ist der Hautschleim fast aller Amphibien mehr oder minder giftig, bei manchen Arten sogar hochgiftig. Das Gift wird in bestimmten Körnerdrüsen („Eiweißdrüsen") produziert; die hinter den Augen liegenden wulstförmigen Giftdrüsen der Kröten und Salamander („Parotis"-drüsen) sind riesige Pakete solcher Körnerdrüsen.

Bei der Unke lassen sich morphologisch, färberisch und histochemisch mindestens 4 Drüsentypen unterscheiden:

1. Körnerdrüsen mit zarten Granula, die sich mit Orange G und Eosin anfärben (unser Umschlagbild). Die Körner sind PAS-negativ und lassen sich mit Astrablau nicht anfärben.
2. Körnerdrüsen mit sehr groben Granula, die sich mit Anilinblau anfärben und schwach PAS-positiv sind.
3. Schleimdrüsen, deren Sekret sich mit der PAS-Reaktion stark rot, mit Astrablau FM intensiv blau anfärbt.
4. „Gemischte" Drüsen mit hohen, pyramidenförmigen Zellen. Im Cytoplasma dieser Zellen finden sich zarte, acidophile Sekretgranula. Etwa ein Drittel der Zellen ist

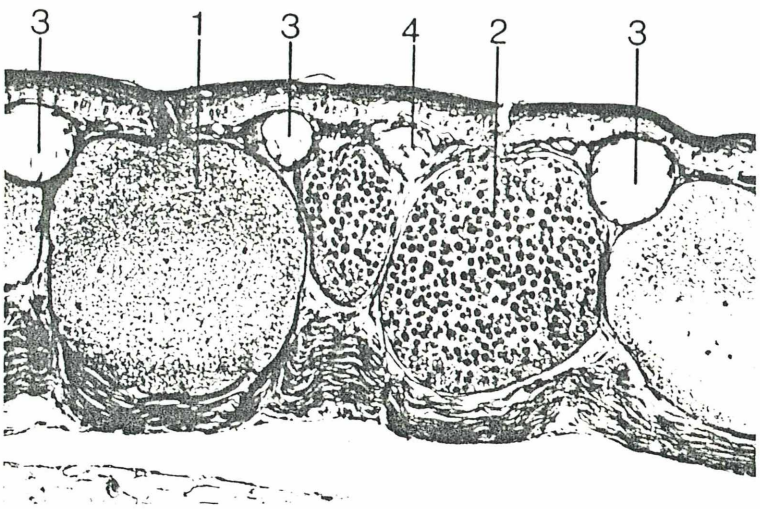


Bild: Schnitt durch die Haut einer Gelbbauchunke mit Drüsen. *1* Körnerdrüse mit zarten, mit Orange G färbbaren Granula; *2* Körnerdrüse mit groben, mit Anilinblau färbbaren Granula; *3* Schleimdrüse; *4* „Gemischte" Drüse. Vergr. 110 : 1.

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

PAS-positiv. Zwischen diesen Drüsen und den Schleimdrüsen scheint es Übergänge zu geben.
Bei den Schleimdrüsen und den „gemischten" Drüsen ist der zellige Bau klar erkennbar; die Sekretgranula liegen im Cytoplasma, die Kerne basal in jeder Zelle. Dagegen sind bei den Körnerdrüsen die Zellen durch die Sekretmassen an die Wand des Drüsenkörpers gedrängt. Meist kann man nur noch ihre Zellkerne erkennen, die zuweilen schwer von den Kernen der umhüllenden Bindegewebs- und Muskelhäutchen zu unterscheiden sind.
Die Epidermis, die auf unserem Bild vom Ausführgang der Drüse durchbohrt wird, ist relativ dünn. Sie besteht aus einem mehrschichtigen Plattenepithel, dessen äußerste Schichten verhornt sind. Die mittleren Zellen der Epidermis lassen Haftplatten (Desmosomen) erkennen, die als Interzellularbrücken erscheinen („Stachelzellen"). Die oberste Hornschicht (auf unserem Bild braun) wird in gewissen Abständen abgestreift. Kann man ein solches Kröten-, Frosch- oder Unkenhemd beschaffen (meist fressen es die Tiere gleich nach der Häutung auf), so kann man im Aufsichtspräparat sehr schön die Mündungen der zahlreichen Drüsenausführgänge erkennen.
Zur Färbung: Die Azan-novum-Färbung nach Geidies ist eine Modifikation der Heidenhainschen Azanfärbung, bei der das Azocarmin G durch Kernechtrot-Aluminiumsulfat ersetzt wird. (Geidies, Mikrokosmos **43**, 239, 1954.)
Die PAS-Reaktion (Perjodsäure-Schiff) dient dem Nachweis von Kohlenhydraten, im vorliegenden Fall von Mucopolysacchariden.
Die Färbung mit Astrablau FM (0,5" » in 2" » Weinsäure) stellt saure Mucopolysaccharide intensiv blau dar.
Die Gesamtvergrößerung des Umschlagbildes liegt hart an der Grenze der förderlichen Vergrößerung. Dies ist unerwünscht, war aber durch das vorgegebene Format technisch nicht zu umgehen.

Kleine Mitteilungen

Neue Methode zur Darstellung argyrophiler endokriner Zellen des Magen-Darm-Trakts
Das Vorkommen endokriner, d. h. innersekretorischer Zellen, die im Gegensatz zu exokrinen Zellen ihr Sekret nicht in einen Außenraum abgeben, sondern die produzierten Hormone in die Blutbahn sezernieren, ist beim Verdauungstrakt seit mehr als 100 Jahren bekannt. Nach ihrem färberischen Verhalten wurden diese endokrinen Zellen auch als enterochromaffine oder argentaffine Zellen bezeichnet, da sie Einschlüsse von unregelmäßiger Gestalt enthalten, die in der Lage sind, Silbersalze zu metallischem Silber zu reduzieren. Später wurden weitere endokrine Zellen in der Schleimhaut des Magen-Darm-Trakts entdeckt, mit kugeligen, acidophilen Einschlüssen oder Grana. Da diese Einschlüsse Silbersalze erst in Anwesenheit eines Reduktionsmittels wie z. B. Hydrochinon zu metallischem Silber zu reduzieren vermögen, wurden die neu gefundenen Zellen als argyrophil bezeichnet. Unter den zuletzt genannten Bedingungen reagieren auch die argentaffinen Zellen argyrophil, obwohl die Bezeichnung „argyrophil" normalerweise nur auf die später entdeckten endokrinen Zellen beschränkt ist. Zur Darstellung argyrophiler Zellen gibt es verschiedene Silbermethoden mit einfacher oder doppelter Imprägnierung, wobei die doppelte Imprägnierung den Zweck hat, den Kontrast zwischen den reagierenden Zellen und dem Hintergrund zu steigern. Das hier geschilderte Verfahren mit doppelter Imprägnation und mit Reduktion mit Hilfe von Bodians Entwickler hat den Vorteil, relativ wenig Zeit zu beanspruchen, gleichzeitig können Gruppen von Objektträgern behandelt werden, die verwendeten Lösungen lassen sich schnell und leicht herstellen. Niederschläge auf den Schnitten treten kaum auf. Daher ist diese Methode auch für Kurse zur Einführung in histologische Präparationstechniken und für gewöhnliches Untersuchungsmaterial geeignet. Fixiert wird das Gewebe (untersucht wurde menschliches Autopsie- und Biopsiematerial). Blöckchen vom Magen, Dünndarm, Colon, Rectum und Bauchspeicheldrüse, in 10"»igem, nicht gepuffertem Formol oder noch besser in Bouinscher Lösung. Nach Einbettung in Paraffin in der üblichen Weise werden 10 µm dicke Schnitte hergestellt; nach Aufkleben, Trocknen, Entparaffinieren werden sie über die absteigende Alkoholreihe in H_2O dest. gestellt. Zur ersten Imprägnation werden die Objektträger mit den Schnitten für 2 Stunden in einem 60 °C warmen Thermostaten in eine frisch vor dem Gebrauch zubereitete 0,5"»ige, wäßrige Silbernitratlösung gestellt, oder bei Zimmertemperatur über Nacht in der Silberlösung stehen gelassen. Anschließend wird einige Sekunden in H_2O dest. gespült. Entwickelt bzw. reduziert wird in Bodians Entwickler (bestehend aus: Natriumsulfit [Na_2SO_3] wasserfrei, 5 g; Hydrochinon, 1 g; H_2O dest., 100 ml), der zuvor auf 60 °C erwärmt wurde, 5 Minuten lang (Auch der Entwickler muß jeweils frisch herge-

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

stellt werden!). Abspülen in fließendem Leitungswasser, 3 Minuten lang, und anschließend in H_2O dest. Erneutes Imprägnieren in der 0,5%igen Silbernitratlösung bei 60 C, 10 Minuten lang, dann in H_2O dest. spülen. Wieder bei 60 C 5 Minuten in Bodians Entwickler reduzieren und mit Leitungswasser 3 Minuten und mit H_2O dest. spülen. Gegenfärben mit einer 0,1%igen wäßrigen Kernechtrotlösung (bestehend aus: Kernechtrot, 0,1 g; Aluminiumsulfat [$Al_2(SO_4)_3$], 5 g; H_2O dest., 100 ml), 3 Minuten lang, zur Darstellung der Zellkerne. In Leitungswasser spülen, über die aufsteigende Alkoholreihe entwässern, in Xylol aufhellen und mit einem der üblichen Kunstharze einschließen. Ergebnis: Die argyrophilen Zellen der Schleimhaut des Verdauungstrakts, die A- und D-Zellen des Inselorgans der Bauchspeicheldrüse und andere verstreute, endokrine Zellen heben sich als schwarze Strukturen deutlich von einem rot gefärbten Hintergrund ab. In den endokrinen Zellen der Magenschleimhaut sind bei starker Vergrößerung deutlich in den Cytoplasmaausläufern die schwarzen, körnigen Einschlüsse zu sehen. Bei bestimmten pathologischen Fällen, z. B. chronischer Gastritis mit intestinaler Metaplasie, ist die Vermehrung und Ausbreitung dieser Zellen klar sichtbar. Manchmal werden auch Nervenzellen und Nervenfasern des myenterischen Plexus mit imprägniert.

Fernandez-Pascual, J. S.: A new method for easy demonstration of argyrophil cells. Stain Technol. 51, 231—235 (1976). Alexander Pareto

Bekanntmachungen

Mikroskopierkurs Inzigkofen 1977

Zum siebten Mal findet im Volkshochschulheim Inzigkofen ein Mikroskopierkurs der KOSMOS-Gesellschaft der Naturfreunde statt. Eine Woche lang haben die Teilnehmer Gelegenheit, zu mikroskopieren, neue Techniken kennenzulernen und — nicht zuletzt — Gespräche mit anderen Mikroskopikern zu führen.

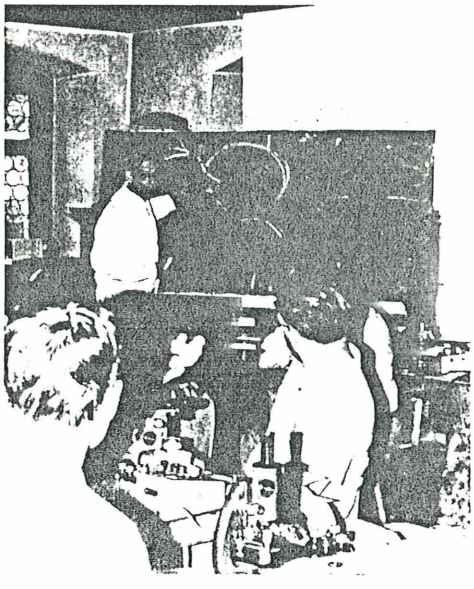
Ziel des Kurses ist es, den Mikroskopiker mit seinem Gerät vertraut zu machen und ihn in wichtige Präparationsmethoden einzuführen. Für 1977 ist folgendes Programm in Vorbereitung:

Handhabung des Mikroskops. Einfache Objekte aus Tier- und Pflanzenreich. — Botanische Mikrotechnik: Schneiden, Mazerieren, Aufhellen, Replikaverfahren, Färben loser und aufgeklebter Schnitte. Grundbegriffe der Pflanzenhistologie. — Fang und Untersuchung von Plankton. Messen mit dem Mikroskop. — Anatomie eines Wirbeltieres. Zupf- und Quetschpräparate. Polyglykol- und Paraffintechnik, Schneiden mit dem Mikrotom. Färbung von Schnitten durch tierische Gewebe. — Mikroskopisches Zeichnen, Mikrofotografie. — Zellteilung. Untersuchung von Chromosomen an Schnitt- und Quetschpräparaten. Reifeteilungen bei Pflanze und Tier. — Untersuchung von Bakterien und Pilzen.

Die Zahl der Teilnehmer an diesem Kurs ist auf 40 begrenzt, rechtzeitige Anmeldung ist daher zu empfehlen. Die Teilnehmer sollten — wenn möglich — ihr eigenes Mikroskop mitbringen (z. B. Kursstativ mit Kondensor und Leuchte, 10- und 50faches Objektiv, 5faches Okular). Die Kosten für Kurs, Unterbringung und Verpflegung betragen für Kosmos-Mitglieder und Bezieher des Mikroskosmos DM 195,—, für Nichtmitglieder DM 215,—.

Der Mikroskopierkurs beginnt am 25. 7. 1977 und endet am 30. 7. 1977.

Anmeldungen oder Anfragen an
Kosmos-Verlag, z. Hd. Frau Jörke-List, 7000 Stuttgart 1, Postfach 640.



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

E 20877 E

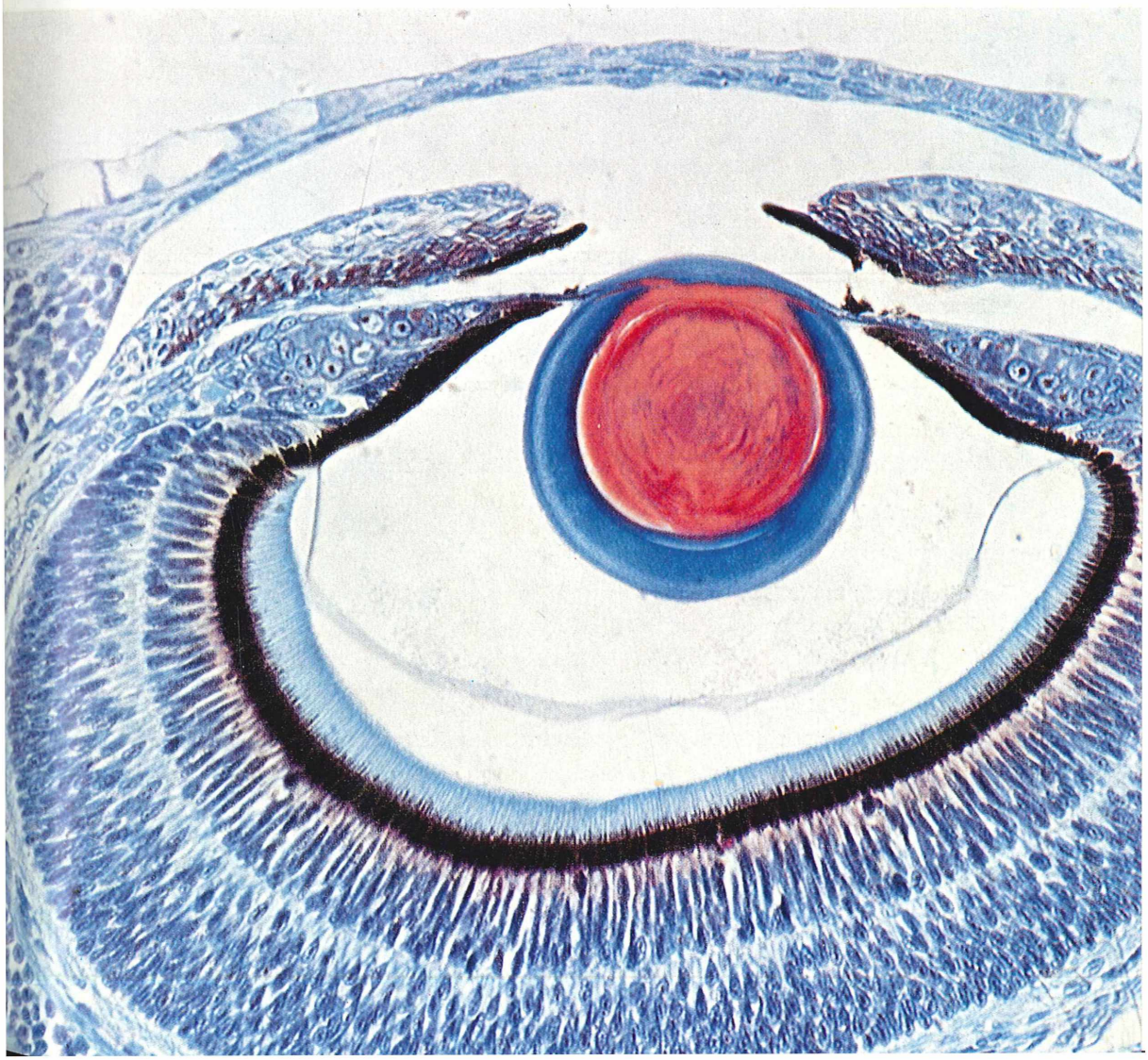
MIKROKOSMOS

66. Jahrgang · Heft 2/Februar 1977

Eine Zeitschrift aus dem Kosmos-Verlag

ISSN 0026-3680 66. 1977, Nr. 2, S. 33–64

Auge eines Tintenfisches



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

Mineralien Magazin
eine neue Zeitschrift aus dem Kosmos-Verlag
Bitte fordern Sie ein kostenloses Probeheft an!
Kosmos-Verlag · Postfach 640 · 7000 Stuttgart 1

MIKROSKOPE
Unsere neuen, nach modernsten Gesichtspunkten konstruierten Instrumente bieten hochste optische und mechanische Prazision. Mon- u binokulare Modelle mit unubertroffener Bildscharfe und Auflosung (Wetzlarer Optik) sowie samtliches Zubehör. Fordern Sie noch heute unseren **neuen MIKRO-KATALOG 6** an.
G. K. E. SCHRÖDER Optische Instrumente
2 Hamburg 36 Dammtorstr. 22 Ruf: 34 48 41



MIKROKOSMOS

Zeitschrift für angewandte
Mikroskopie, Mikrobiologie, Mikrochemie und mikroskopische Technik

Organ der Deutschen Mikrobiologischen Gesellschaft Stuttgart, der Mikrobiologischen Vereinigung Hamburg, der Mikrobiologischen Arbeitsgemeinschaft Mannheim, der Mikrobiologischen Vereinigung München, der Mikrographischen Gesellschaft Wien, der Mikroskopischen Gesellschaft Zürich.

Inhalt

Lom, Dr. J.: Amyloodinium — ein Außenparasit an Aquarienfischen 33

Koste, W.: Das Rädertier-Porträt. Ptygura pedunculata, ein Rädertier mit kristallklarem Gehäuse 37

Adlmannseder, A.: Der Schweinebandwurm (Taenia solium) — ein Schmarotzer mit vollendetem Haftapparat 41

Weinert, Dr. H.: Die Entwicklung der Schließzellen des Porrees (Allium porrum). Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen 43

Biologie in der Schule

Collegium Ambrosianum, Kurs II: Algen im Schülerpraktikum 54

Winke fürs Labor

Smolle, J.: Histologisches Färben im Flüssigkeitsfilm 58

Zur Einführung in die Mikroskopie

Koehler, H.: Gregarinen als Beispiel für Entoparasiten 60

Kleine Mitteilungen 61

Unser Umschlagbild

Streble, Dr. H.: Auge eines jungen Gepfriemten Zwergkalmars (Alloteuthis subulata) 63

Bücherschau 64

Umschlagbild: Auge eines jungen Gepfriemten Zwergkalmars *(Alloteuthis subulata).* Vergrößerung 340:1. Aufnahme Johannes Lieder.

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

Jiří Lom

Amyloodinium — ein Außenparasit an Aquarienfischen

Eine sehr unangenehme Erkrankung verschiedener Fische in See- und Süßwasseraquarien ist die Amyloodiniose. Sie wird durch parasitische Flagellaten der Gattung *Amyloodinium* (Ordnung Dinoflagellida) hervorgerufen. Diese Parasiten reihte man früher in die Gattung *Oodinium* ein, und dementsprechend wird die Erkrankung in der aquaristischen Literatur unter der Bezeichnung Oodiniose angeführt. Es ist eine ziemlich verbreitete Krankheit, über die wir noch recht wenig wissen. In jüngerer Zeit wurden neue Erkenntnisse über die Beziehungen der Amyloodinien zu ihrem Wirt festgestellt.

Symptome

Die schwer infizierten Fische sind meist unruhig. Bei den Fischen in Seeaquarien, wo die Flagellaten meistens nur die Kiemen befallen, kann man Erstickungserscheinungen beobachten. Bei Fischen in Süßwasseraquarien wird auch die Körperoberfläche angefallen, die dann einen leichten Belag zeigt, der zart, gelblich, samtartig aussieht (im Englischen „velvet disease" — Samtkrankheit). Dieser Belag wird von unzählbaren unbeweglichen vegetativen Stadien der Amyloodinien gebildet, die an der Körperoberfläche des Fisches festgeheftet sind, oft so dicht nebeneinander, daß sie beinahe eine zusammenhängende Schicht bilden (Bild 1). Man kann die Parasiten erst im Mikroskop mit Sicherheit erkennen (Bild 2). Die Zelle ist mit Vorrats-Stärkekörperchen ausgefüllt und ist durch ein besonderes Pigment (nicht Chlorophyll!) gelblich gefärbt; daher sieht auch der Belag der Körperoberfläche des Fisches gelblich aus. Amyloodiniose ist ausschließlich eine Erkrankung der in Aquarien gezüchteten Fische, aus dem Freiland ist sie unbekann. Die Infektion kommt selten vor, wenn das Wasser kälter ist als 18° C. Man nimmt daher an, daß die Parasiten in die Aquarien besonders mit frisch importierten Fischen aus tropischen oder subtropischen Gebieten eingeschleppt werden. Ein wirkliches Problem stellt die Erkrankung besonders in Seeaquarien dar.

Lebenszyklus des Parasiten

Die am besten bekannte Art aus Seeaquarien ist *Amyloodinium ocellatum*. An Fischen in Süßwasseraquarien parasitieren die Arten *A. pillularis* (aus europäischen Aquarien beschrieben) und *A. limneticum* (in USA beschrieben). Sie sind jedoch nicht ganz deutlich unterschieden worden und es ist nicht ausgeschlossen, daß es sich

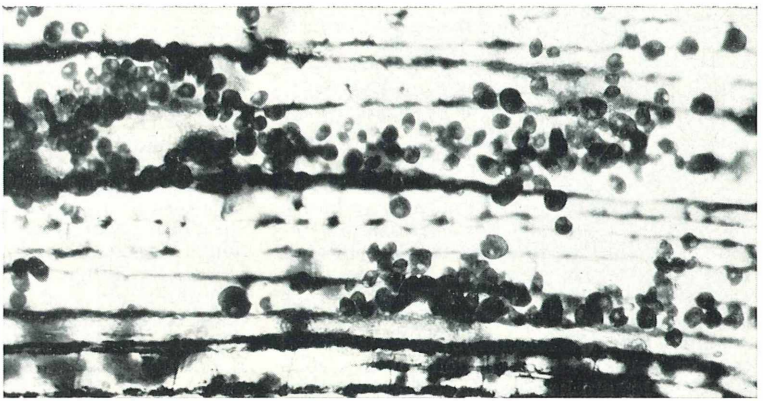


Bild 1: Starker Befall der Flosse eines Fisches mit *Amyloodinium pillularis*. Etwa 65:1.

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

nur um eine Art handelt. Früher wurden die Parasiten irrtümlich in die Gattung *Oodinium* eingereiht. Diese umfaßt aber ziemlich unterschiedliche Parasiten wirbelloser Meerestiere. Die Dinoflagellaten aus Süßwasserfischen stehen der Gattung *Amyloodinium* viel näher, in die sie jetzt auch aufgenommen sind.

Die vegetativen Stadien an Fischen sind gewöhnlich birnförmig (Bild 2); mit ihrem schmaleren Körperende sind sie in die Körperoberfläche (Haut oder Kiemen) des Wirtsfisches fest eingebohrt. Vom engeren Zellende geht ein kompliziertes System von

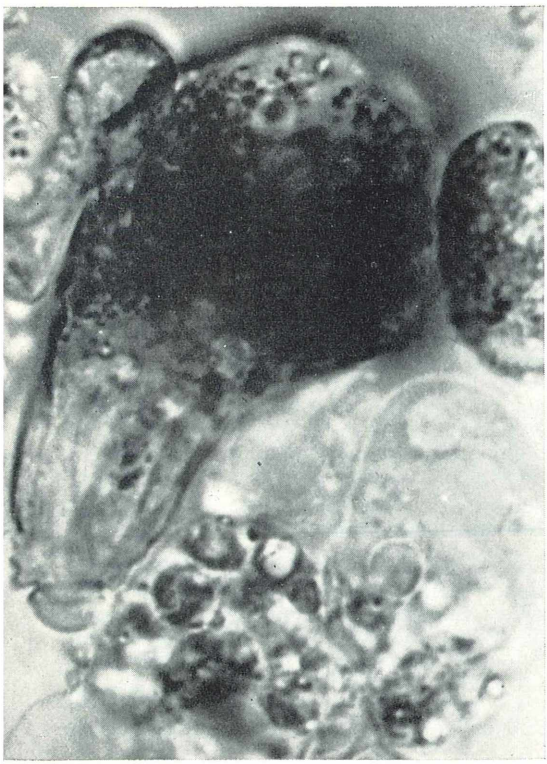


Bild 2: Ein festgeheftetes, birnförmiges *Amyloodinium*. Von der Haftscheibe gehen Anheftungsrhizoide aus. 900 : 1.

zytoplasmatischen Fortsätzen aus (sog. Rhizoiden), die mit zarten Fibrillen verstärkt sind. Die Rhizoiden dringen in die Zellen der Körperoberfläche des Wirtes ein und verankern so den Parasiten. Es handelt sich um ein Wachstumsstadium (Trophont), das sich von Teilchen der Wirtszellen ernährt; beim Mikroskopieren ermöglicht eine hellere Stelle zu vermuten, wo sich der Kern befindet. Nach etwa 7 Tagen — dies ist besonders von der Temperatur abhängig — endet die Wachstumsperiode, während der der Parasit zu der bedeutenden Größe von 100—150 µm heranwächst. Er sieht jetzt wie ein Kügelchen aus und löst sich vom Wirte los, indem er die Rhizoide schnell einzieht und sich zum Boden des Behälters niedersinken läßt. Dort teilt er sich in zwei Tochterindividuen, ohne sich mit Zystenhüllen umzuschließen, wie es z. B. bei *Ichthyophthirius* (fischparasitäres Wimpertier) der Fall ist (Bild 3). Nach einer Serie von Teilungen, die ungefähr 5 Tage dauert, entstehen aus einem Trophonten 200 oder mehr bewegliche Stadien (Bild 4), die deutlich erkennen lassen, daß *Amyloodinium*, das in der parasitischen Phase bis zur Unkenntlichkeit verändert ist, eigentlich ein Flagellat der Ordnung Dinoflagellida ist. Die Schwärmerstadien (Dinosporen) sind ihren freilebenden Verwandten aus der Gattung *Gymnoodinium* sehr ähnlich. Sie haben ovale Gestalt, bewegen sich mit Hilfe von zwei Geißeln, von denen eine den Körper in der Querfurche umfaßt und die zweite — Schleppgeißel — rückwärts in der Längsfurche verläuft. Das Assimilationspigment — Chlorophyll — enthalten sie jedoch auch nicht. Sie können im Wasser bis zu drei Tagen frei schwimmen, nehmen jedoch keine Nahrung auf; während dieser Zeit müssen sie einen neuen Wirt finden, wenn sie nicht eingehen sollen. Sobald das invasive Stadium einen neuen Wirtsfisch findet, verändert es sich in die parasitische Phase. Zuerst hängt es sich mit der Schleppgeißel an, danach stülpt es aus der unteren Furche die Haftscheibe (Bild 5) mit Rhizoiden, mit denen es sich in den Zellen verankert. Danach verkümmert die Querfurche und der Körper wird birnenförmig. Hierdurch wird die Umwandlung zum vegetativen Stadium vollendet und der ganze Zyklus wiederholt sich aufs neue.

Zysten, in denen der Parasit ungünstige Bedingungen überleben könnte, sind nicht bekannt; zur Erhaltung der Art müssen die Flagellaten immer neue Wirte finden und von einem Fisch zum anderen wandern.

Schädigung des Wirtes

Amyloodinien sind ausschließlich Ektoparasiten. Unter die Körperoberfläche des Wirtes dringen sie nur mit ihren Rhizoiden. Sie sind völlig darauf angewiesen, die Nahrung von dem Wirtsfisch zu beziehen. Wie unsere elektronenoptischen Beobachtungen gezeigt haben, geschieht dies nicht durch Resorption mit Hilfe von Rhizoiden, die nur zur Verankerung des Parasiten in der Fischhaut dienen. Die Rhizoiden beschädigen jedoch die Zellen, in die sie eindringen, deformieren sie und reißen Teilchen davon ab, die erst dann mittels einer besonderen Spalte auf der Basis des festgehefteten Endes des Trophonts (welche mit dem Zellmund, dem Zytostom, verglichen werden

Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

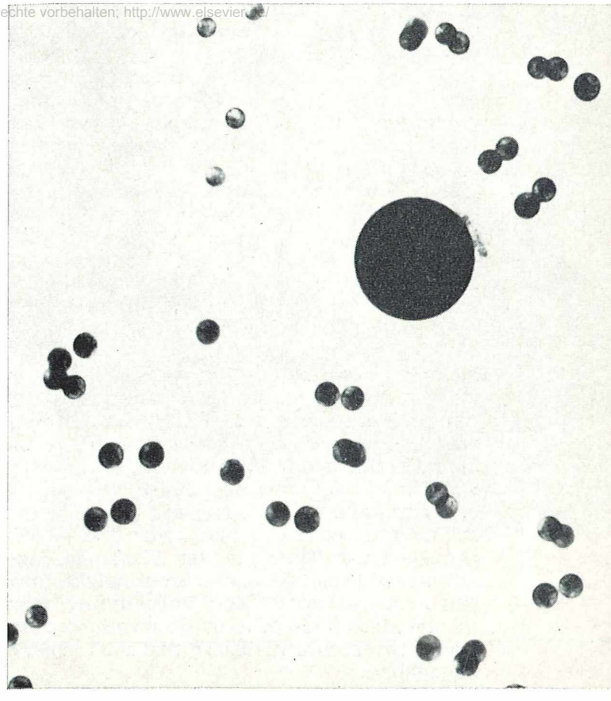
Bild 3: Durch Teilung in zwei Individuen entstehen aus dem Trophont die Tomiten, die sich dann in begeißelte Dinosporen umwandeln. Das große Individuum hat sich soeben vom Wirt losgelöst. Nach Abrundung bereitet es sich zur Teilung vor. 160 : 1.

kann) verschluckt werden. An der Haftstelle befällt und vernichtet der Trophont eine große Menge von Epithelzellen. Die Kompaktheit des Epithels wird hierdurch stark gestört; eine intensive Invasion hat daher schwere Beschädigungen der Körperoberfläche des Fisches zur Folge. Bei Invasionen in Kiemen entstehen Blutungen und Entzündungen, die zum Untergang der Kiemenblättchen führen. Bei Hautinfektionen entstehen typische lokale Nekrosen, Wucherung von Epithelzellen um die von den Flagellaten befallenen Stellen herum, und pathologische Veränderungen, die sekundäre Infektionen mit Pilzen und Bakterien ermöglichen und häufig auch das Eingehen der Fische zur Folge haben.

Therapie

Amyloodiniose entsteht besonders dort, wo die Fische geschwächt sind, was bei der Zucht in Aquarien oft der Fall ist. Wenn aber die befallenen Fische in optimale Lebensbedingungen überführt werden, verschwinden die Parasiten gänzlich oder ihre Anzahl wird auf eine unbedeutende, vollkommen harmlose Menge reduziert. Dies ist jedoch in Aquarien — besonders in Seeaquarien — schwer möglich, und es ist daher nötig, zu therapeutischen Bädern zu greifen. Es wurde eine ganze Reihe von diesen Bädern erprobt; wir werden hier einige davon empfehlen, die sich gut bewährt haben.

Sehr einfach und dabei verläßlich sind Bäder von Kupferverbindungen, besonders $CuSO_4$, Kupfersulfat. Am besten bewährten sich langdauernde Bäder. Die an der Körperoberfläche festgehefteten Stadien, die Trophonten, oder große Stadien, die zum Boden des Behälters abgesunken sind und sich erst zu teilen beginnen, sind nämlich gegen die benützten Konzentrationen der Chemikalien ziemlich unempfindlich. Deshalb muß man abwarten, bis sich alle Parasitenformen in die viel empfindlicheren invasiven Stadien umwandeln. Dies geschieht in Süßwasseraquarien bei Zimmertemperatur binnen 7 bis 8 Tagen. Um sicherzugehen, wird die Einwirkungszeit auf 10 Tage verlängert. In höheren Konzentrationen hat das Kupfer einen stark toxischen Effekt auf den Fischbesatz; man muß daher zu Anfang mit Vorsicht vorgehen. Konzentrationen zwischen 0,01—0,05 g Kupfersulfat pro 100 l



werden jedoch von den Fischen meist gut vertragen (man gibt 10 bis 50 ml einer 0,1%igen Lösung auf 100 l Aquarienwasser). In unseren Experimenten tötete die

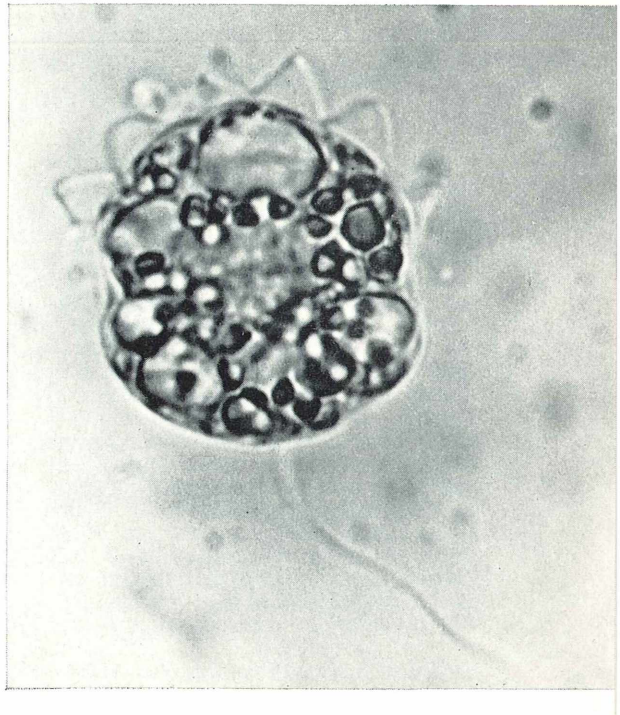


Bild 4: Invasives begeißeltes Stadium, die Dinospore, mit Schlepp- und Quergeißel. 1600 : 1.

erwähnte Konzentration von $CuSO_4$ die invasiven Stadien von *A. pillularis* während 30—45 Minuten.

Weil in einem normal besetzten Aquarium das Kupfer leicht an verschiedene Stoffe gebunden wird oder mit den anwesenden Karbonaten das unlösbare Kupferkarbonat bildet, ist es besser, die Fische für die Dauer der Therapie in einen leeren Ganzglasbehälter, womöglich mit weichem Wasser, zu übertragen; in hartem Wasser präzipitiert das Kupfer schnell. Wenn wir den Fischbesatz behandeln wollen, ohne die Fische in einen anderen Behälter zu setzen, muß man jeden Tag eine gewisse Menge $CuSO_4$-Lösung zugießen.

Derselbe Vorgang wird auch beim therapeutischen Bad in einem Seeaquarium eingehalten. Der Ausfällung des Kupfers im Seewasser kann durch Zugabe von Zitronensäure in die Kupfersulfatlösung vorgebeugt werden (1 Teil Zitronensäure auf je 100 Gewichtsteile $CuSO_4$). Nigrelli benützte mit Erfolg Kupferazetat, und zwar 0,04—0,05 g pro 100 l zur Therapie der Fische in Seeaquarien. Diese Konzentration wirkt auch gegen *A. pillularis*. Zur Vorbeugung wird in zirkulierendes Wasser dauernd Kupferazetat im Verhältnis 0,02 g pro 100 l Wasser zugegeben.

Zu einem anderen Bad für Süßwasser- sowie Seefische benützt man Methylenblau im Verhältnis 0,0025 g pro 100 l Wasser (1%ige Lösung in einer Menge von 2,5 g pro 10 l Wasser). In unseren Experimenten hat diese Konzentration alle Schwärmerstadien binnen 40 Minuten verläßlich vernichtet; man muß jedoch die Umwandlung sämtlicher Trophonten in Dinosporen abwarten — nur deshalb läßt man die Fische auch in diesem Bad 10 Tage lang (bei Zimmertemperatur). Kleine Erhöhungen der Temperatur allein haben keinen Einfluß auf *Amyloodinium* — der Parasit stammt aus Gebieten mit wärmeren Gewässern —, sie fördern jedoch die Heilwirkung der Chemikalien. Die Temperaturerhöhung wird bei der dritten Badtechnik in Süßwasseraquarien ausgenützt. Sie besteht darin, daß man einen vollen Kaffeelöffel Kochsalz mit 0,75 g Akriflavin pro 20 l Wasser im Aquarium benützt. Trypaflavin, oft gegen andere Ektoparasiten angewandt, ist gegen Amyloodinien nicht sehr wirksam und muß in verhältnismäßig hohen Dosen angewendet werden; eine Konzentration von 1 : 100 000 überlebten die Dinosporen länger als 4 Stunden.

Erklärung der Abkürzungen in Bild 5 und 6: *N* Kern, *FV* Nahrungsvakuole, *F* Geißel, *PC* Exkretionskanälchen, *PH* Pharyngealgebiet, *ST* Stomopod, ein Organell zur Nahrungsaufnahme, *R* Rhizoid, *H* Wirtszelle, *AP* Adhäsionsplättchen, aus dem die Rhizoide hervorgehen. Die Pfeile in Bild 6 zeigen die äußere Membran des Rhizoids, ziehharmonikaartig in das Cytoplasma der Wirtszelle eingebuchtet. *FB* fibrilläre Bündel des Rhizoids.

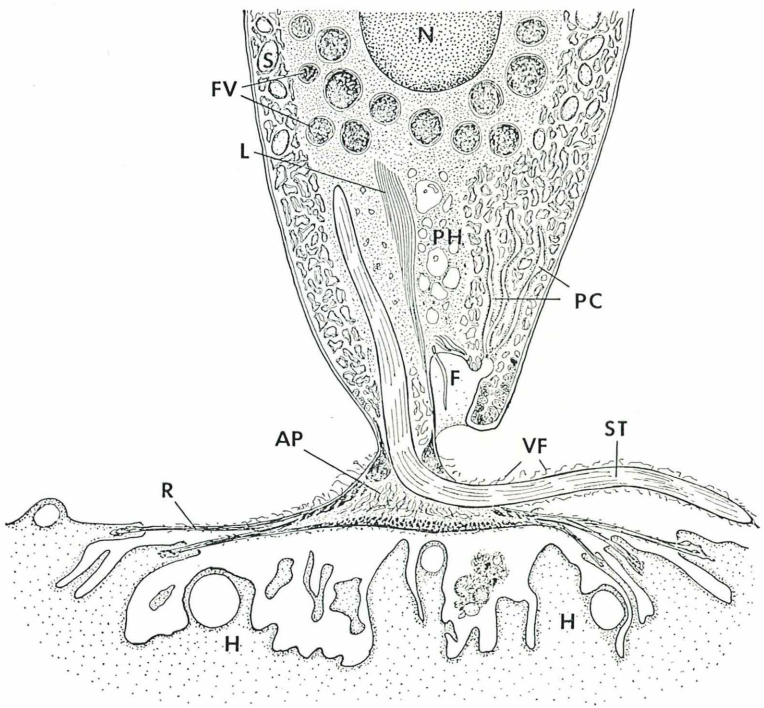


Bild 5: Schematische Abbildung, dargestellt nach einer Serie elektronenmikroskopischer Aufnahmen des festgehefteten Körperteiles von *Amyloodinium ocellatum* mit Rhizoiden, die in die Epithelzellen der Kiemen eingebohrt sind. Die Zellen sind durch Wirkung des Parasiten schwer geschädigt.

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

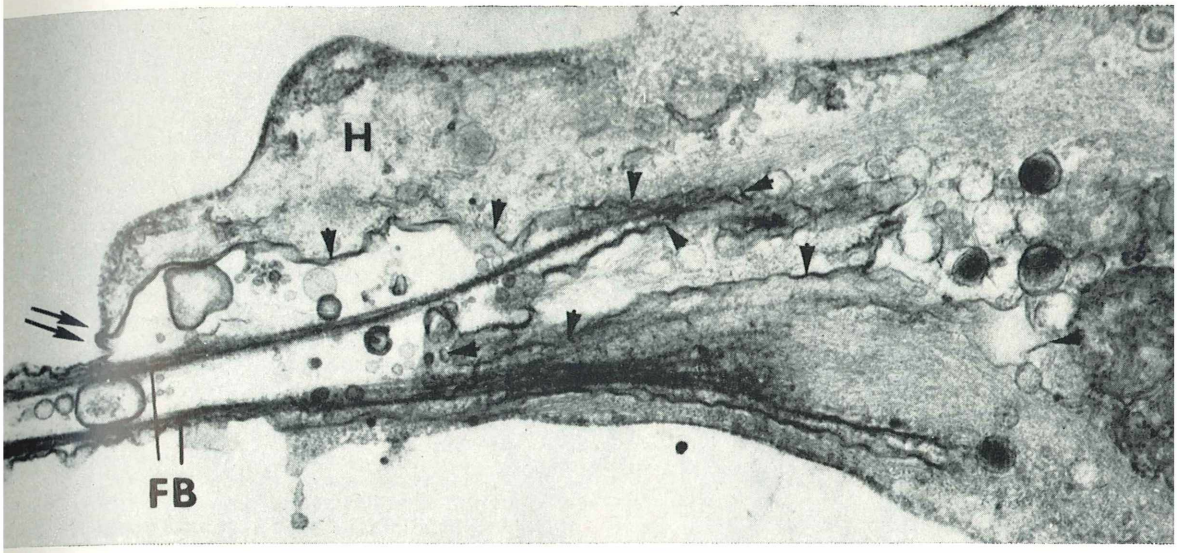


Bild 6: Aufnahme eines Rhizoids, das in das Innere der beschädigten Zellen eingedrungen ist. Etwa 40 000 : 1.

Verfasser: Dr. J. Lom, Institut für Parasitologie der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, 12843 Prag 28, Viničňa 7.

Walter Koste

Das Rädertier-Porträt

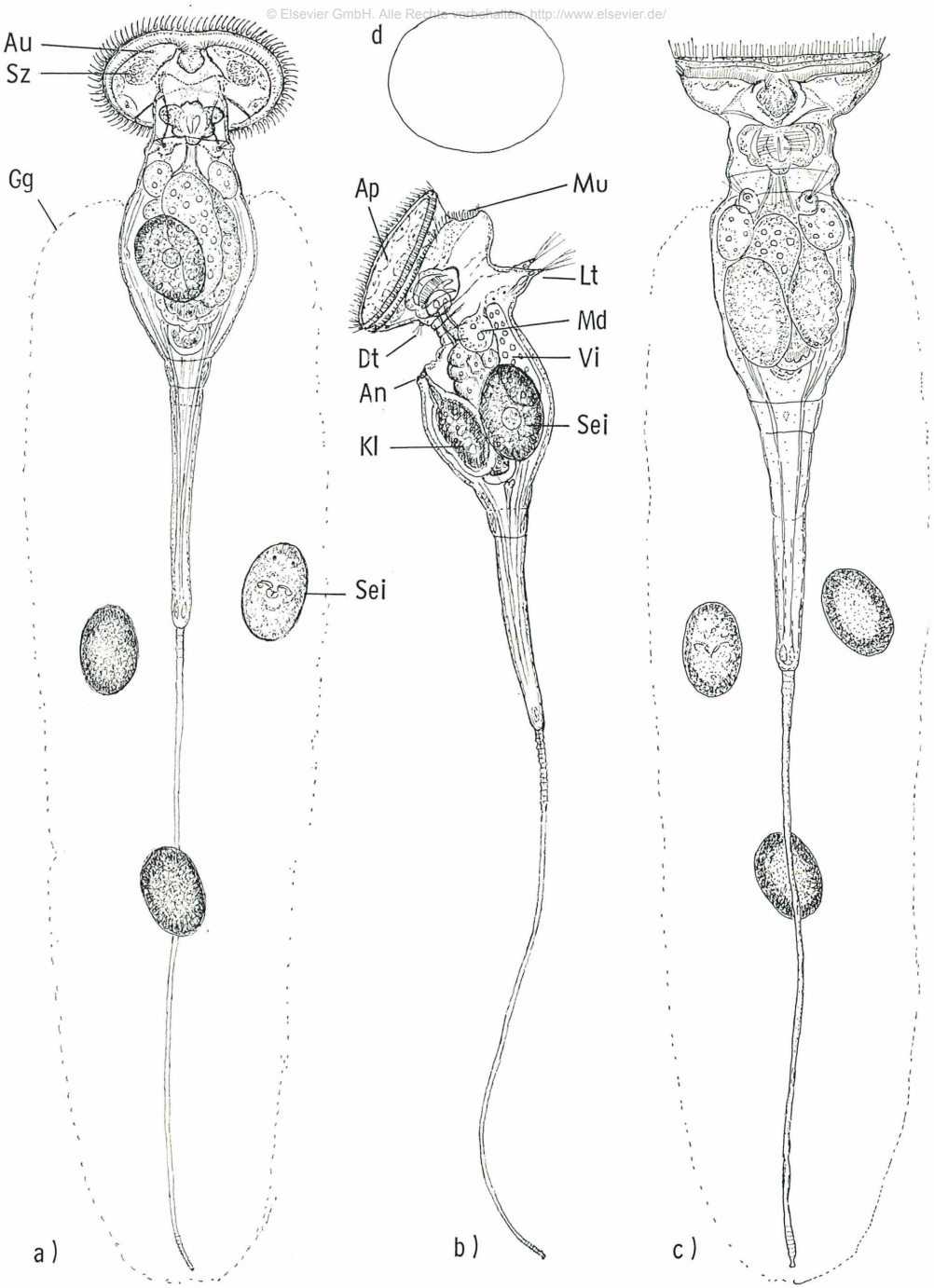
Ptygura pedunculata, ein Rädertier mit kristallklarem Gehäuse

Dieses grazile, sessile Rädertier, das in Nordamerika entdeckt wurde, konnte wohl nur deshalb in anderen Kontinenten noch nicht oder nur sehr selten beobachtet werden, weil es den Beobachter durch seine Gestalt und sein Verhalten täuscht. Sein Habitus gleicht nämlich eher einem einzellebenden festsitzenden Wimpertier, einem „Glockentierchen", als einem anderen Vertreter seiner Gattung. Die blitzartig schnellen Kontraktionen des Kopf- und Fußteils, die durch die geringste Erschütterung des Mikroskops oder durch zufällige Kontakte mit beweglichen Organismen ausgelöst werden, unterstützen die „Mimese" (Bild 1). In der Erstbeschreibung der Art durch Edmondson (1939) wurde die große Sensibilität neben den anderen Charakteristika als wichtiges Merkmal aufgeführt („the most timid species of sessile rotifers the author has ever seen").

Es nimmt daher nicht wunder, daß die Anfertigung einer objektgetreuen bildlichen Darstellung einer rädernden Ptygura pedunculata (Tafel, a—c) ein äußerst schwieriges Unterfangen ist, stehen doch dem Zeichner zur Gestalterfassung und zu Messungen mit dem Okularmikrometer nur sehr wenige, unberechenbare, kostbare Augenblicke zur Verfügung, in denen das Tier die glasschalenartige, mit einer doppelten Zilienreihe umrandete Korona (Bilder 2 und 3) plötzlich entfaltet hat, um Detritus, Bakterien und Nannoplankton (Bild 2, *Mg*) in die Mundöffnung (*Mu*) einzustrudeln. Mit einigem Geschick kann aber nach eintretendem Sauerstoffmangel das Rotator mit Hilfe des Deckgläschens eingeklemmt werden, doch verursacht die Quetschung, wie das Bild 2 zeigt, entstellende Lageverschiebungen und Deformationen sowohl der inneren Organe als auch der äußeren Gestalt.

Die bisher bekannten, dürftigen Angaben

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



Tafel: **a** *Ptygura pedunculata* rädernd in durchsichtigem Gallertgehäuse (*Gg*), ventral gesehen, (*Sz* Subzerebraldrüse, *Au* Lichtsinnesorgan; **b** lateral gesehen (*An* Anus, *Ap* Apikalfeld, *Dt* Dorsaltaster, *Kl* Kloake, *Lt* Lateraltaster, *Md* Magendrüsen, *Mu* Mund, *Sei* Subitanei, *Vi* Dotterstock; **c** Ventralansicht eines anderen Individuums mit dorsal angehobener Korona; **d** Umriß des Räderorgans (Korona).

Die Untersuchungen des Verfassers wurden durch Sachbeihilfen der Deutschen Forschungsgemeinschaft ermöglicht.

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

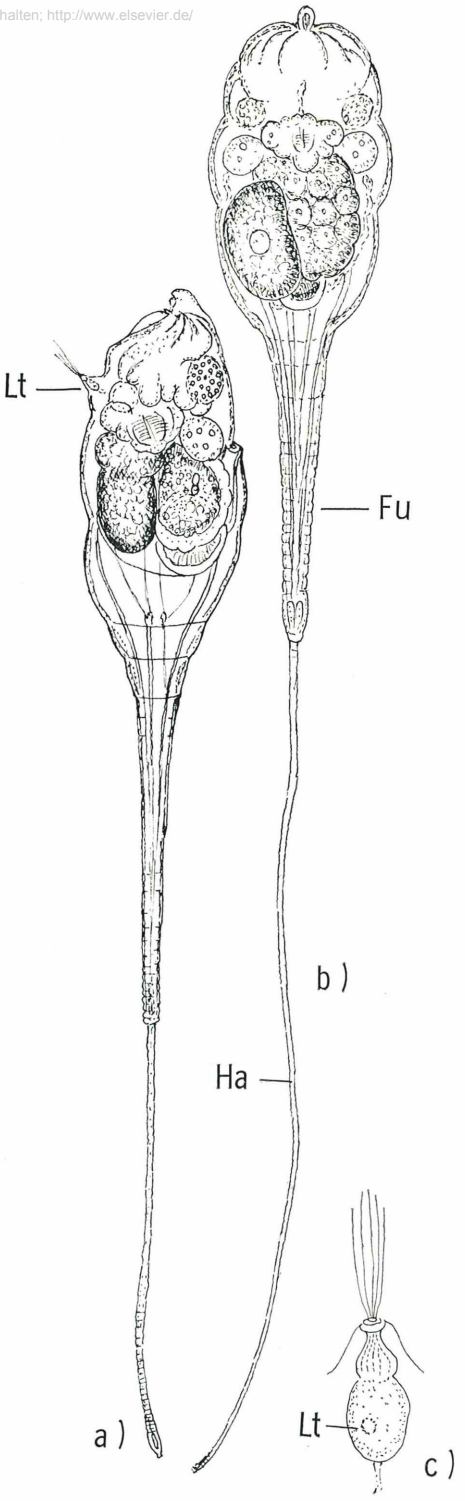


Bild 1: **a** *Ptygura pedunculata* mit kontrahiertem Kopfteil und Haftstiel von der Seite her gesehen, **b** anderes Exemplar, ventral; Fuß *(Fu)* und Haftstiel *(Ha)* nicht kontrahiert, **c** Lateraltaster *(Lt)* vergrößert. Vergl. Tafel, b!

zur Ökologie, Morphologie und Anatomie dieser Art können nach Beobachtungen und Untersuchungen mehrerer Populationen in Kleingewässern eines nordwestdeutschen Hochmoores ergänzt werden:

Ptygura pedunculata lebt in lockeren Scheinkolonien, die sich aus bis zu neun Individuen verschiedener Altersstufen zusammensetzen, an untergetaucht lebenden Wasserpflanzen. An ungestörten, gestreckten Exemplaren wurden Gesamtlängen von 650—1650 µm gemessen.

Diese Art gehört demnach neben *Ptygura pilula* und *P. longipes* zu den größten Vertretern ihrer Gattung.

Der 230—850 µm lange Haftstiel (Bild 1, *Ha*) trägt einen ungewöhnlich durchsichtigen Fuß und einen spindelförmigen Körper, dessen Transparenz durch die schwach gelblich bis hellbräunlich getönten inneren Organe kaum beeinträchtigt wird. Das fast unsichtbare, kristallklare Gallertgehäuse (Tafel, *a, c, Gg*), dessen Existenz im Durchlichtmikroskop nur durch die darin liegenden Subitaneier (Tafel, *Sei*) verraten wird, erreicht eine Breite bis zu 400 µm.

Das Räderorgan, die Korona (Tafel, *d*) hat einen etwas gestauchten kreisförmigen Umriß, der über der Mundöffnung leicht eingedellt ist (Maße 99—180/92—150 µm). Es wird gewöhnlich beim Fressen (Tafel, *b*) stark nach hinten geneigt, gelegentlich aber auch waagerecht (Tafel, *c*) gestellt. Im Apikalfeld (*Ap*) liegt in einem Hypodermiszellenkranz ein mit glänzenden Körnchen gefülltes Drüsenpaar (Bild 2, *Sz*). Allem Anschein nach sind es Subzerebraldrüsen, deren Funktion unbekannt ist.

Die mit längeren Zilien und Tastborsten umstellte Mundöffnung zeigt in der Seitenansicht eine balkonartig vorgewölbte, große Unterlippe (Tafel, *b, Mu*).

Der Mastax (*Mx*) trägt ein enganliegendes Speicheldrüsenpaar. Er befindet sich dicht unter der Korona. Darunter ist im kurzen Halsteil die Speiseröhre (Oesophagus) zu erkennen, ein breiter dünnwandiger Schlauch, der Kaumagen und Magen (Bild 2, *Mg*) verbindet. Neben seiner Einmündung in den Magenteil sitzt beiderseits je eine große, rundliche, ungefähr zitronenförmige Verdauungsdrüse (Bild 2, *Md*). Der gesamte Verdauungstrakt ist u-förmig angelegt, so daß die Kloake (*Kl*) und der After (*An*) in Richtung des oberen Gehäuserandes verlagert sind. Bei der Entleerung der Fäzes wird das Tier dadurch in die Lage versetzt, den After weit über die Gallertgehäusemündung vorzustülpen, so daß der Kot durch den vom Räderapparat erzeugten

Rechte vorbehalten: http://www.elsevier.de/

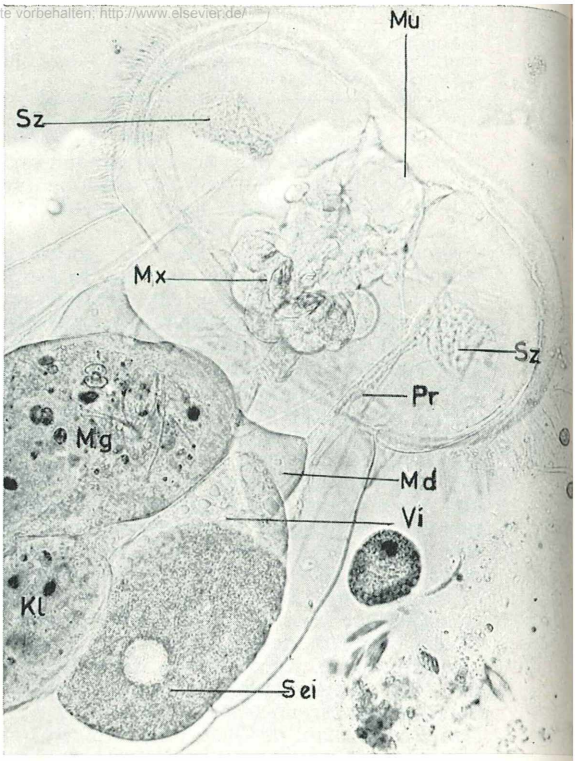
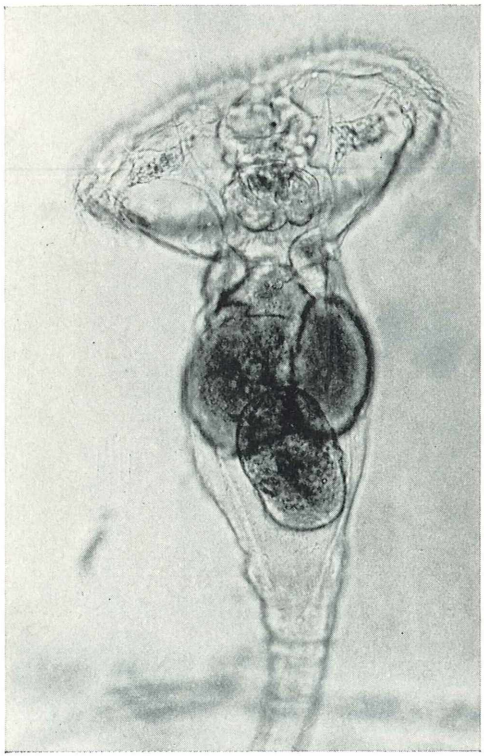


Bild 2: *Ptygura pedunculata*, Innenorganisation des Kopfes und des oberen Rumpfes (*Kl* Kloake, *Md* Magendrüsen, *Mg* Magen, *Mu* Mund, *Mx* Mastax = Kaumagen, *Pr* Protonephridialorgan, *Sei* Subitanei, *Sz* Subzerebraldrüsen, *Vi* Vitellarium (Syncytium mit Zellkernen). Vergleiche mit Tafel, b!

Wasserwirbel weit weggeschleudert wird. Nicht ein Partikel der Verdauungsreste bleibt an der gläsernen Wohnröhre haften.

Ein anderes Verhalten zeigen in dieser Hinsicht alle anderen *Ptygura*-Arten und verschiedene festsitzende Rädertiere anderer Gattungen, die sämtlichen oder einen Teil ihres Kots als Baumaterial für ihre meist röhrenförmigen Gehäuse verwenden (Mikrokosmos, 1969: 1—6). Der Dotterstock, das Vitellarium (Tafel, *b*, *Vi* und Bild 2, *Vi*), ist wie bei allen Rotatorien ein meist 8-kerniges syncytiales Organ, das aber hier 18 Nuclei enthält. Schlauchartige feine Kanäle der Protonephridien (Bild 2, *Pr*) beginnen bereits in der Korona an den Subzerebraldrüsen (*Sz*). Sie münden in die Kloake (*Kl*).

Ein sehr winziger Dorsaltaster (Tafel, *b*, *Dt*) ist nur in der Seitenansicht dicht unter dem rückwärts gestellten Räderorgan zu erkennen. Die Ventraltaster stehen auf ungewöhnlich hohen, zitzenförmigen Papillen (Tafel, *b*, *Lt*); ihre Sinneshaarbüschel sind verhältnismäßig lang. Letztere stecken in einer flaschenförmigen Zelle (Bilder 1 *a* und *c*, *Lt*), die durch einen feinen Nervenstrang mit dem Gehirn direkt verbunden ist.



Zum Schluß eine kurze Zusammenstellung der nun bekannten Angaben zur Ökologie und Verbreitung der Art:

Bisher nur in lenitischen Gewässern angetroffen. Substrate: Zersetzte Sphagnen, *Utricularia*, *Myriophyllum*, *Potamogeton*, *Anacharis*, *Spirogyra*. Wassertemperatur ab 19° C; pH 5,0—9,2. Geographische Verbreitung: Nearktis (Nordamerika, „coast to coast, fairly common"); Paläarktis (Nordwestdeutschland, Moorweiher, Moorblänke, Torfstich; vom Juli bis September 1969 bis 1974); wahrscheinlich weiter verbreitet.

Literaturhinweise:

Edmondson, W. T.: New species of Rotatoria, with notes on heterogonic growth. — Transact. of the Amer. Soc. LVIII, No. 4: 459—472, 1939.

Edmondson, W. T.: Ecological studies of sessile Rotatoria. — Ecol. Monogr. 14: 31—66, Yale University; 1944.

Koste, W.: Das sessile Rädertier *Ptygura velata*. — Mikrokosmos, 58: 1—6; 1969.

Koste, W.: Über die sessilen Rotatorien einer Moorblänke in Nordwestdeutschland. — Arch. Hydrobiol. 68 (1): 96—125; 1970.

Koste, W.: Die Rädertiere Mitteleuropas (3. Überordn. Monogononta). Begründet von *M. Voigt*, Text- u. Tafelbd. (231 Taf.); Stuttgart; 1977 (Im Druck).

Verfasser: Walter Koste, Universität Osnabrück, Fachber. 5, Biologie. D-4570 Quakenbrück, Ludwig-Brill-Str. 5.

Bild 3: *Ptygura pedunculata* mit entfalteter Korona beim Fressen.

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

Anton Adlmannseder

Der Schweinebandwurm (Taenia solium) – ein Schmarotzer mit vollendetem Haftapparat

In der Welt der Organismen gibt es nicht nur ein ständiges „Fressen und Gefressenwerden", sondern auch alle Grade von „Ausnützung" durch Schmarotzer oder Parasiten. Man unterscheidet Außen- und Innenparasiten. So saugen z. B. die Blutegel an der Oberfläche ihrer Wirtstiere und entnehmen ihnen Körpersäfte als Nahrung, während die Bandwürmer (Cestodes) im Innern ihrer Wirte leben. Schmarotzertum setzt Spezialisierung dafür voraus und diese ist bei Innenparasiten in höchstem Maße gegeben, besonders dann, wenn damit ein Wirtswechsel verbunden ist. Hauptwirt für den Schweinebandwurm ist der Mensch, seinen Namen hat er von seinem Zwischenwirt, dem Schwein.

Lebenszyklus und Anpassungsmerkmale dieses Schmarotzers sollen hier kurz aufgezeigt werden: Auf seinen bandförmigen Körper deutet sein wissenschaftlicher Gattungsname (Taenia, lat. = das Band) hin. Die Haut (Cuticula) des im Vorderteil des menschlichen Dünndarmes lebenden Parasiten ist pigmentlos und bleich, eine Folge der Lichtlosigkeit seines Lebensraumes. Die Länge des aus vielen Gliedstücken bestehenden Körpers kann bis zu 4 m betragen, und der Parasit kann ein Alter von 20 Jahren erreichen. An seinem dünnen Vorderende befindet sich eine kopfförmige Verdickung, der Scolex mit den Haftorganen (Bild 1 u. 2). Auf einem muskulösen Scheitelzapfen, dem Rostellum, sitzt ein doppelter Hakenkranz, der durch Muskelzug eingeschlagen werden kann, wodurch sich der Parasit in die Darmwand einhaken kann. Wie aus der Form der Haken zu ersehen ist, wirken diese wie einseitige Hebel. Die Muskel des Rostellums setzen an den zapfenartigen Verdickungen der Haken an. Das Rostellum erscheint in Bild 1 von oben gesehen als Kreis. An den Ecken des Kopfes liegen vier kräftige und schalenförmige Saugnäpfe (Acetabula) zum Festsaugen an der Darmwand. Die kräftige, radial ver-

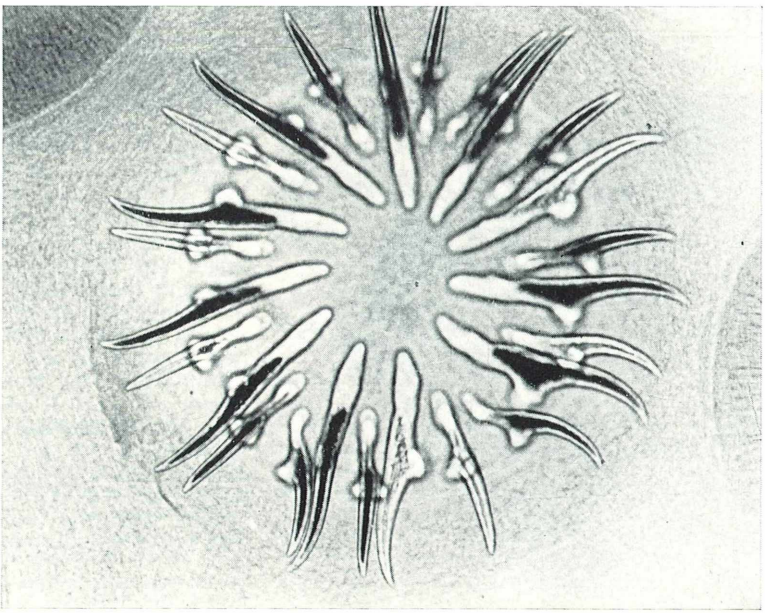


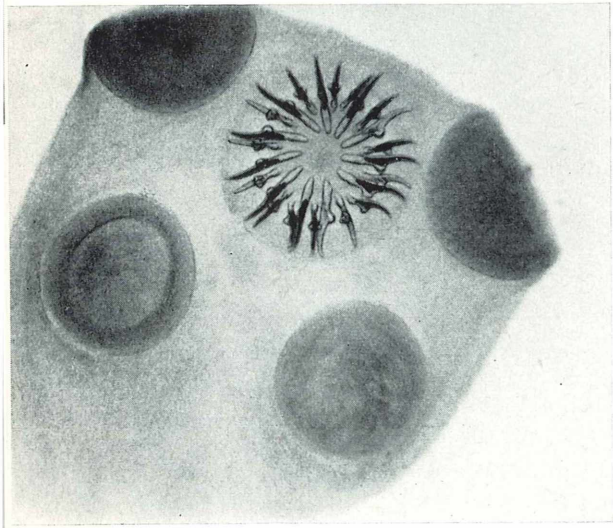
Bild 1: Der doppelte Hakenkranz des Schweinebandwurmes.

laufende Muskulatur dieser Saugnäpfe ist auf dem Bild teilweise zu erkennen. So ist der Bandwurm, eingehakt und festgesaugt, mit einem vollkommenen Haftapparat in seinem Hauptwirt sicher verankert und kann durch die Peristaltik (wellenförmige Muskelbewegung) des Darmes nicht abgetrieben werden. An den Kopfteil schließt sich ein dünner, undeutlich segmentierter Halsteil an. Der nach rückwärts allmählich breiter werdende Körper zeigt eine zunehmend stärker hervortretende Segmentierung in eine große Zahl von Gliedern (Proglottiden). Die Verbindung zwischen den einzelnen Gliedern wird immer lockerer und die letzten geschlechtsreifen Glieder lösen sich ab und verlassen den Hauptwirt durch den After. Zugleich mit dem Abgang reifer Glieder werden in der Knospungszone des Halsabschnittes neue abgeschnürt. Der Schweinebandwurm liegt nicht in seiner ganzen Länge im Dünndarm, sondern bildet mehrere Schleifen, was besonders für seine Fortpflanzung von Bedeutung ist.

Zugleich mit der allmählichen äußeren Auflösung des „Gliederbandes" in selbständige Teile werden auch die inneren Organe reduziert. Die zu den niedrig organisierten Würmern zählenden Bandwürmer zeigen auch eine der äußeren Gliederung entsprechende innere Organisation: Ein einfaches Nervensystem mit zwei Gehirnganglien und Sinneszellen in der Haut sorgt für das Zusammenspiel der Organe. Da der Schweinebandwurm sozusagen in seiner eigenen, verflüssigten und vorverdauten Nahrung liegt, besitzt er selbst weder Mund noch Darm. Die Nahrung nimmt er durch die Haut auf, ein von der Epidermis ausgeschiedenes, derbes Häutchen, die Cuticula, schützt den Bandwurm gegen die Verdauungssäfte seines Wirtes. Das Exkretionssystem (Ausscheidungsorgan) ist gut entwickelt und weit verzweigt. Am kompliziertesten gebaut ist der zwitterige Geschlechtsapparat dieses Parasiten. Zwittertum ist auch eine Anpassung der Innenparasiten, denn wie sollten die Geschlechter zueinander finden. Jedes Glied des Bandwurmes enthält einen vollständigen Zwitterapparat. Zuerst reifen die Samenzellen, dann die Eizellen. Die jüngeren männlichen Glieder befruchten also die älteren weiblichen, dies ist durch die Schleifenbildung leicht möglich. Bei den reifen Gliedern mit befruchteten Eiern ist die Reduktion der nun überflüssig gewordenen Organe so weit vorgeschritten, daß das Innere eines solchen Gliedes nur mehr einen Teil des weiblichen Geschlechtsapparates, den Uterus, enthält. Dieser bildet im Endstadium mehrere seitliche Ausstülpungen und ist mit reifen Eiern voll gefüllt. Ein einziges Glied kann bis zu 100 000 Eier enthalten; das ergibt, wenn ein Bandwurm jährlich 1000 Glieder abschnürt, während seiner Lebenszeit eine ungeheure Zahl von mehreren hundert Millionen Eiern. Diese verschwenderisch anmutende Überproduktion ist ebenfalls eine Anpassung an den komplizierten Entwicklungsgang, an die geringe Wahrscheinlichkeit, daß die Eier sich bis zum geschlechtsreifen Tier entwickeln.

Die reifen Eier, die mit den Gliedern den Hauptwirt verlassen, enthalten bereits die jungen Larven des Bandwurmes. Gelangen sie in den Magen eines Schweines, so werden die Eihüllen aufgelöst und die mit drei Hakenpaaren ausgestatteten Larven werden frei. Sie bohren sich durch die Darmwand, werden vom Blutstrom erfaßt und gelangen so in die Muskulatur oder in andere innere Organe des Zwischenwirtes. Nach Verlust der embryonalen Häkchen, die nun ihre Aufgabe erfüllt haben, wachsen die Larven, von einer bindegewebigen Cyste umgeben, zu Bläschen (Finnen) heran. Von der Blasenwand bildet sich der Scolex mit seinen Haftorganen nach innen aus, ähnlich einem eingestülpten Handschuhfinger. Die Finnen gelangen durch den Genuß von rohem oder halbroh zubereitetem Schweinefleisch in den Magen des Hauptwirtes. Bei Aufnahme von mehreren Finnen entwickelt sich immer nur eine im Dünndarm des Menschen weiter. Dort stülpt sich der Kopf aus der Blase und setzt sich mit seinem Hakenkranz und den Saugnäpfen an der Darmwand fest, die Finnenblase wird aufgelöst. Der Scolex beginnt nun sogleich Glieder zu bilden und bereits nach drei Monaten können die ersten reifen Glieder abgehen.

Bild 2: Der Kopfabschnitt (Scolex) des Schweinebandwurmes mit Saugnäpfen und Hakenkranz.



Verfasser: Dr. Anton Adlmannseder, Schloßberg 8, A-4910 Ried i. I.

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

Heinz Weinert

Die Entwicklung der Schließzellen des Porrees (Allium porrum)

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen

Einleitung

Auf Grund ihrer besonderen Aufgaben im Rahmen des Gasaustausches und der Transpiration nehmen die Schließzellen innerhalb der Epidermis in morphologischer und physiologischer Hinsicht eine Sonderstellung ein. Abweichend von den sie umgebenden Epidermiszellen enthalten sie stets funktionsfähige Chloroplasten. Diese werden nicht in die Chromoplastengenese einbezogen und bleiben auch bei der herbstlichen Laubverfärbung länger funktionsfähig als die Chloroplasten aller übrigen Gewebe. Es ist daher nicht verwunderlich, daß sogar die Schließzellen vieler Blütenblätter sowie der gelben Blätter von Aurea-Formen (Michael 1953) grüne und meist stärkereiche Chloroplasten aufweisen.
Während die Epidermisplastiden in ihrer Entwicklung gehemmt sind (Weinert 1973), verläuft die Genese der Plastiden in den Schließzellen nach einem anderen Modus. Sie bilden funktionstüchtige Chloroplasten, die denen des Mesophylls von *Allium porrum* gleichen (Weinert und Masuch 1970). Da es sehr schwierig ist, eine gezielte Präparation der Stomata vorzunehmen, ist die Entwicklung der Schließzellenplastiden bisher erst lückenhaft elektronenmikroskopisch untersucht worden. Im Rahmen der vorliegenden Beobachtungen an *Allium porrum* war es jedoch möglich, durch Anfertigung einer großen Zahl von Ultradünnschnitten aus Blattarealen verschiedenen Alters, die Entwicklung der Stomata und ihrer Plastiden nahezu lückenlos zu erfassen.

Ergebnisse

1. Lichtmikroskopische Befunde

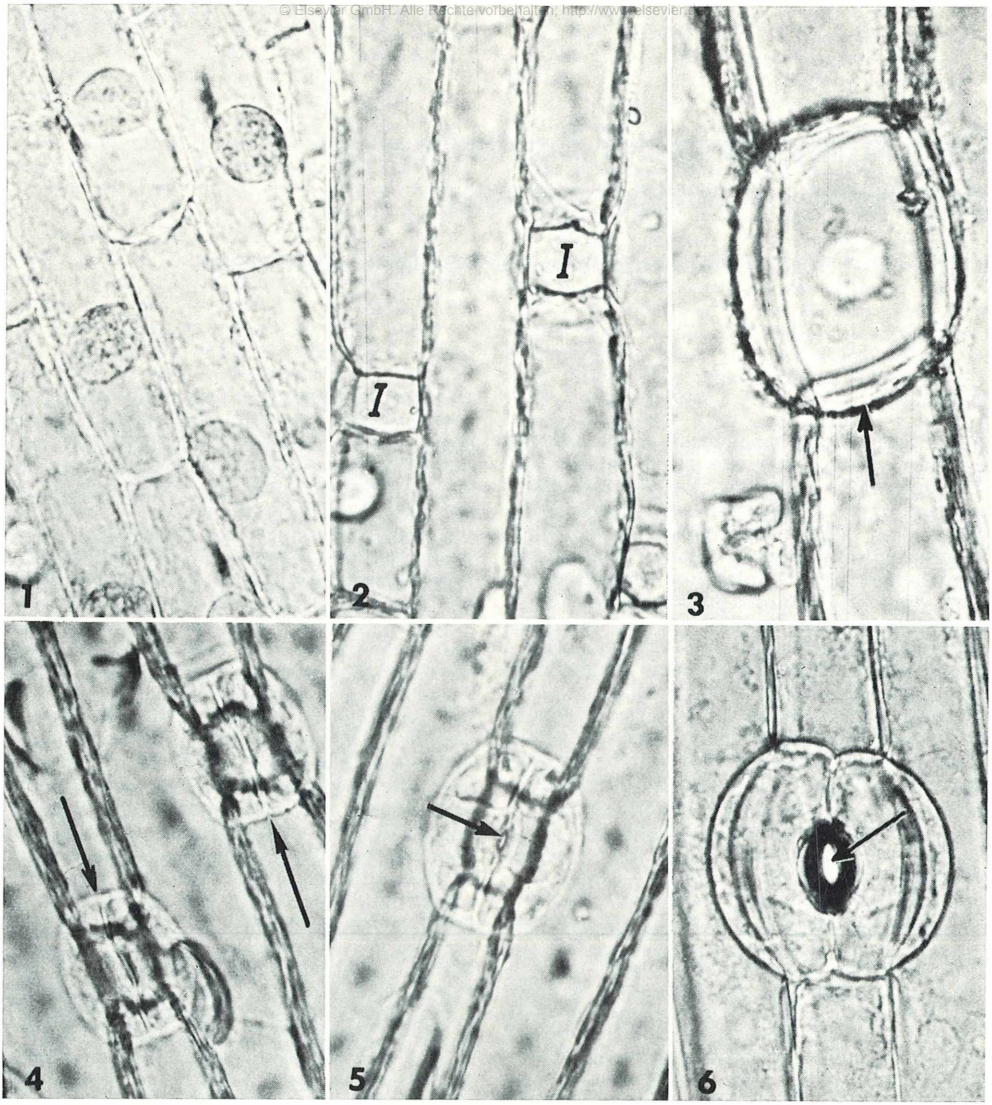
In einer seiner Arbeiten über die Entwicklungsgeschichte der Spaltöffnungen konnte Strasburger (1866) nachweisen, daß bei deren erster Anlage inäquale Zellteilungen beteiligt sind. Bei Monokotylen *(Iris)* beobachtete er, daß sich dabei zunächst eine Epidermiszelle in eine größere und eine kleinere Tochterzelle teilt, von denen die letztere stets am apikalwärts gerichteten Ende der Epidermiszelle abgegliedert wird und die Spaltöffnungsmutterzelle darstellt. Aus ihr gehen durch eine Längsteilung die beiden Schließzellen hervor.
Entsprechend läuft die Schließzellenentwicklung bei *Allium porrum* ab. An der Basis eines jungen noch entwicklungsfähigen Blattes besteht die Epidermis aus länglichen dünnwandigen Zellen (Bild 1). Apikalwärts finden wir neben den langgestreckten Epidermiszellen kleinere Zellen. Diese treten zunächst vereinzelt auf, häufen sich jedoch zur Spitze hin. Sie entstehen durch inäquale Teilung aus den größeren Epidermiszellen. Das führt zu einer kleineren Schließzelleninitiale (Bild 2) und einer größeren Epidermiszelle. Die Schließzellenmutterzelle ist ein Teilungsprodukt gewöhnlicher Epidermiszellen und wird im ersten Teilungsschritt angelegt. Kaum gebildet, wachsen die Schließzelleninitialen rasch heran, nehmen an Umfang zu und runden sich in charakteristischer Weise ab (Bild 3). Anschließend erfolgt die Längsteilung der Schließzellenmutterzelle (Bild 4). Haben die jungen Schließzellen eine bestimmte Entwicklung und Größe erreicht, setzt die Bildung der sich rasch vergrößernden Spalte ein (Bild 5), womit die Spaltöffnungsentwicklung abgeschlossen wäre (Bild 6).

2. Elektronenmikroskopische Untersuchungen

Die Schließzellenmutterzelle

Bild 7 zeigt einen Epidermisausschnitt aus der jungen meristematischen Zone der Blattbasis von *Allium porrum*. Die mittlere der drei angeschnittenen Epidermiszellen ist eine Schließzellenmutterzelle. Sie zeichnet sich durch geringere Größe, dichteres Plasma, einen relativ großen Zellkern und fehlende Vakuolisierung aus. Im Gegensatz zu den plasmaarmen Epidermis- und

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



Mesophyllzellen sind die Spaltöffnungsmutterzellen vor allem durch das häufige Vorkommen von Ribosomen, Dictyosomen, Mitochondrien und endoplasmatischem Retikulum (ER) ausgezeichnet. Die Zellkerne der Schließzelleninitialen, die einen oder mehrere Nucleolen enthalten können, erscheinen im Querschnittsbild meist rundlich bis länglich. Sie sind von einer doppelt konturierten Kernmembran umgeben, die nur selten mit dem eigentlichen Endomembransystem in direkter Verbindung steht. Der Golgi-Apparat ist in den Stomatamutterzellen durch zahlreiche Dictyosomen (Zisternenstapel) vertreten, die hier aus 4—8 Golgi-Zisternen bestehen, an deren Rändern es zu einer lebhaften Abschnü-

Bild 1: Epidermiszellen von Allium porrum vor dem Auftreten der Schließzellenmutterzellen. Vergr. 450×.

Bild 2: Junge Epidermiszellen mit Schließzellenmutterzellen *(I)*. Vergr. 450×.

Bild 3: Sich abrundende Schließzelleninitiale (Pfeil). Vergr. 547×.

Bild 4: Teilung der Schließzellenmutterzelle (Pfeil). Vergr. 450×.

Bild 5: Beginnende Bildung der Spalte (Pfeil). Vergr. 450×.

Bild 6: Fertige Spaltöffnung mit Spalt (Pfeil). Vergr. 450×.

▶

Bild 7: Epidermisausschnitt aus der meristematischen Blattzone mit einer Schließzelleninitiale *(I)* und den beiden Nebenzellen *(N)*. *K* Kern, *P* Plastid, *Pz* Parenchymzelle, *V* Vakuole, *Zw* Zellwand. Vergr. 7000 : 1, OsO_4-Fix.


K
V
N
K
ZW
PZ
I
P
K
N
7
2 µm



Bild 8: Ausschnitt aus einer Schließzellenmutterzelle mit Dictyosomen (G), von denen zahlreiche Golgi-Vesikel (GV) abgeschnürt werden. *K* Kern, *M* Mitochondrien. Vergr. 46 000 : 1, OsO_4-Fix.



Bild 9: Ausschnitt aus einer Schließzelleninitiale mit einem Proplastid (P). *ER* endoplasmatisches Reticulum, *GL* osmiophile Globuli, *M* Mitochondrium, *R* Ribosomen, *Th* Thylakoid. Vergr. 39 100 : 1, OsO_4-Fix.

rung kleiner Vesikel kommt (Bild 8). Diese starke Vesikelbildung deutet auf eine hohe stoffwechselphysiologische Tätigkeit der untersuchten Zellen hin. Die Golgi-Vesikel liegen meistens in unmittelbarer Nähe der Dictyosomen und sind durch ihren dunklen Kontrast leicht zu erkennen. Über die Beteiligung dieser Vesikel an der Bildung von Zellwandsubstanzen (vgl. Mollenhauer, Whaley und Leech, 1961; Drawert und Mix, 1962 b und Sievers, 1963) läßt sich nach den hier durchgeführten Untersuchungen keine Aussage machen. In neueren Arbeiten werden die Dictyosomen auch als Syntheseorte der Zellwandgrundsubstanz diskutiert. Nach Brown et al (1969) werden selbst die Zellulosekomponenten des Zellwandmaterials von den Dictyosomen produziert und von ihren Zisternen in den Raum zwischen Plasmalemma und Zellwand eingeschleust. Da es sich bei den hier untersuchten Schließzelleninitialen um nicht ausgewachsene Zellen handelt, könnte die starke Vesikelbildung mit einem noch stattfindenden Zellwandwachstum zusammenhängen. Nach Untersuchungen von Frey-Wyssling, Lopez-Saez und K. Mühlethaler (1964) verschmilzt die Membran der Vesikel nach Ausschleusung des Inhaltes mit dem Plasmalemma.

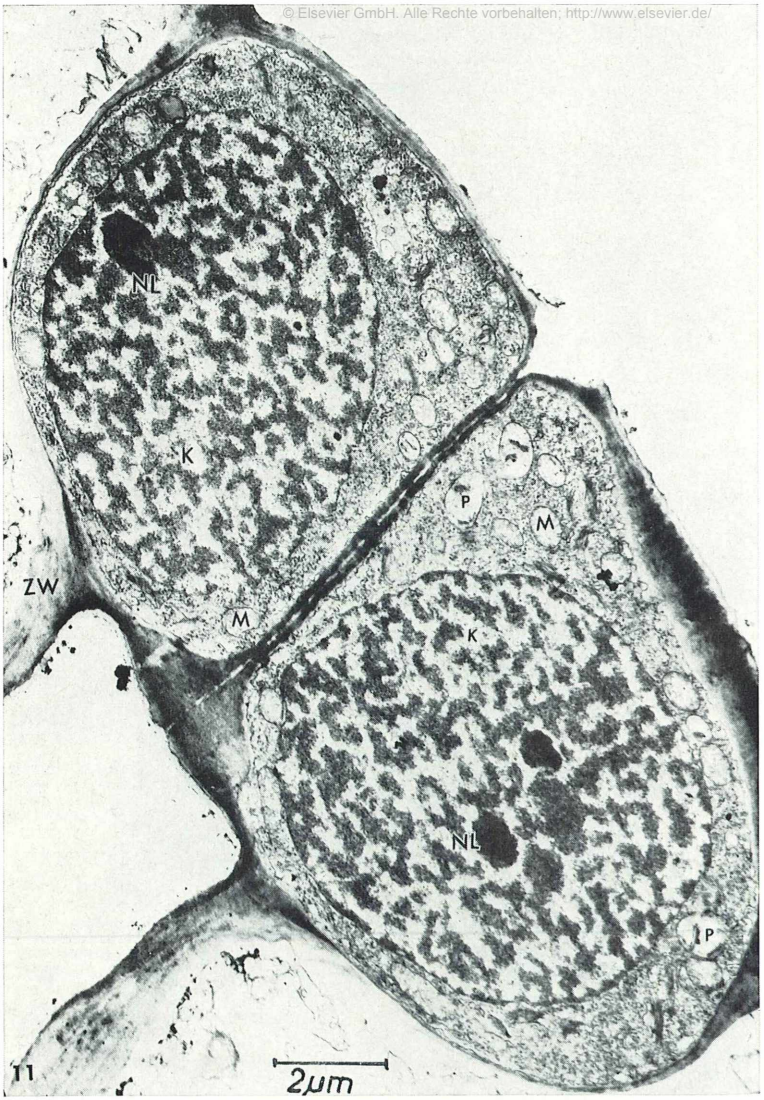
Die Mitochondrien in den Schließzellenmutterzellen, die hier häufig und regelmäßig beobachtet wurden, haben meist eine rundliche bis ovale Gestalt; seltener sind sie langgestreckt. Ihre Innenstrukturen entsprechen dem sacculären bis tubulären Typ (Bild 8). Das endoplasmatische Retikulum tritt vor allem in Form von Zisternen und größeren Bläschen in Erscheinung. Es ist in den Stomatamutterzellen gut ausgebildet und außen mit zahlreichen Ribosomen besetzt (Bild 9). Die Vesikel des ER lassen sich nicht immer deutlich von den Golgi-Vesikeln unterscheiden; jedoch sind die Golgi-Vesikel normalerweise nach OsO_4-Fixation kontrastreicher und ribosomenfrei, so daß auf Grund dieser Merkmale eine Unterscheidung getroffen werden kann. Die Ribosomen sind nicht immer an das ER gebunden. Sie sind sowohl in Gruppen oder

▶

Bild 10: Epidermisausschnitt aus der meristematischen Blattzone mit den beiden in der Mitte liegenden Schließzellen *(SZ)*. *K* Kern, *N* Nebenzelle, *Nl* Nucleolus, *V* Vakuole, *ZW* Zellwand. Vergr. 4200 : 1, OsO_4-Fix.


V
N
K
SZ
K
SZ
K
NL
N
ZW
V
10
5µm

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



Ketten (Polysomen) angeordnet als auch einzeln zu beobachten. Sie treten so zahlreich auf, daß sie fast den gesamten Raum zwischen den einzelnen Zellorganellen einnehmen (Bild 8 und 9). Die Häufigkeit an freien Ribosomen ist nach Bielka (1969) ein Indiz für ein noch nicht ausdifferenziertes Stadium, was für die hier untersuchten Schließzelleninitialen durchaus zutrifft.

Die Proplastiden der Schließzellenmutterzellen zeigen eine geringe Differenzierung und eine große Formvariabilität (Bild 9). Sie ähneln denen vieler anderer Pflanzen und Zelltypen und weichen auch in ihrer Größe von 1—2 µm kaum von diesen ab. Im relativ stark elektronenstreuenden Stromaplasma dieser Plastiden, das hier

Bild 11: Junge Spaltöffnung aus der meristematischen Blattzone. *K* Kern, *M* Mitochondrium, *Nl* Nucleolus, *P* Plastid, *ZW* Zellwand. Vergr. 9000 : 1, OsO_4-Fix. ▶

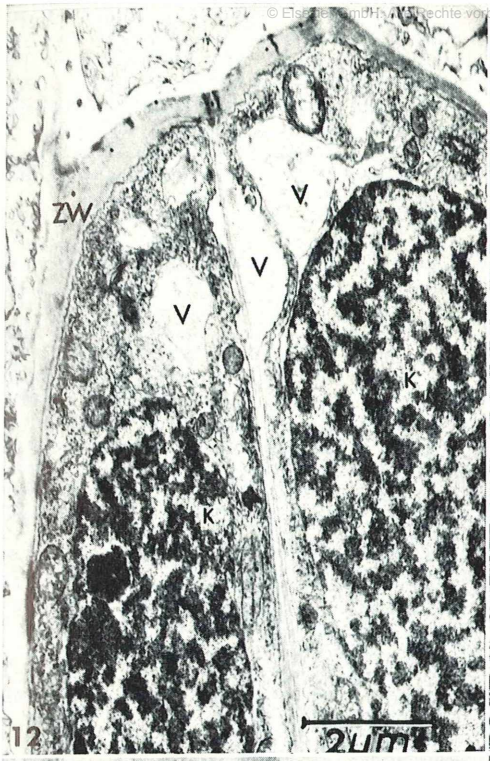
Bild 12: Ausschnitt aus einer jungen Spaltöffnung mit mehreren kleinen Vakuolen *(V)*. *K* Kern, *V* Vakuolen, *ZW* Zellwand. Vergr. 8700 : 1, OsO_4-Fix.

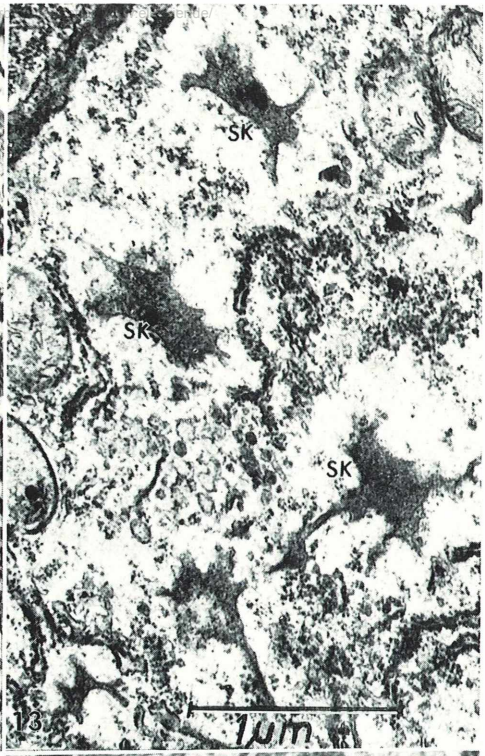
Bild 13: Ausschnitt aus einer meristematischen Schließzelle mit mehreren im Cytoplasma liegenden „stechapfelförmigen" Körpern *(SK)*. Vergr. 28 500 : 1, OsO_4-Fix.

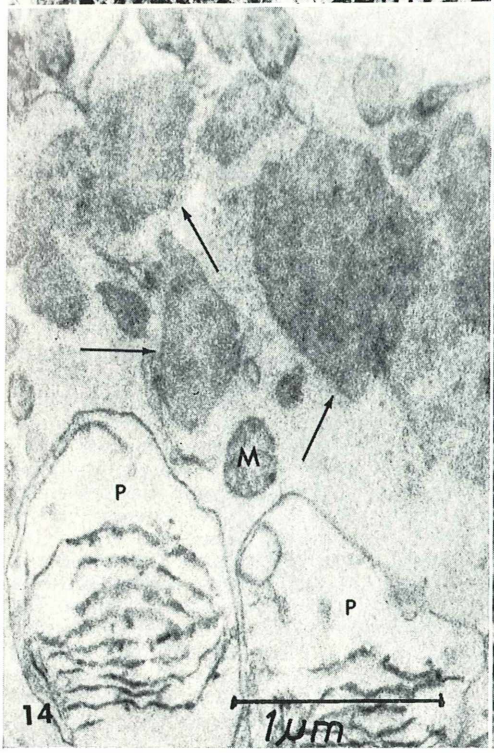
Bild 14: Schließzellenausschnitt mit im Cytoplasma liegenden polygonal geformten Zelleinschlüssen (Pfeil). *M* Mitochondrium, *P* Plastid. Vergr. 28 800 : 1, $KMnO_4$-Fix.

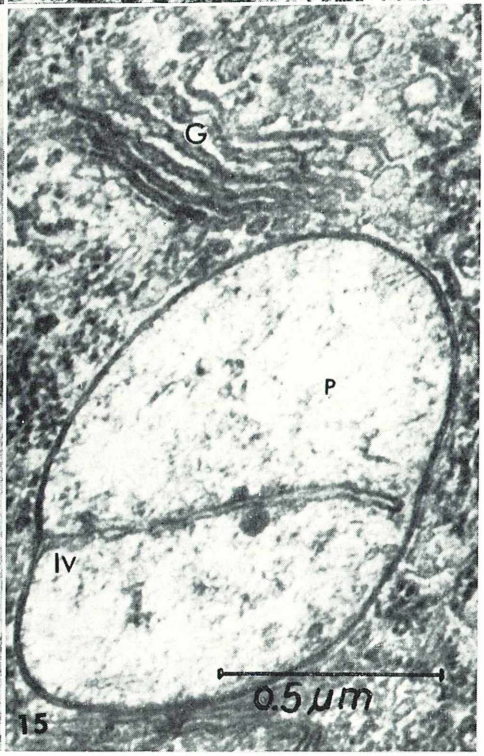
Bild 15: Ausschnitt aus dem Cytoplasma einer jungen Schließzelle mit einem Proplastid *(P)*, in dem es zur Thylakoidbildung durch Einstülpung *(Iv)* der inneren Plastidengrenzschicht kommt. *G* Golgi-Apparat. Vergr. 60 000 : 1, OsO_4-Fix.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.









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

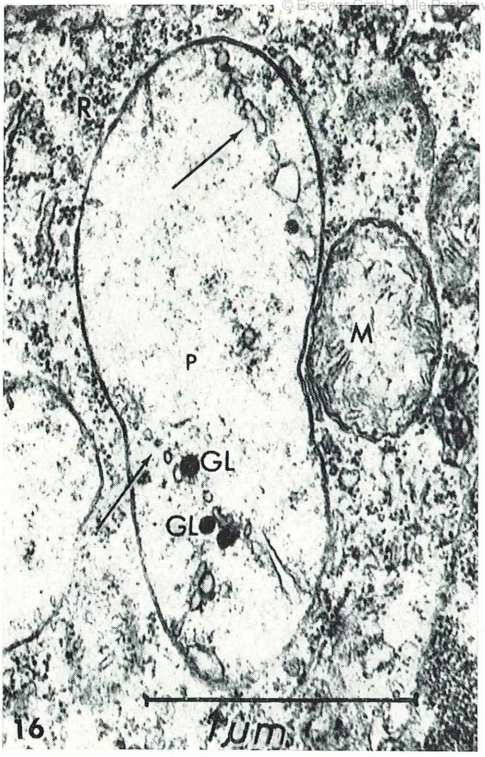


Bild 16: Plastid aus einer meristematischen Schließzelle mit kleinen in Reihen angeordneten Vesikeln (Pfeil). *GL* osmiophile Globuli, *M* Mitochondrium, *P* Plastid. Vergr. 36 000 : 1, OsO_4-Fix.

meistens feingranulär in Erscheinung tritt, liegen vereinzelt kleine osmiophile Globuli, die nur elektronenmikroskopisch erfaßbar sind. Bei den im Freiland und Gewächshaus aufgezogenen Pflanzen erfolgt die Thylakoidbildung durch Invagination (Einstülpung) der inneren Plastidenmembran. Jedoch sind diese Invaginationen noch relativ klein und selten.

Die meristematischen Schließzellen

Inäquale Teilungen von Epidermiszellen führen zu den Schließzellenmutterzellen. Aus diesen gehen durch äquale Teilungen die eigentlichen Schließzellen hervor, die zunächst noch meristematischen Charakter besitzen. Aus diesen bilden sich im Zuge der weiteren Differenzierung die funktionsfähigen Stomata.

Allgemeine Ultrahistologie der meristematischen Schließzellen

Das Bild 10 zeigt einen Epidermisausschnitt aus der meristematischen Blattzone von *Allium porrum* mit einer jungen Spaltöffnung, die beiderseits von einer Nebenzelle umgeben ist. Die noch meristematischen Schließzellen fallen durch ihr sehr dichtes Plasma und einen relativ großen Zellkern auf. Dieser füllt den größten Teil der Zelle aus und kann, indem er sich der Zellform anpaßt, eine ovale bis langgetreckte Gestalt annehmen.

Die Epidermiszellen (Nebenzellen) sind etwa viermal so groß wie die Schließzellen. Diese Nebenzellen enthalten einen wandständigen, 1—3 µm breiten Protoplasten, der eine große Zentralvakuole umschließt, von der er durch eine einschichtige Membran, den Tonoplasten getrennt ist, der allerdings unter dem Einfluß der Fixationsmittel nicht immer vollständig erhalten bleibt (vgl. U. Kristen 1973). Das Cytoplasma der an die Schließzellen angrenzenden Epidermiszellen ist weniger dicht, so daß die einzelnen Zellorganellen deutlicher sichtbar und voneinander besser zu unterscheiden sind.

Die cytoplasmatischen Verhältnisse der meristematischen Schließzellen werden besonders im Bild 11 sichtbar. Auffällig sind hier die Kerne, die eine Größe bis zu 8 µm erreichen und mehrere Nucleolen enthalten. Die Kerne nehmen den größten Teil der bis 11,5 µm großen Zelle ein. Der Zellraum zwischen Plasmalemma und der Kernmembran wird von einem dichten Cytoplasma eingenommen, in dem zahlreiche Proplastiden, Dictyosomen, Ribosomen und ein gut ausgebildetes endoplasmatisches Retikulum liegen. Vereinzelt wurden auch Lipidtropfen mit angeschnitten; jedoch treten sie in den Stomatazellen von *Allium porrum* relativ selten auf. Zum ersten Mal findet man jetzt auch 0-7—4,5 µm große Vakuolen, die einen nach OsO_4-Fixation schwach elektronenstreuenden, flockigen bis fädigen Inhalt haben (Bild 12).

Neben den sich bildenden Vakuolen findet man im Cytoplasma der jungen Schließzellen 0,5—1,3 µm große Einschlüsse, die nach OsO_4-Fixation durch ihren relativ stark elektronenstreuenden Inhalt und eine an die Früchte von *Datura* (Stechapfel) erinnernde Gestalt auffallen und deshalb als „stechapfelförmige Körper" bezeichnet werden sollen (Bild 13). Entsprechende Gebilde konnten weder in den übrigen Epidermiszellen noch in den Mesophyllzellen elektronenmikroskopisch nachgewiesen werden. Auffällig ist, daß sie oft von einem hellen Hof aus weniger dichtem Cytoplasma umgeben sind. Das könnte darauf hinweisen, daß sie ursprünglich einen größeren Raum eingenommen haben und erst bei der Fixation zu den „stechapfelförmigen Körpern" zusammengeschrumpft sind. Diese Inhaltskörper sind von einer einfachen, stark elektronenstreuenden Membran umgeben, und gelegentlich scheint diese mit dem ER

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

in Verbindung zu stehen. Besonders in den seltener vorkommenden langgestreckten Formen.

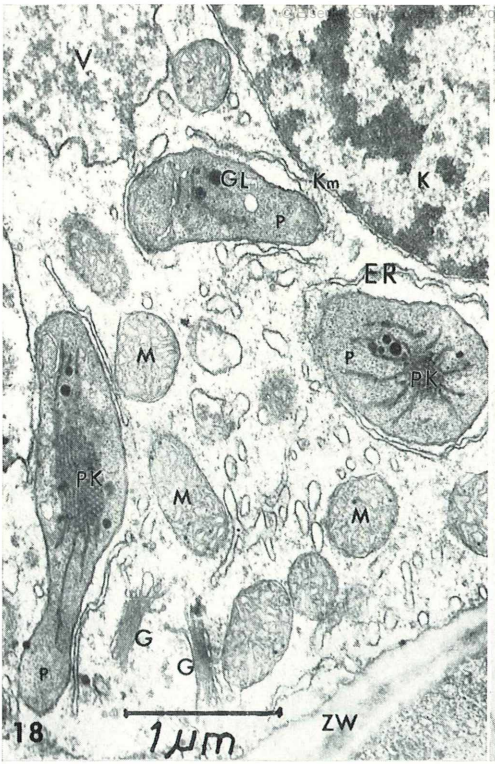
Etwas anders erscheinen diese Einschlüsse nach $KMnO_4$-Fixation. Hier konnten in keiner Schließzelle „stechapfelförmige" Cytoplasmaeinschlüsse beobachtet werden. Sie erscheinen hier vielmehr polygonal geformt und weniger stark elektronenstreuend. Auch tritt ihre Begrenzungsmembran nicht oder nur äußerst selten in Erscheinung. Ihre Größe schwankt ebenfalls zwischen 0,5—1,3 µm (Bild 14).

In diesen mit $KMnO_4$ fixierten meristematischen Schließzellen bieten auch die anderen Zelleinschlüsse einen etwas von den bisherigen Beschreibungen abweichenden Aspekt. Das Cytoplasma erscheint homogen und schwach elektronenstreuend; die Ribosomen treten nur sehr zart hervor, während das endoplasmatische Retikulum besser erhalten bleibt als nach OsO_4-Fixation. Die Dictyosomen, die nach OsO_4-Fixation flach und langgestreckt erscheinen, sind nach $KMnO_4$-Fixation stark gekrümmt. Das Chromatin der Zellkerne ist weniger stark elektronenstreuend, und in den Plastiden können nach $KMnO_4$-Fixation keine osmiophilen Globuli nachgewiesen werden (Bild 14).

Bild 17: Flächenschnitt durch eine meristematische Spaltöffnung. *ER* endoplasmatisches Reticulum, *K* Kern, *M* Mitochondrien, *Nl* Nucleolus, *P* Plastid, *Sp* Spalt, *T* Tonoplast, *V* Vakuole, *ZW* Zellwand. Vergr. 6200 : 1, OsO_4-Fix.



O.Ö. LANDESMUSEUM
BIBLIOTHEK



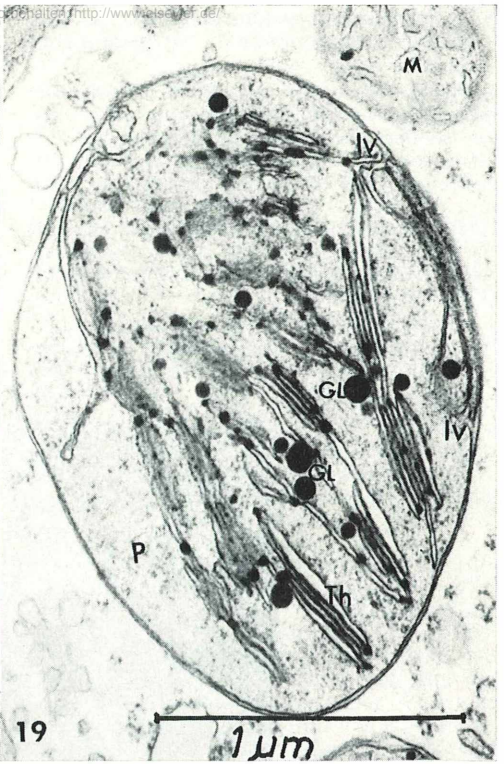


Bild 18: Cytoplasmaausschnitt aus einer meristematischen Schließzelle mit Proplastiden *(P)*, in denen Prolamellarkörper *(PK)* und osmiophile Globuli *(Gl)* zu erkennen sind. *ER* endoplasmatisches Reticulum, *G* Golgi-Apparat, *K* Kern, *Km* Kernmembran, *M* Mitochondrien, *V* Vakuole. Vergr. 20 400 : 1, OsO_4-Fix.

Bild 19: Chloroplast aus einer ausdifferenzierten Schließzelle mit Thylakoiden *(Th)*, osmiophilen Globuli *(Gl)* und Invaginationen *(Iv)*. *M* Mitochondrium, *P* Plastid. Vergr. 39 600 : 1, OsO_4-Fix.

Die Plastiden der meristematischen Schließzellen aus Freilandmaterial

Die Plastiden der jungen meristematischen Schließzellen unterscheiden sich in Größe und Form nicht oder nur sehr wenig von den Plastiden der Schließzellenmutterzellen. Ihre Größe liegt bei 1,5—2,5 µm. Die innere Differenzierung ist noch sehr gering und entspricht weitgehend den für die Schließzelleninitialen gegebenen Beschreibungen. Ein in Grana- und Stromalamellen differenziertes Thylakoidsystem ist noch nicht ausgebildet. Nur vereinzelt können im Stroma Thylakoide beobachtet werden, die aus Invaginationen der inneren Plastidengrenzschicht hervorgehen (Bild 15). Diese Invaginationen lösen sich von der Plastidenmembran und liegen dann isoliert im Stroma der Plastide, wo sie heranwachsen. An Stelle der Invaginationen können aber auch 0,02—0,1 µm große Vesikel gebildet werden, die sich in Reihen anordnen und zu Thylakoiden verschmelzen (Bild 16) (vgl. Sprey und Kaja 1965). Somit können die Plastiden der meristematischen Schließzellen als echte Proplastiden angesehen werden, in denen die Thylakoidbildung entweder durch Invaginationen der inneren Plastidengrenzschicht oder aber durch die Vereinigung von ebenfalls aus der Plastidenmembran gebildeten Vesikeln erfolgt. Die Bildung von Prolamellarkörpern unterbleibt dagegen in diesen unter normalen Lichtverhältnissen im Freiland aufgezogenen Pflanzen.

Die Plastiden der meristematischen Schließzellen aus Dunkelkulturen

Ergänzend zu den bisherigen Untersuchungen sollen hier die durch mehrtägige Dunkelkultur bewirkten Veränderungen meristematischer Schließzellen von *Allium porrum* beschrieben werden.
In der Übersichtsaufnahme (Bild 17) werden die beiden meristematischen Schließzellen wiedergegeben. Sie enhalten relativ große Zellkerne und mehrere bis 1,5 µm große Vakuolen, die von einer einschichtigen, stark elektronenstreuenden Membran umgeben sind und einen flockigen, kräftig kontrastierten Inhalt aufweisen.

Auffällig ist die große Zahl von Mitochondrien. Schon in einem einzigen Schnitt durch die Schließzellen kann man 30—40 etwa 0,5—1,5 µm große Mitochondrien beobachten. Sehr zahlreich sind auch die Proplastiden vertreten, in denen bereits bei dieser relativ geringen Vergrößerung deutliche Strukturunterschiede gegenüber den Lichtkulturen zu erkennen sind. Auf Grund der Dunkelkultur haben sich in den Proplastiden der meristematischen Schließzellen Prolamellarkörper gebildet, die als 0,3 bis 1 µm große Gebilde vorzugsweise in der Mitte der Proplastiden liegen und einen kristallgitterartigen Bau erkennen lassen (Bild 18). Bei Lichtgenuß kommt es zum Abbau der Prolamellarkörper und zur Bildung von Thylakoiden, die aus diesen Prolamellarkörpern auswachsen.

Die Stomata der grünen Blätter

Die Schließzellen erwachsener, grüner Blätter enthalten im Gegensatz zu den übrigen Epidermiszellen Plastiden mit einem in Grana- und Stromathylakoide differenzierten Thylakoidsystem (Bild 19); jedoch erreichen die ausdifferenzierten Schließzellenplastiden von *Allium porrum* mit einer durchschnittlichen Größe von 2—3 µm nicht die Größe der Mesophyllplastiden, die 4 bis 7 µm groß werden können (Weinert und Masuch 1970). Das Innere der Schließzellenplastiden gliedert sich in eine thylakoidfreie periphere Zone und einen durchgehend „lamellierten" thylakoidhaltigen Bereich. Zwischen den einzelnen Thylakoiden konnten im Stroma der Schließzellenchloroplasten vielfach osmiophile Globuli beob-



Bild 20: Ausdifferenzierte Spaltöffnung von *Allium porrum*. *Cu* Cuticulaleisten, *K* Kern, *M* Mitochondrien, *P* Plastid, *Sp* Spalt, *V* Vakuole. Vergr. 5200 : 1, OsO_4-Fix.

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

achtet werden, die in den Schließzellenplastiden wie auch in den Mesophyllplastiden grüner Blätter von *Allium porrum* sublichtmikroskopische Größe besitzen und meistens vereinzelt, z. T. aber auch in kleinen Gruppen vereint zusammenliegen können. Ein auffälliges Erscheinungsmerkmal der Schließzellenchloroplasten grüner Blätter von *Allium porrum* ist, daß die innere Plastidengrenzschicht tubuläre Einstülpungen und größere Invaginationen erkennen läßt (Bild 19). Die Thylakoidbildung der Schließzellenplastiden junger grüner Pflanzen von *Allium porrum* scheint damit noch nicht abgeschlossen zu sein. Das Cytoplasma der ausdifferenzierten Schließzellen (Bild 20) unterscheidet sich vom Cytoplasma meristematischer Schließzellen und den Stomatamutterzellen durch das Fehlen des endoplasmatischen Retikulums in Form langgestreckter Doppellamellen. Das ER scheint vielmehr in kleine Vesikel zerfallen zu sein, an deren Membranen Ribosomen haften können. Neben den großen Vakuolen sind Dictyosomen und Mitochondrien weiterhin recht zahlreich vertreten.

Literaturhinweise:

1. *Bielka, H.:* Molekulare Biologie der Zelle. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag (1969).
2. *Brown, R. M. Jr., W. W. Franke, H. Kleinig, H. Falk* und *P. Sitte:* Cellulosic wall component produced by the golgi apparatus of Pleurochrysis scherffelii. Science **166,** 894 (1969).
3. *Drawert, H.,* und *M. Mix:* Zur Funktion des Golgi-Apparates in der Pflanzenzelle. Planta **58,** 448—452 (1962).
4. *Frey-Wyssling, A., J. F. Lopez-Saez* and *K. Mühlethaler:* Formation and development of the cell plate. J. Ultrastruct. Res. **10,** 422—432 (1964).
5. *Kristen, U.:* Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Epidermiszellen der Schalenblattoberseite von Allium cepa. Mitt. Staatsinst. Allg. Bot. **14,** 5—17 (1973).
6. *Michael, K.:* Vergleichende Untersuchungen über die Farbeigenschaften und den Bau der Blätter von Aurea-Varietäten verschiedener Gehölze. Züchter **23,** 296—317 (1953).
7. *Mollenhauer, H. H., W. G. Whaley* and *J. H. Leech:* A Function of the Golgi-Apparatus in outer rootcap cells. J. Ultrastruct. Res. **5,** 193—200 (1961).
8. *Sievers, A.:* Beteiligung des Golgi-Apparates bei der Bildung der Zellwand von Wurzelhaaren. Protoplasma **56,** 188—191 (1963 a).
9. *Sprey, B.,* und *H. Kaja:* Zum Form- und Funktionswechsel ergrünender Plastiden von Tradescantia albiflora Kunth. em. Brückn. cv. 'aureo-vittata. Z. f. Pflanzenphysiol. **53,** 140—156 (1965).
10. *Strasburger, E.:* Ein Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der Spaltöffnungen. J. wiss. Bot. 5, 297—342 (1866).
11. *Weinert, H.,* und *G. Masuch:* Die Entwicklung von Chloroplasten. Mikrokosmos **59,** 368 bis 375 (1970).
12. *Weinert, H.:* Die Entwicklung von Epidermisplastiden. Mikrokosmos **60,** 307—310 (1973).

Verfasser: Dr. Heinz Weinert, Botanisches Institut der Universität Münster, Schloßgarten 3, 4400 Münster.

Biologie in der Schule

Collegium Ambrosianum Kurs II

Algen im Schülerpraktikum

Wir bildeten im Biologieunterricht des Kurses II am Collegium Ambrosianum Arbeitsgruppen, deren Aufgabe es war, herauszufinden und zu sammeln, was man im Biologieunterricht mit dem „Anschauungsmaterial Algen" anfangen kann. Was dabei herausgekommen ist, zeigt die folgende Übersicht. Der Text stammt weitgehend von den Schülern, die Mikrofotos wurden von mir, dem Lehrer, aufgenommen.

Hartmut Dietle

Die Schraubenalge Spirogyra. Konjugation

Zur Einführung in die Mikroskopie eignet sich bekanntlich die Schraubenalge *Spirogyra* besonders gut, weil man hier den räumlichen Charakter der Zellen herausarbeiten kann. Es lohnt sich, diese Algenwatten auch zu verschiedenen Jahreszeiten zu mikroskopieren, im Spätsommer und Herbst entdeckt man mit großer Sicherheit Konju-

© Ernst Klett GmbH. Alle Rechte vorbehalten

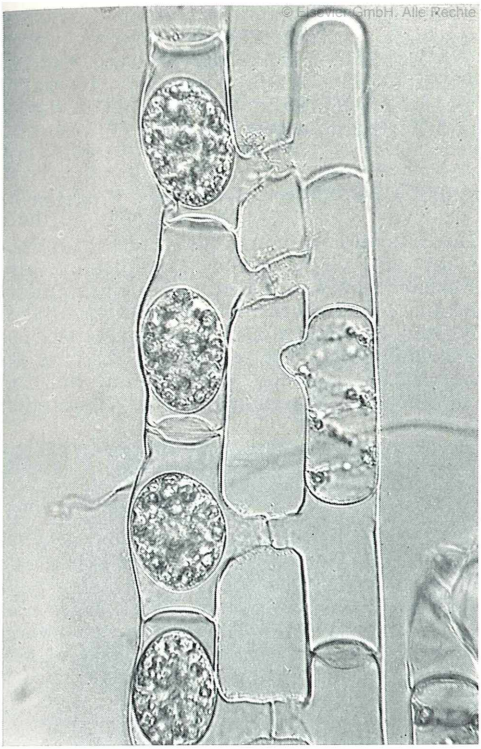


Bild 1: Konjugationen bei *Spirogyra*. Eine Zelle findet keinen Partner.

gationsstadien: Die Protoplasten zweier Zellen kriechen durch einen Kanal aufeinander zu. Als Verschmelzungsprodukt entsteht eine Zygote. Bild 1 zeigt als Besonderheit eine Zelle, die zwar einen Kanal austreibt, aber zu keiner Konjugation kommt, da keine Partnerzelle zur Verfügung steht.

Die Blutregenalge „Haematococcus"

Das Wasser in Pfützen, Gesteinsmulden oder Wassertonnen ist bisweilen rot gefärbt. Entnimmt man davon eine Probe für die mikroskopische Untersuchung, läßt sich die Ursache für diese Rotfärbung ergründen: Sie wird meist durch Grünalgen der Gattung *Haematococcus* hervorgerufen. Diese sind sehr klein, man muß also eine starke Vergrößerung wählen, um nähere Einzelheiten erkennen zu können. Bild 3 stellt *Haematococcus* vor: Eine Gallertschicht trennt Zellmembran und Zellkörper voneinander. Durch Einlagerung des Farbstoffes Haematochrom in den Zellkörper erscheint die Grünalge rot, weil die grüne Farbe der Chloroplasten überdeckt wird. Besonders in älteren Zellen kommt es zur Anhäufung von Haematochrom; ebenso führen schlechte Lebensbedingungen zur vermehrten Einlagerung des Farbstoffes. Es ist verständlich, daß das Auftreten von *Haematococcus* im Trinkwasser unerwünscht ist.

Vom Einzeller zum Vielzeller: Entwicklungstendenzen

Die Flagellatenform stellt eine ursprüngliche Gestaltsform dar, von der sich andere, höher entwickelte Organisationsformen ableiten. Für die mikroskopische Untersuchung wählten wir *Euglena gracilis*, die ja bekanntlich einfach in Kultur zu halten ist. Die Schwimmgeißel dieses Flagellaten ist in Bild 2 zu erkennen. Die Anpassung an das Wasserleben wird auch bei den Einzellerkolonien deutlich. Zunächst *Eudorina* (Bild 4): Die Gallertschicht, in die die 32 Einzelzellen eingebettet sind, ist sehr wasserreich. Die Kolonie hat damit fast das gleiche spezifische Gewicht wie Wasser: Für Planktonorganismen ist dadurch ein Schweben im Wasser erreichbar.
Die größte Geißelalgenkolonie stellt *Volvox* dar. Die Einzelzellen sind durch ihre geordneten Tätigkeiten gekennzeichnet: Sie bauen den Körper auf, dienen der Ernährung, der Bewegung und der Fortpflanzung. Die Körperzellen besitzen eine beschränkte

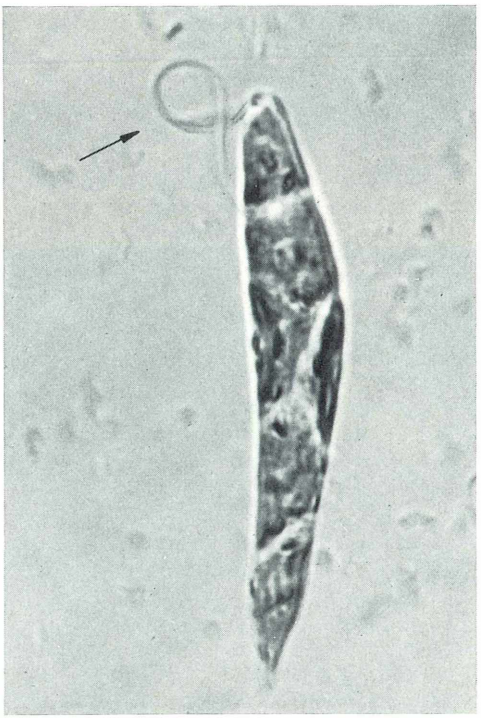


Bild 2: *Euglena gracilis*, stark vergrößert. Die Schwimmgeißel wird durch einen Pfeil markiert.

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

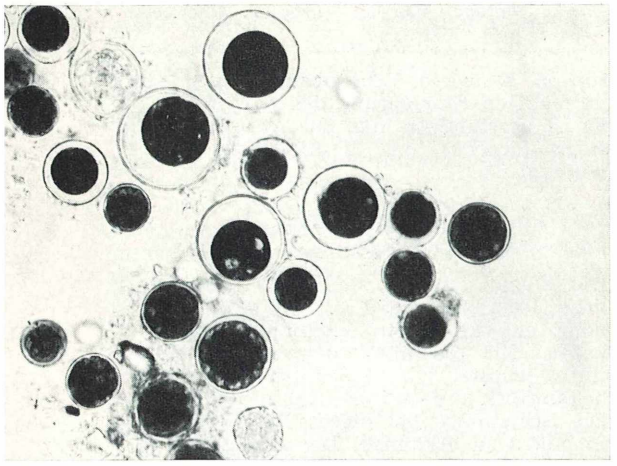


Bild 3: Die Grünalge *Haematococcus*.

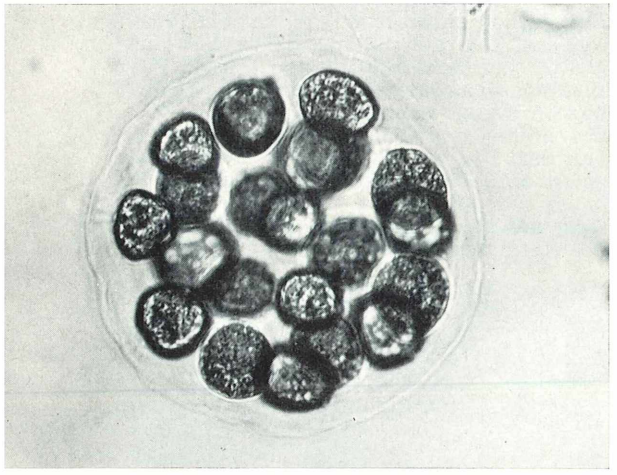
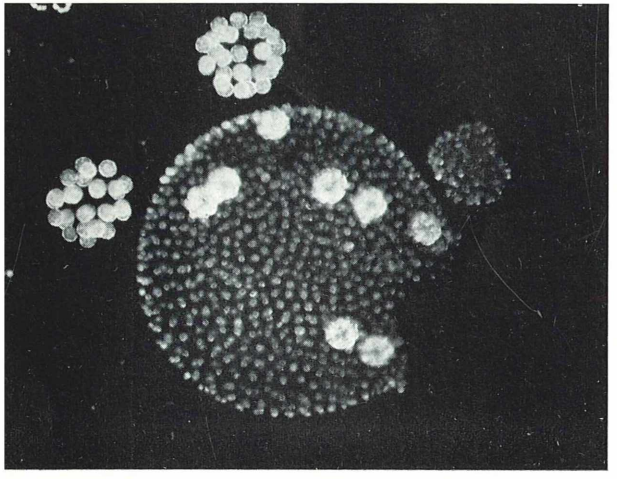


Bild 4: Einzellerkolonie *Eudorina*.



Lebensdauer, die Fortpflanzungszellen wachsen zu Tochterkolonien heran, durch das Aufplatzen der Mutterkolonie werden sie frei (Bild 5). Der Alterstod tritt dabei als Folge der Differenzierung in Körper- und Fortpflanzungszellen auf.

Algen als Symbiosepartner von Flechten

Durch Symbiose von Algen und Pilzen entsteht ein völlig neuer Organismus: die Flechte. Symbiose bedeutet ein Zusammenleben von Organismen zu gegenseitigem Nutzen. So können sich Flechten selbst dort ansiedeln, wo Pilze und Algen für sich allein nicht gedeihen können: auf sterilen Sandböden, Baumrinden und trockenen Felsen.

Herstellung eines mikroskopischen Flechtenpräparats:

Möglichst dünne Querschnitte durch Flechten anfertigen (in dieser Form noch zu dick für mikroskopische Untersuchungen), den Schnitt mit einer Nadel zerzupfen, auf einen Objektträger streifen und einen Wassertropfen dazugeben.

Mit einiger Geduld gelangt man zu einem brauchbaren Präparat, das den Bau der Flechte aus Algen und einem Geflecht von Pilzfäden zeigt (Bilder 6 und 7).

Im abgebildeten Modell läßt sich der eng verflochtene Aufbau einer Flechte noch besser zeigen: Die Pilze bilden das Gerüst, in das die Algen eingelagert sind. Sie führen den Algen CO_2 und Wasser zu sowie Mineralstoffe, die durch abgeschiedene Flechtensäuren aus dem Untergrund gelöst werden.

Die Algen wiederum geben den Pilzen das durch Photosynthese gewonnene O_2 ab und schließen dadurch den autarken Kreislauf dieser Symbiose.

Algen als Produzenten

Am Ablauf der Photosynthese in den Gewässern sind fast ausschließlich Algen beteiligt. Den Algen kommt somit eine wichtige Rolle als Produzenten von Sauerstoff und Nahrungsmitteln zu: Sie dienen als Nahrungsquelle für die Konsumenten und stellen den für die Atmung notwendigen Sauerstoff zur Verfügung. Zur Demonstration dieses Sachverhalts füttert man Salinenkrebschen mit Algen, zur Beobachtung genügt schon eine Lupe.

Die Entwicklung des Salinenkrebschens (Ei — 17 Larvenstadien — erwachsenes Tier) ist nach etwa 8 Wochen beendet. Zur Aufzucht wird Salzwasser genommen; die Krebschen können übrigens sowohl in fast

Bild 5: *Volvox*, geplatzte Mutterkolonie (Dunkelfeldaufnahme).

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

reinem Süßwasser als auch in extrem salzigem Wasser existieren.
Der Verdauungstrakt der sonst transparenten Tiere hat sich durch die gefressenen Algen grün gefärbt. Das Salinenkrebschen (Bild 8) dient, wie bekannt, als Fischfutter, die Algen werden somit von den Fischen — den Sekundärkonsumenten — verwertet. Die Fische sind auch wiederum Glieder einer Nahrungskette.

Der ökologische Aspekt: Algenwachstum und Phosphat

Eutrophierung (Nährstoffanreicherung), ein Wort, das immer größere Bedeutung bekommt in der Biologie der Gewässer. Eigentlich ist die Umwandlung von nährstoffarmen Seen in eutrophe ein ganz natürlicher Vorgang, der aber durch die Umweltverhältnisse zusätzlich beschleunigt wird. Die Ursache: Phosphate aus Kunstdüngern und Waschmittelrückständen gelangen ins Wasser, und Wasser ist ein sehr gutes Lösungsmittel!
Ein zu hoher Phosphatgehalt im Wasser bewirkt eine Überdüngung des Gewässers und somit die Störung des vorhandenen dynamischen Gleichgewichts. Die Phosphate fördern den Algenwuchs und steigern parallel dazu die Anzahl der Konsumenten (Bild 9). Das intensive Leben der Seen erhöht nun den Sauerstoffverbrauch. Der Sauerstoffvorrat ist rasch erschöpft. Bei rapider Abnahme des O_2-Gehalts bricht das ganze ökologische Gleichgewicht zusammen (Bild 10).
Zunächst ist Eutrophierung als Intensivierung des Lebens in Gewässern etwas Positives, aber durch Störung des ökologischen Gleichgewichts wirkt sie sich negativ aus, da Nährstoffreichtum eine Sekundärverschmutzung nach sich zieht.

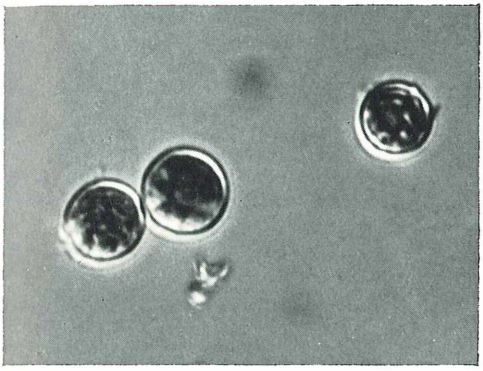


Bild 6: Isolierte einzellige Algen, die aus dem Pilzgerüst einer Flechte herausgezupft wurden.

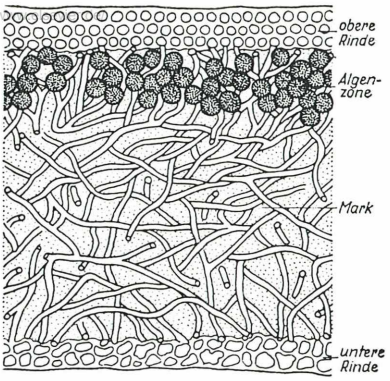


Bild 7: Querschnitt durch das Lager einer Blattflechte. Aus Follmann, Flechten. Kosmos-Verlag.

Algen als Nahrungsquelle

Algen bieten sich als Eiweißquellen an, um zukünftig in Entwicklungsländern Eiweißmangelkrankheiten wirksam zu bekämpfen. Die Erfahrungen in der Algenforschung zeigen, daß Grünalgen, z. B. *Scenedesmus*, wertvolle Eiweißspender darstellen: Etwa 50—60% der Trockensubstanz bestehen aus Rohprotein. Algen vermehren sich schnell, sie liefern deshalb im gleichen Zeitraum und bei gleicher Anbaufläche ein Vielfaches an Rohprotein im Vergleich zu Landpflanzen; allerdings bewegt sich der tech-

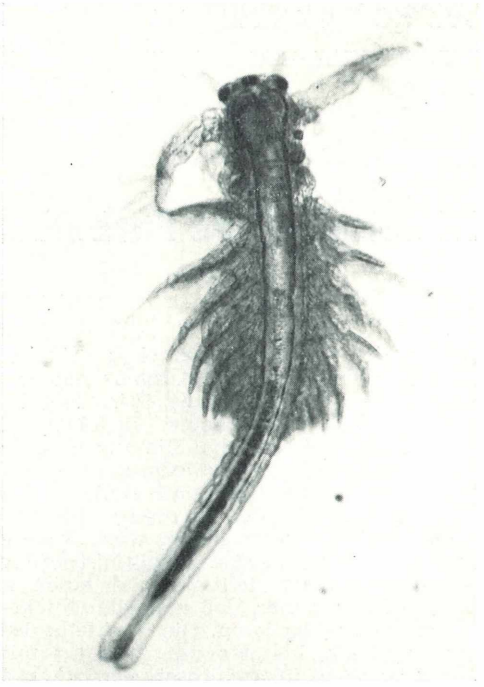
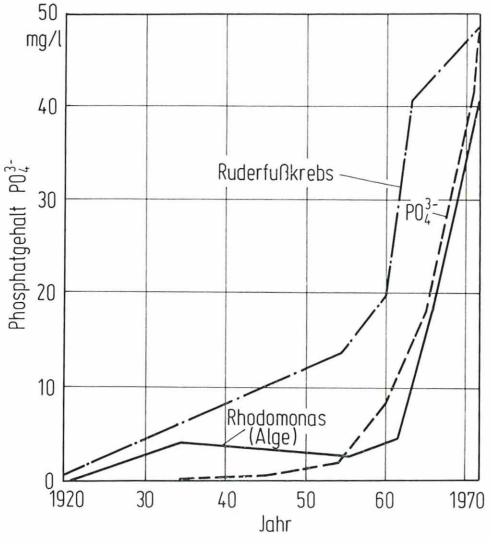


Bild 8: Das Salinenkrebschen.

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

Bild 9: Besiedlungsdichten der Produzenten und Konsumenten entsprechend dem Phosphatgehalt (am Beispiel Bodensee nach G. Reichelt).



Verfasser: Kurs II am Collegium Ambrosianum, Stuttgart.

nische und somit finanzielle Aufwand noch in großen Dimensionen.
Dagegen haben Versuche mit Testpersonen in verschiedenen Ländern ergeben, daß es keiner großen Überwindung bedarf, die landesüblichen Gerichte mit zugesetzter Algensubstanz zu verzehren.

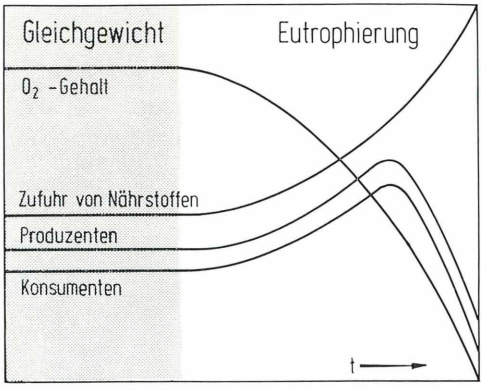


Bild 10: Voraussichtliches Verhalten des Ökosystems See bei anhaltender Eutrophierung (nach G. Reichelt).

Winke fürs Labor

Josef Smolle

Histologisches Färben im Flüssigkeitsfilm

Jedem, der mit dem Mikroskop arbeitet, stellt sich des öfteren die Aufgabe, ein einzelnes oder einige wenige Präparate zu färben, z. B. aufgeklebte histologische Schnitte oder Ausstriche. Die für größere Mengen angewandte Methode, die Objektträger in Färbeküvetten einzustellen, wird dann sehr umständlich, da man ja die verwendeten Lösungen filtrieren muß. Außerdem halten sich manche Farbgemische nur wenige Tage; man stellt sie daher kaum in solchen Mengen her, daß man die Objektträger eintauchen kann. Die Nachteile der Tropfmethode, bei der das Präparat mit den Lösungen überschichtet wird, kennt jeder, der diese Methode einige Male angewendet hat: Wenn die Objektträger nicht genau waagrecht liegen, sammelt sich die Flüssigkeit an einem Rand und der übrige Teil des Präparates droht auszutrocknen. Alkoholische Lösungen wiederum verdunsten so schnell, daß man sie laufend nachtropfen muß. Ich möchte nun ein einfaches Instrument vorstellen, das sich besonders zur rationellen Anfärbung kleiner Mengen von Präparaten eignet und sich leicht selbst herstellen läßt. Die Schnitte müssen dazu allerdings auf Objektträger aufgeklebt sein, lose Schnitte eignen sich nicht.

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

Das Prinzip ist folgendes: Der Objektträger wird — Schichtseite nach unten — über eine ebene Glasplatte von 2×3 cm gelegt, so daß dazwischen ein kapillarer Spalt entsteht, in dem sich die Flüssigkeit gleichmäßig ausbreitet.

Wir bauen am besten ein Gerät mit mehreren Färbestationen, da man dann auch mehrere Objektträger hintereinander färben kann. Als Beispiel beschreibe ich den Bau eines Instrumentes mit 10 Färbestationen*.

Als Grundfläche benützen wir eine Homogenplatte mit einer Dicke von 8 mm mit den Maßen 40×9 cm. Weiters benötigen wir 10 Glasplatten 2×3 cm, 4 mm stark, und zwei Glasleisten 2×40 cm, ebenfalls 4 mm dick. Auf diese Glasstreifen kleben wir Kartonstücke mit denselben Maßen. Diese einseitig beschichteten Glasteile kleben wir (Kartonseite nach unten) auf die Grundplatte, so daß die Glasplatten mit dem Rand der Holzfläche abschließen. Wir haben jetzt zwei parallele erhabene Schienen erhalten, zwischen denen das Holz unbedeckt ist. In diese Straße von 5 cm Breite kleben wir die kleinen Glasplättchen hintereinander — ohne Kartonunterlage — in der Weise, daß zu den Leitschienen und zu den Nachbarplättchen je ein Abstand von 1 cm besteht.

Für alle Klebeverbindungen verwenden wir einen Spezialkleber für Glas und andere glatte Materialien (z. B. Uhu-plus oder Pritt). Der Klebstoff ist in gleichmäßig dünner Schicht aufzutragen.

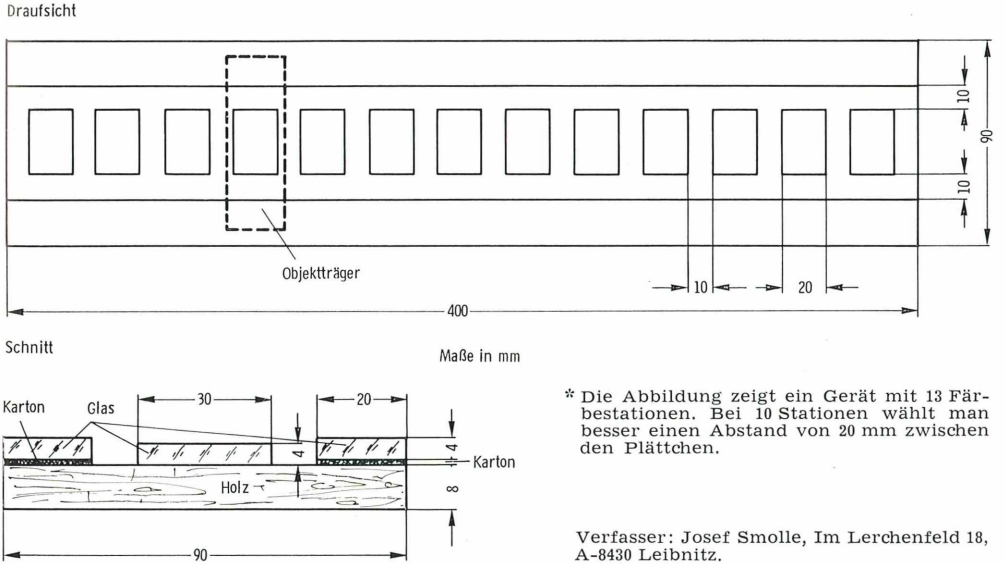
Das Färben

Bei der Färbung verfahren wir folgendermaßen: Auf die erste 2×3 cm große Glasplatte geben wir einige Tropfen der notwendigen Flüssigkeit — bei Paraffinschnitten etwa Xylol. Nun legen wir den Objektträger mit der Schichtseite nach unten so darauf, daß er an beiden Schmalseiten auf den Führungsschienen aufliegt. Weil diese auf Grund der Kartonstreifen etwas höher als die Glasplättchen dazwischen sind, bleibt nun zwischen diesem und der Objektträgerunterseite ein Spalt, in dem sich die Flüssigkeit gleichmäßig ausbreitet. Die als nächstes verwendete Flüssigkeit (etwa 96%iger Alkohol) tropft man auf die folgende Glasplatte und schiebt den Objektträger über dieselbe, usw. Die freigewordenen Felder wischt man mit einem Tuch ab.

Die beschriebene Methode ist außerordentlich kostensparend, da jede Lösung nur tropfenweise verwendet wird, außerdem breitet sich die Flüssigkeit gleichmäßig über das Präparat aus. Weil die Flüssigkeit im Gegensatz zur herkömmlichen Tropfmethode fast keine freie Oberfläche hat, verdunsten auch besonders flüchtige Medien wie Alkohol nur unmerklich. Da die Objektträger mit der Schichtseite nach unten liegen, können die Präparate nicht verstauben.

Die Methode ist natürlich nicht zu verwenden, wenn Reagenzien rasch und vollständig gegeneinander ausgetauscht werden müssen. So wird man nach einer Hämatoxylinfärbung das Auswaschen in Leitungswasser („Bläuen") zweckmäßig nicht in kapillaren Schichten, sondern in fließendem Wasser vornehmen.

Bild: Das Gerät zum Färben im Flüssigkeitsfilm.



* Die Abbildung zeigt ein Gerät mit 13 Färbestationen. Bei 10 Stationen wählt man besser einen Abstand von 20 mm zwischen den Plättchen.

Verfasser: Josef Smolle, Im Lerchenfeld 18, A-8430 Leibnitz.

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

Hartmut Koehler

Gregarinen als Beispiel für Entoparasiten

Gregarinen sind Einzeller, die zur Klasse der Sporentierchen (Sporozoa) gehören. Alle Arten dieser Klasse, zu der auch der Erreger der Malaria gehört, haben die Fähigkeit gemeinsam, sich durch Sporen fortzupflanzen. Ihr Entwicklungszyklus ist hochinteressant, aber es würde zu weit führen, in diesem Rahmen ausführlich darüber zu berichten. Was hier interessiert, ist, wie man diese Tierchen unter dem Mikroskop beobachten kann.

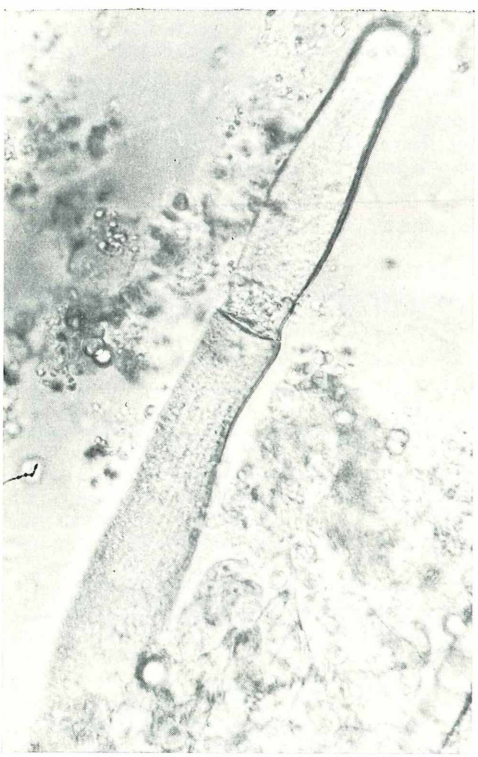


Bild 1: Gregarine aus dem Darm eines Mehlwurms. Man erkennt die Gliederung in ein Vorderteil und den länglichen Leib.

Präparation

Im Gegensatz zu den anderen Sporozoa, wie z. B. den Coccidinen oder den Myxosporidien, lassen sich Gregarinen ohne große Schwierigkeiten präparieren. Sie kommen in Krebsen, Würmern (z. B. in den Samenblasen des Regenwurms), in Insekten und deren Larven, kurz, bei allen Wirbellosen mehr oder weniger häufig vor. Als leicht zu beschaffendes, ziemlich zahlreich auftretendes und gut zu beobachtendes Objekt bietet sich *Gregarina polymorpha* zur mikroskopischen Untersuchung geradezu an. Man findet diese Art im Darm der Larve des Mehlkäfers. Jede Zoohandlung hat diese „Mehlwürmer" in Massen vorrätig, da sie als Vogelfutter dienen. Die „Massenhaltung" hat nicht nur den Vorteil, daß die Würmer billig sind, sondern sie bietet auch den parasitierenden Gregarinen Idealbedingungen zur Fortpflanzung. Daher kann man ziemlich sicher sein, eine Menge der gesuchten Objekte zu finden.
Um Gregarinen unters Mikroskop zu bringen, müssen sie aber erst einmal aus dem Darm ihres Wirtes geholt werden. Dazu trennt man mit einem Rasiermesser den Kopf und das Hinterende des „Mehlwurms" sauber ab. An einer der Schnittflächen (meist dem Vorderende) sieht man nun den vom Nahrungsbrei dunkel gefärbten Darm, der in weißes Binde- und Fettgewebe eingebettet ist. Mit einer spitzen Pinzette läßt er sich leicht aus dem Leib herausziehen. Mit einer Präpariernadel streicht man nun vorsichtig über das Darmrohr und drückt so den Nahrungsbrei heraus. Am besten fängt man ihn in einem Schälchen mit physiologischer Kochsalzlösung auf. Dadurch kann man sicher sein, daß sich die Gregarinen nicht auf Grund osmotischer Einflüsse in

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten



Bild 2: Fortpflanzungsstadium von *Gregarina polymorpha*.

ihrer Gestalt verändern oder gar platzen. Die Untersuchung des Substrats, das man noch ein wenig durchmischen kann, ist nicht mehr schwierig.

Zu den Bildern

Bild 1, das bei 252facher Vergrößerung aufgenommen worden ist, zeigt deutlich einige anatomische Details des Tieres:
Das griesliche Entoplasma (innen) des Einzellers wird von einer ziemlich festen, mit Muskelfasern (Myoneme) durchzogenen Plasmaschicht umgeben. Die Myoneme erlauben dem Tier, geringe Bewegungen auszuführen. Interessant ist weiterhin die Differenzierung der beiden Körperenden: Man kann ein Vorderteil und einen länglichen „Leib" unterscheiden. Das Vorderende, der Protomerit, trägt bei jungen Individuen vieler Arten oft abenteuerliche Gebilde, die Epimeriten. Sie dienen dazu, das Tier an der Darmwand festzuhalten. Der Formenreichtum dieses „Körperteils" — er reicht von speer- über schaufel- bis zu geweihartigen Ausbildungen — ist ein wichtiges Bestimmungsmerkmal der einzelnen Arten. Bei *Gregarina polymorpha* fehlt er allerdings meist, da diese Art zum Teil schon zur freien Lebensweise im Darmlumen übergegangen ist und sich daher nicht mehr an die Darmwand anheftet. Im längeren Teil des Körpers, dem Deutomeriten, liegt der Zellkern. Er ist als heller Schatten wenig unterhalb der Trennwand zu erkennen, die den Protomeriten vom Deutomeriten abgrenzt.
Das andere Foto (Bild 2, Vergrößerung 80×) zeigt ein Fortpflanzungsstadium, die Gamegonie. Die kopulierten Tiere verschmelzen im Verlauf des Fortpflanzungszyklus und bilden eine Zyste, aus der dann über weitere Stadien Sporen und schließlich wieder Individuen entstehen. Im Laufe dieser Fortpflanzung findet ein Wirtswechsel statt.

Daten zu den Aufnahmen:

Meine Aufnahmen sind mit normalem Hellfeldkondensor bei ziemlich heller Niedervoltbeleuchtung entstanden, wobei die Helligkeit viel größer war, als man sie sich für die Beobachtung mit dem Auge einstellen würde. Die Belichtungszeiten betrugen deshalb für in Standardentwickler verarbeiteten Dokumentenfilm (9 DIN) 1/15 bzw. 1/30 Sekunde.

Literaturhinweise:

Geus, A.: Sporozoa: Die Gregarinida, 57. Teil der „Tierwelt Deutschlands", Jena 1969.
Smyth: Introduction to Animal Parasitology, London 1968.
Cheng: The Biology of Animal Parasites, Philadelphia & London 1964.

Verfasser: Hartmut Koehler, Am Rötelheim 58, 8520 Erlangen.

Kleine Mitteilungen

Eine Modifikation der raschen Golgi-Methode für Amphibien und Säugetiergehirne
Durch Verwendung eines Barbital-Natrium-Puffers, der sonst bei elektronenmikroskopischen Untersuchungsverfahren gebraucht wird, liefert die hier geschilderte rasche Golgi-Methode durchweg hervorragende Imprägnationen. Wasserfrösche *(Rana esculenta)* wurden mit MS 222 (Sandoz) in einer Verdünnung von 1 : 3000 narkotisiert und ihr Gehirn und Rückenmark durch Entfernung des darüberliegenden Knorpels rasch und vorsichtig, ohne Verletzung von Blutgefäßen, freigelegt. Die Riechnerven wurden durchtrennt und nach Durchschneiden des Rückenmarks auf der Höhe des Brachialplexus wurde der obere Teil des Rückenmarks mit dem davor-

liegenden Gehirn vorsichtig angehoben, die Sehnerven wurden durchtrennt, und das Nervengewebe wurde in einen lichtundurchlässigen Behälter eingelegt, der 85 ml 3%ige wäßrige Kaliumdichromatlösung (C. Erba) und 15 ml 2%iges Osmiumtetroxid in Barbital-Natrium-Puffer (bestehend aus: 0,61 g Natrium-Barbital [Fisher], 0,29 g Natriumchlorid [British Drug Houses], 0,22 g Calciumchlorid [C. Erba], 100 ml H_2O dest.; mit HCl wird der Puffer auf pH 7,2 eingestellt) enthielt. Beide Stammlösungen werden erst unmittelbar vor Gebrauch zusammengegeben, die Pufferlösung ist bei 4 °C mehrere Monate haltbar. Nach 6- oder 12stündigem Aufenthalt bei Zimmertemperatur (etwa 23 °C) wurde die Chrom-Osmium-Lösung weggegossen, und die Gehirne wurden mehrere Male in 0,75%iger wäßriger (Gewicht/Volumen) Silbernitrat-Lösung gewaschen und dann für 6 oder 12 Stunden in frische 0,75%ige Silbernitrat-Lösung eingelegt. Nach Entwässerung und Einbettung in Paraplast wurden mit dem Mikrotom 50 μm dicke Serienschnitte hergestellt. Das kürzere Verfahren (6 Stunden Chrom-Osmium, 6 Stunden Silbernitrat) liefert eine von außen nach innen abgestufte Imprägnation; außen liegende Strukturen wie Cortices des Telencephalon und des Tectum opticum werden ebenso wie der Bulbus olfactorius und die großen myelinisierten Faserbündel des Rückenmarks imprägniert, während die tiefer drinnen liegenden Abschnitte des Zentralnervensystems keine Imprägnation zeigen. Bei dem längeren Verfahren (12 Stunden Chrom-Osmium, 12 Stunden Silbernitrat) wird das gesamte Zentralnervensystem von der Imprägnation erfaßt, oft werden auch Astrocyten der tiefer gelegenen Gehirnformationen erfaßt. Noch längere Verweildauer in den beiden Bädern lieferte keine wesentlich besseren Ergebnisse. Die Methode läßt sich, wie Vorversuche zeigten, mit Erfolg auch bei Gehirnen anderer Amphibien und Säugetiere anwenden.

Kemali, M.: A modification of the rapid Golgi method. Stain Technol. **51**, 169—172 (1976).

Alexander Pareto

Mahons Myelinfärbung für in Celloidin eingebettetes Nervengewebe

Myelinscheiden werden meist mit Klüvers und Barreras Luxolechtblau-Methode oder mit Weils Eisenhämatoxylin dargestellt, beide Methoden erfordern eine Differenzierung, bei ersterer Methode ist außerdem eine Färbezeit von 16—24 Stunden notwendig. Das dritte Verfahren zur selektiven Darstellung der Markscheiden stammt von Mahon (1938) und war für in Paraffin eingebettetes Autopsiematerial gedacht. Es hat den Vorzug, nur 1 Stunde Färbezeit und keine Differenzierung zu benötigen. Die hier geschilderte Modifikation erlaubt ihre Anwendung auch bei in Celloidin eingebettetem Material, was bei Rekonstruktionen im Bereich des Zentralnervensystems zur Verfolgung der Stichkanäle von Ableit- oder Reizelektroden und bei der Untersuchung experimentell gesetzter Läsionen von großem Vorteil ist. Das Gewebe wird in neutralem, gepuffertem, 10%igem Formol fixiert und über die aufsteigende Alkoholreihe und absoluten Alkohol in ein Gemisch aus gleichen Teilen absoluten Alkohols und Äthers gelegt und dann über eine 2%ige, eine 4%ige, eine 6%ige, eine 8%ige und eine 12%ige Celloidinlösung (das Celloidin wird wie üblich in Alkohol-Äther gelöst) in 12%igem Celloidin eingebettet. Nach dem Zurechtschneiden der Blöckchen und nach dem Aufblocken werden 20—40 μm dicke Schnitte hergestellt und in 70%igem Alkohol aufbewahrt. Zur Färbung werden die Schnitte über die absteigende Alkoholreihe in destilliertes Wasser übertragen und in einer 4%igen Eisenammoniakalaun-Lösung 15 Minuten gebeizt und dann schnell aber gründlich dreimal in H_2O dest. gespült. Gefärbt wird 60 Minuten lang in frisch zubereiteter Lithiumcarbonat-Hämatoxylin-Lösung. Zur Herstellung der Farblösung werden 7 ml einer gesättigten, wäßrigen Lithiumcarbonat-Lösung mit H_2O dest. auf 100 ml verdünnt und davon 9 Teile mit einem Teil einer 10%igen alkoholischen Hämatoxylin-Lösung (C.I. No. 75290) vermischt. Die 10%ige alkoholische Hämatoxylin-Lösung braucht nicht gereift zu werden, und die Färbelösung kann nur einmal verwendet werden. Nach der Färbung werden die Schnitte 5 Minuten oder länger gewaschen, um überschüssige Farbe zu entfernen, und können nun mit Kresylechtviolett gegengefärbt werden oder werden über 95%iges und absolutes Äthanol entwässert, in Xylol aufgehellt und mit einem der üblichen Kunstharze eingedeckt. Ergebnis: Die Markscheiden erscheinen dunkelblau oder blauschwarz auf einem farblos weißen Hintergrund; Nucleoli und rote Zellen erscheinen schwarz. Bei Kresylechtviolett-Gegenfärbung sind Nissl-Substanz und Zellkerne purpurrot gefärbt.

Metz, C.: Mahon's myelin stain for celloidin-embedded nervous tissue. Stain Technol. **51**, 59 to 61 (1976).

Alexander Pareto

Paraffinschnitte von haploiden Pollen-Embryonen

Die künstliche Induktion haploider Pollen-Embryonen und Pflänzchen ist von embryologischem, cytologischem und morphogenetischem Interesse. Nach dem ersten Bericht über die Entstehung von haploiden Embryonen aus Pollenkörnern unter Kulturbedingungen bei dem Stechapfel-Verwandten *Datura innoxia* (1966) sind verschiedene Veröffentlichungen erschienen. Meist wurden Totalpräparate von freipräparierten Pollen-Embryonen oder gequetschten Antheren angefertigt, jedoch keine Paraffinschnitte, da während der Herstellung von Schnitt-Präparaten die Embryonen leicht verloren gehen. Um die ersten Teilungsmuster in den Pollenkörnern, die Herausbildung der Bipolarität und die sie bestimmenden Faktoren, die weite Differenzierung und Organogenese und schließlich die Befestigung der induzierten Pollenembryonen an der Antherenwand oder anderem Gewebe bei *Nicotiana tabacum* zu untersuchen, wurden die Antheren zusammen mit etwas agarisiertem Kulturmedium aus den Kulturgefäßen vorsichtig herausgenommen und in kleine, aber tiefe Petrischalen mit der gewünschten Fixierlösung (FAA oder FPA: Formol, 5 ml; Eisessig oder Propionsäure, 5 ml; 50%iges Äthanol, 90 ml) übertragen. (Das anhaftende Kulturmedium ist bei der Weiterverarbeitung der Pollen-Embryonen ein guter Schutz.) Die Petrischalen wurden dann mit Aluminiumfolie bedeckt und die Deckel wieder aufgesetzt, um eine Verdunstung der Fixierlösung zu verhindern. Nach 24 Stunden Fixierzeit wurde mit einer Pipette vorsichtig alle Fixierlösung abgesaugt, und die Antheren wurden, schnell 3—5mal mit 1%igem Celloidin (Pro-Celloidin, Carl Roth) in Äther-Äthanol (3 : 7!) mit Hilfe eines feinen Parfüm-Zerstäubers besprüht. Diese Celloidin-Lösung trocknet sehr schnell und bildet dabei über den offenen Antheren einen feinen, äußerst dünnen Film aus, der die Pollen-Embryonen in situ festhält. Das Material darf nach dem Besprühen jedoch nicht austrocknen, sondern wird nach Erhärten des Films nach Zugabe frischer Fixierlösung weitere 24 Stunden fixiert. Das anhaftende agarisierte Kulturmedium wurde vorsichtig entfernt und mit zweimal gewechseltem 50%igem Äthanol wurden die Antheren gewaschen. Über die aufsteigende Alkoholreihe und Xylol oder über verschiedene Stufen tertiären Butanols wurden die Objekte mit Paraffin durchtränkt, eingebettet, geschnitten und mit Safranin-Lichtgrün gefärbt. Einschluß der Schnitte wie üblich mit Canadabalsam oder einem Kunstharz. Mit diesem Verfahren war es möglich, die Ontogenie von haploiden Pollen-Embryonen vollständig zu untersuchen und festzustellen, daß Pollen-Embryonen, die an der Antherenwand haften oder mit ihr oder verbindendem Gewebe in Kontakt sind, zu vollständig lebensfähigen Embryonen heranreifen.

Bhandari, N. N.: Pollen embryos — celloidin-spray method for paraffin sectioning. Stain Technol. **51**, 245—246 (1976).

Alexander Pareto

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

Heinz Streble

Auge eines jungen Gepfriemten Zwergkalmars (Alloteuthis subulata)

Die Ähnlichkeit von Tintenfischaugen und Wirbeltieraugen ist zunächst so verblüffend, daß E. Geoffroy St. Hilaire in seiner Abstammungstheorie die Fische von den Tintenfischen ableitete (1828—1830). Der englische Anatom Mivart machte gegen die Abstammungslehre geltend, so ähnliche Organe könnten sich nicht ohne nähere Verwandtschaft zweier Tiergruppen unabhängig voneinander gebildet haben. Und Lamarck schreibt „Trotz der ahnsehnlichen Kluft, welche für uns zwischen den bekannten Mollusken und den Fischen vorhanden ist, sind nichtsdestoweniger aus den Mollusken durch Vermittlung derjenigen, die uns noch zu entdecken bleiben, die Fische entstanden".

Tintenfischaugen und Wirbeltieraugen sind ein bekanntes Beispiel für Konvergenz. Tintenfischaugen erreichen als „Instrumente", als Kamera-Augen, den Wirbeltierstandard. Sie haben Muskeln für Nah- und Fernsehen (Akkomodation), aktive Pupillenkontrolle (Iris), Hell-Dunkel-Adaptation durch Pigmentwanderungen, bei achtarmigen Tintenfischen Augenlider.

Entwicklungsgeschichtlich entstehen die Kameraaugen beider Tiergruppen auf recht unterschiedliche Weise; die einzelnen Teile sind in morphologischer Hinsicht nicht homolog. Unterschiede betreffen die Mechanismen der Akkomodation, die Verbindung der vorderen Augenkammer mit dem Meer (durch eine feine Öffnung in der Cornea kann Meerwasser in die Augenkammer gestrudelt werden), die fehlende Verbindung von Cornea und Sklera, die embryologische Herkunft der Linse und anderer Teile; die gravierendsten Unterschiede betreffen die Netzhaut.

Umschlagbild: Oben eine Cornea aus zwei Epithelschichten und Bindegewebe; darunter eine mit Meerwasser gefüllte vordere Augenkammer. Das innere Corneaepithel überzieht die Iris (innere Irisränder schwarz), das Epithel läuft weiter durch den obersten Teil der Linse. Das Epithel eines während der Organogenese abge-

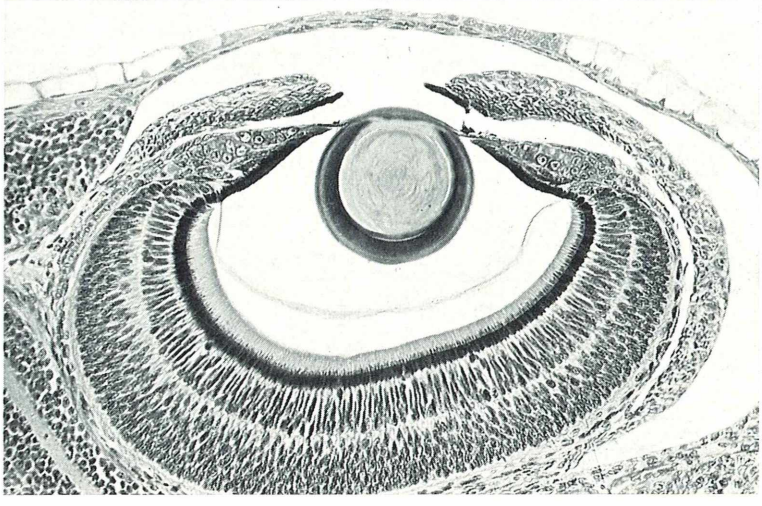


Bild: Auge eines jungen Gepfriemten Zwergkalmars *(Alloteuthis subulata)*.

schnürten Bläschens bildet dreierlei: Hauptmasse der Linse (Linsenfasern rot und blau), Innenschicht des Ciliarkörpers (schwarz; Epithel zwischen Glaskörper und großkerniger Akkomodationsmuskulatur) und Retina.

Anders als die Retina der Wirbeltiere (Stichworte: Rezeptorpole der Stäbchen und Zapfen sind hochspezialisierte Cilien und dem einfallenden Licht abgewandt) ist die Netzhaut der Tintenfische aufgebaut. Beide Komponenten der Retina, Sehzellen und Stützzellen enthalten in Teilbereichen Pigmente. Die Stützzellen beginnen am Glaskörper als blaue Stiftchen, enthalten dann Pigmente, ihre Zellkerne und die Hauptmasse ihrer Zelleiber liegen — im Bild — 10 mm außerhalb des — im Bild — 3 mm breiten Pigmentstreifens. Die blaue Schicht um den Glaskörper und der Pigmentstreifen umfassen die dem einfallenden Licht zugewandten Rezeptorpole der Sehzellen; Rezeptorpole aus einer Achse mit Mikrovilli (Rhabdom); fast alle Pigmente sind im Pigmentstreifen konzentriert (Dunkel-Adaptation der Retina). Die Mittelstücke der Sehzellen durchziehen als dunkle Säulen die Schicht der Stützzellenleiber; Perikaryen und Kerne der Sehzellen bilden eine — im Bild — 20 bis 25 mm breite Zone, zum Gehirn führende Fasern der Sehzellen einen hellen, schmalen Saum. Die Zahl der Sehzellen pro Quadratmillimeter steigt am Streifen schärfsten Sehens auf 100 000 an — links im Bild.

Aufnahme: Johannes Lieder.

Verfasser: Dr. Heinz Streble, Zool. Institut der Universität Hohenheim, 7000 Stuttgart 70

Bücherschau

Klein, K.: Praktische Biochemie. Biologische Arbeitsbücher 16. 159 Seiten, 31 Schwarz-Weiß-Aufnahmen, Quelle & Meyer Verlag, Heidelberg 1975, DM 17,—.

In der praxisorientierten Reihe „Biologische Arbeitsbücher" liegt nunmehr auch eine Neuerscheinung vor, in der wichtige biochemische Arbeitsmethoden vorgestellt und für die praktische Anwendung im experimentellen biologischen Unterricht zugeschnitten werden. Die komplexe Fülle biochemischen Wissensstoffes erfordert eine auswählende Einengung auf grundlegende Fragen und Prozesse. Die Großgliederung des Buches in Themenbereiche wie Aminosäuren/Proteine, Enzyme, Kohlenhydrate, Nukleinsäuren, Lipide und Vitamine wird dieser Notwendigkeit in überzeugender Weise gerecht. Weitere Themenkreise wie Photosynthese, Dissimilation, Fettsäurecyclus oder Gärung erweitern den stofflichen Rahmen eigentlicher Biochemie um einige stoffwechselphysiologische Aspekte. Hierin liegt vielleicht die einzige Schwäche des Buches. Zum Thema Photosynthese wurde lediglich ein Versuch zur Sauerstoffentwicklung ausgewählt. Eine vertiefende Behandlung etwa auch der beteiligten Pigmente oder auch einige Versuche zur Assimilatproduktion wären möglich und dem biochemischen Ansatz adäquater gewesen. Das Buch schließt mit einem Überblick über Laborausrüstung, Arbeitsmittel, Maßeinheiten, Lösungen etc. und einem Glossar häufig verwendeter Fachausdrücke. Den einzelnen Themenbereichen und Versuchen ist jeweils eine komprimierte und für das Vorverständnis des behandelten Zusammenhangs zweckmäßige theoretische Einführung vorangestellt. Diese Erläuterungen sind ebenso wie die einzelnen beschriebenen Nachweisverfahren durch klare Formelbilder und Reaktionsschemata sinnvoll ergänzt. Die teils einfachen, teils aber auch recht anspruchsvollen Versuche (im Abschnitt „Proteine" etwa die Biuret-Reaktion und die Molekulargewichtsbestimmung durch Gel-Filtration) werden zuverlässig beschrieben und sind zumeist ohne allzugroßen apparativen Aufwand durchführbar. Jeder Einzelversuch ist didaktisch geschickt aufbereitet und umfaßt die Skizzierung von erforderlichem Untersuchungsmaterial, Methoden und die Darstellung der jeweiligen Arbeitsgänge. Vielfach werden Anregungen für weitere Aufgaben und zur Auswertung der Versuchsergebnisse angefügt. Bei einigen Versuchen würde man sich vielleicht die Angabe einer Bezugsquelle etwa für weniger gebräuchliche Reagentien oder Untersuchungsmaterialien wünschen. Jede Themengruppe wird mit einer Zusammenstellung relevanter Artikel aus leicht beschaffbaren Zeitschriften abgeschlossen.

Die besonderen Zielgruppen des vorliegenden Buches sind die Teilnehmer an Leistungskursen der gymnasialen Oberstufe, Auszubildende pharmazeutischer bzw. biologisch-technischer Fachrichtung oder auch Studenten in den Grundpraktika entsprechender Studiengänge. Es eignet sich gleichermaßen gut für die Planung und Durchführung biochemisch orientierter Kurse wie auch als Begleitlektüre oder zum Selbststudium für Interessenten, die sich das grundlegende methodische Repertoire biochemischen Arbeitens aneignen wollen. Da der Zugang zu biochemischen Fragen und deren Umsetzung in die Unterrichtspraxis wesentlich erleichtert wird, darf man dem Buch eine weite Verbreitung bei Lehrenden und Lernenden wünschen.

Bruno P. Kremer

Hayat, M. A.: Principles and Techniques of Electron Microscopy. Vol. 6. (Grundlagen und Techniken der Elektronenmikroskopie. Biologische Anwendungen.) Van Nostrand Reinhold Company LTD London-New York £ 19.25

Band 6 dieser wichtigen Reihe behandelt folgende Themen: 1. Hochspannungs-Elektronenmikroskopie. 2. Die Grundlagen der Hochauflösungs-Elektronenmikroskopie. 3. Kontrast und Bildentstehung bei biologischen Objekten. 4. Die Analyse der biologischen Struktur mit Hilfe der Röntgen-Diffraktionstechnik. 5. Neigungsversuche im Elektronenmikroskop. 6. Elektronenautoradiographie freiliegender Objekte. 7. Kryo-Ultramikrotomie. 8. Das Elektroneninterferenzmikroskop. Den Abschnitten sind ausführliche Schriftenverzeichnisse beigegeben. Die zahlreichen Graphiken, Tabellen und Halbtonabbildungen tragen wesentlich zum Verständnis bei.

Gerhard Jurzitza

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

E 20877 E

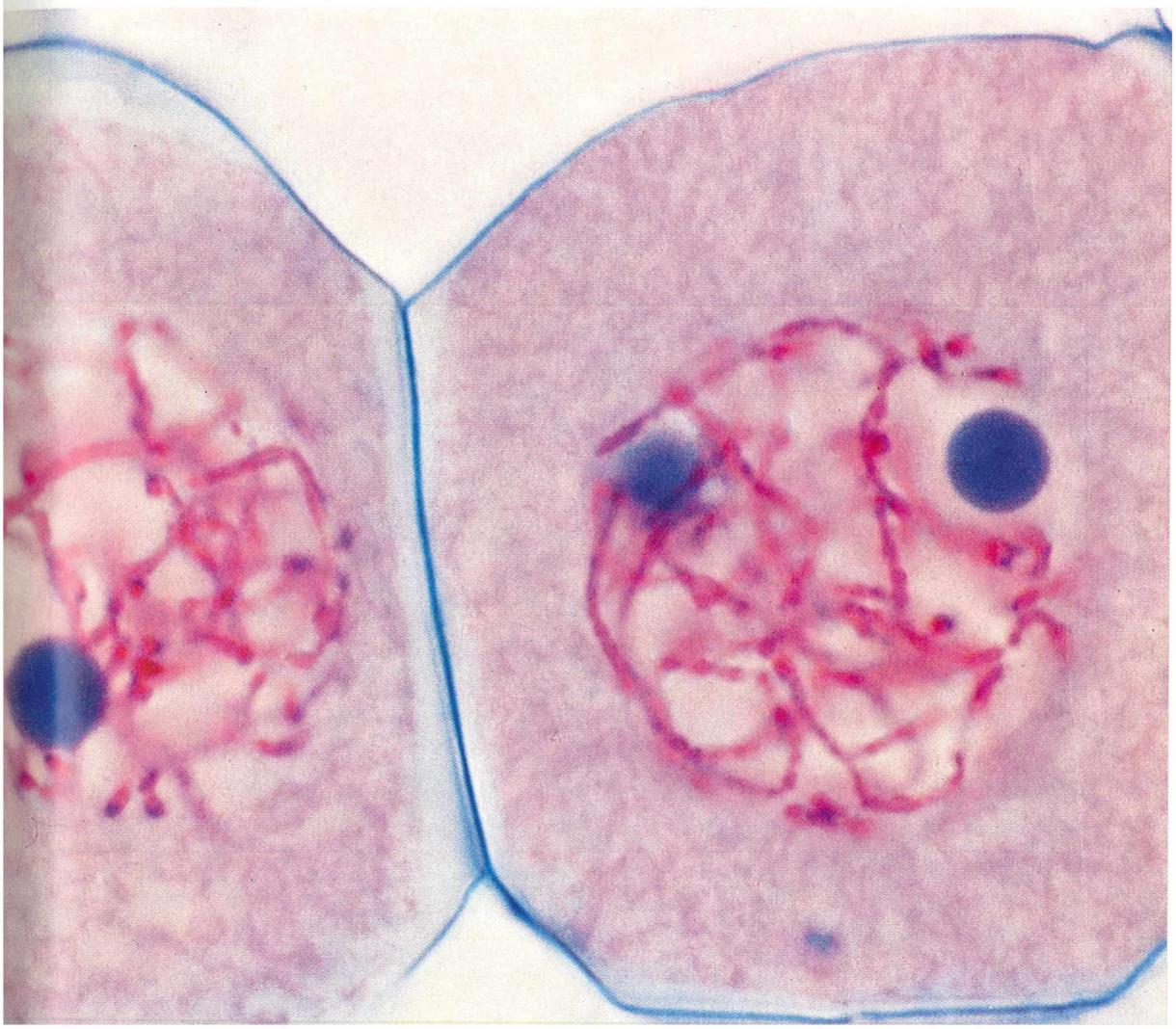
MIKROKOSMOS

66. Jahrgang · Heft 3/März 1977

Eine Zeitschrift aus dem Kosmos-Verlag

ISSN 0026-3680 66. 1977, Nr. 3, S. 65–96

Pollenmutterzellen, Reifeteilung



© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de
Kurt-Rainer Roeser

Die Luftwurzel der Orchidee Dendrobium

In der Regel sind Wurzeln unterirdisch wachsende Pflanzenteile, die entsprechend dieser Lage spezifische Anpassungen und spezifische Aufgaben übernehmen. Vorwiegend dienen sie der Verankerung der Pflanze im und dem Entzug von Nährstoffen und Wasser aus dem Boden, häufig auch der Speicherung von Reservestoffen. Durchaus nicht selten finden wir auch völlig oberirdisch wachsende Wurzeln, vor allem bei Epiphyten (das sind Pflanzen, die auf anderen Pflanzen — z. B. tropischen Bäumen —, gelegentlich auch auf anorganischen Unterlagen wachsen). Solche Wurzeln bezeichnet man als Luftwurzeln. In vielen Fällen haben die Luftwurzeln eine den Erdwurzeln analoge Bedeutung. Sie dienen zum Teil der Verankerung (z. B. Wurzelkletterer), zum Teil der Wasseraufnahme (vor allem bei Epiphyten). Die Wasseraufnahme erfordert spezifische Anpassungen, da im Gegensatz zu Erdwurzeln die Umgebung den Luftwurzeln nur zeitlich begrenzt, z. B. bei Regenfällen, Wasser zur Verfügung stellt. Das Wasser muß daher schnell aufgenommen und, da es nicht diskontinuierlich verbraucht werden kann, auch gespeichert werden.

Eine der möglichen Anpassungen an diese Bedingungen stellt die Ausbildung eines Velamen radicum bei epiphytisch wachsenden Orchideen und Araceen dar. Es handelt sich dabei um eine spezielle Ausbildung der Rhizodermis (primäres Abschlußgewebe der Wurzel). Die sonst bei Pflanzen meist nur einschichtige Rhizodermis ist in diesen Fällen durch perikline Teilungen (Teilungen, bei denen die Fläche der neu eingezogenen Zellwand tangential zur Oberfläche verläuft) des Protoderms als multiple Rhizodermis ausgebildet (bei dem Protoderm handelt es sich — grob definiert — um äußere Zellenlagen an Sproß- und Wurzelspitze, die dem zukünftigen Rindengewebe aufliegen). Die Zellwände des Velamen radicum weisen große Poren und schrauben-, netzförmige oder getüpfelte Wandverdikkungen auf. Der Zellinhalt stirbt frühzeitig ab. Regenwasser wird daher von diesen Zellen wie ein Schwamm aufgesaugt und gespeichert. Im trockenen Zustand erscheinen mit dem Velamen radicum ausgestattete Luftwurzeln wegen Totalreflexion des Lichtes an der in den Zellen eingeschlossenen Luft (Phasengrenze Zellwand — Luft) grau. Bei Anfeuchtung mit Wasser werden sie nach einiger Zeit grün. Luftwurzeln beteiligen sich nämlich häufig an der Assimilation. Die Zellen des Rindengewebes enthalten Chloroplasten. Bei Wegfall der Totalreflexion wird vorwiegend das nicht vom Chlorophyll absorbierte Licht nach außen gestreut (genauer reflektiert, gebeugt etc.).

Eigentlich muß es überraschen, daß das Velamen radicum so gut Wasser aufnimmt. Es läßt sich nämlich nicht ohne weiteres einsehen, daß das Wasser die im Velamen radicum enthaltene Luft verdrängen kann. Jeder, der einmal pflanzliches oder tierisches Gewebe in Paraffin eingebettet hat, weiß, wie schwierig es ist, Luft aus Hohlräumen zu verdrängen. Auch ein Lösen der Luft im Wasser kann wegen der Geschwindigkeit des Vorganges nicht angenommen werden. Man muß daher vermuten, daß das Wasser an einigen Stellen schnell bis ins Rindengewebe vordringen und von dort aus aufgrund günstiger Oberflächenspannungskräfte zwischen Zellwand und Wasser (totale Benetzung) die Luft nach außen verdrängen kann. Der energetische Verlust an Oberflächenenergie würde diesen Prozeß ohne weiteres ermöglichen. Dagegen ist ein Auspressen der Luft durch eine kontinuierlich von außen nach innen vorschreitende Wasserfront wegen des hohen Drucks der eingeschlossenen Luft und der für dieses Zusammenpressen erforderlichen positiven Arbeit energetisch unwahrscheinlich. Versuche mit Wasser, in dem radioaktiver Phosphor gelöst war, stellen sogar die Ansicht, daß das Velamen radicum als Absorptionsgewebe zu deuten sei, überhaupt in Zweifel. Es zeigte sich nämlich, daß das gelöste Isotop nicht in die an das Velamen

Das Inhaltsverzeichnis finden Sie in diesem Heft auf Seite 96.

radicum nach innen angrenzende Rinde übertritt. Wenn wir diese Versuchsergebnisse als richtig ansehen und trotzdem an der Auffassung festhalten wollen, daß das Velamen radicum der Wasserversorgung diene, müssen wir annehmen, daß an der Gewebegrenze Rhizodermis und Rinde eine selektiv durchlässige Barriere besteht, die den Wasserdurchtritt gestattet, jedoch den Phosphateintritt verhindert. Es dürfte jedoch an dieser Grenze kein reiner Porenfiltermechanismus vorliegen. Vielmehr ist anzunehmen, daß lebende Zellen unter Arbeitsaufwand (z. B. Ionenpumpe) die Selektion bewirken. Solche Mechanismen werden allgemein bei der Wasseraufnahme durch Wurzeln diskutiert; vielleicht stellen gerade Luftwurzeln besonders günstige Grenzfälle für physiologische Untersuchungen zu dieser Frage dar. Wenn diese Überlegungen zutreffen sollten, müßte mikroskopisch-anatomisch eine solche Phasengrenze feststellbar sein. Wenden wir uns daher unserem Objekt, der Luftwurzel einer epiphytisch wachsenden Orchideenart (*Dendrobium* spec.), zu.

Handschnitte gelingen bei Luftwurzeln meist ganz ausgezeichnet, sie sollten jedoch, um z. B. das Phloem im Zentralzylinder deutlich herauszuarbeiten, gefärbt und in Kunstharz eingeschlossen werden. Mikrotomschnitte bringen kaum Vorteile; sie sind schlechter färbbar, bei visueller Betrachtung weniger eindrucksvoll, und vor allem das Rindengewebe zeigt bei der Paraffineinbettung starke Schrumpfungen. Vorteile zeigen sich nur beim Studium feinerer Zellwandstrukturen und bei der Schwarzweißmikrofotografie, da bei letzterer der grafische Kontrast ohne störende Bilder von Strukturen außerhalb der Schärfenebene herausgearbeitet werden muß. Dementsprechend sind auch in diesem Aufsatz Fotos von Mikrotomschnitten gezeigt. Sie können jedoch nicht annähernd die visuelle Wirkung eines gutgefärbten Handschnittes wiedergeben. Schon alleine der ästhetische Gewinn rechtfertigt die Eigenanfertigung solcher Handschnitte. Das Objekt sei daher jedem, der sich auf das kontrastreiche Färben verholzter und unverholzter Gewebe versteht, nahegelegt.

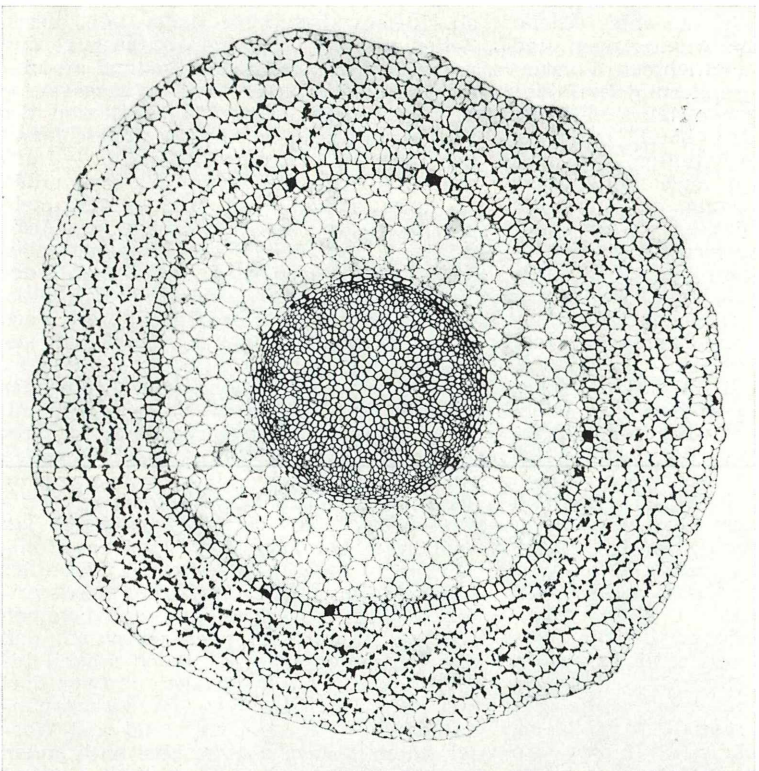


Bild 1: *Dendrobium* spec. Luftwurzel quer, Übersichtsaufnahme.

Übersichtsaufnahme und Detailaufnahme zeigen die Struktur des Velamen radicum. Im Querschnitt zeigen die inneren Zellen partielle Wandverdickungen, die äußeren Zellen weniger deutlich fibrilläre Ablagerungen. Dem Velamen radicum schließt sich nach innen eine einschichtige Exodermis an, die wir als die von uns bereits aufgrund theoretischer Überlegungen postulierte Stoffdurchtrittsbarriere annehmen müssen.

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

Die Exodermis stellt die äußerste Schicht des Rindengewebes dar. Wir erkennen, daß die Exodermis größtenteils aus stark lignifizierten Zellen besteht. Es lassen sich in dem hier vorliegenden Altersstadium Plasmareste und anscheinend funktionslose Zellkerne nachweisen. Gelegentlich treten aber auch Zellen mit nicht verdickter Wand auf, die als Durchlaßzellen bezeichnet werden und dem Stoffdurchtritt dienen sollen. Die Zellen zeigen auffallend große Zellkerne, große Vakuolen und einen alle Zellwände bedeckenden Plasmamantel. Diese Zellen könnten durchaus den angenommenen selektiven Stoffdurchtrittsstellen entsprechen. Nach innen schließt sich der Exodermis eine Schicht kleinzelliger plasma- und plastidenreicher Zellen an. Dieser Übergangsregion, der wohl wesentliche Funktionen bei der Differenzierung der Exodermiszellen und beim selektiven Stoffdurchtritt zukommen dürften, schließt sich nach innen ein interzellularenreiches Rindengewebe mit großen Zellen an. Gelegentlich treten verholzte Zellen und Zellen mit Kalziumoxalatraphidenbündeln auf (solche abweichend gebaute Zellen in einem Gewebe werden als Idioblasten bezeichnet). Diesen Teil der Rinde nennt man Innenrinde. Die Zellen der Innenrinde zeigen in vielen Fällen eine radiale Anordnung. Der Wasserdurchtritt durch die Innenrinde dürfte als reine Strömung unter dem Einfluß der vom Zentralzylinder und von der Exodermis herrührenden Kräfte erfolgen.

Nach innen wird die Rinde durch eine besondere Zellschicht, die Endodermis, abgegrenzt. Allgemein kann die Endodermis in drei Zuständen auftreten: einem primären Zustand mit einem längs der radialen Wände aufgelagerten, aus Suberin und anderen Stoffen bestehenden Streifen, der stets viel schmaler als die betroffenen Wände ist und nach seinem Entdecker als Casparystreifen bezeichnet wird; einem sekundären Zustand, bei dem eine Suberinlamelle die ganze Innenseite der Zellwand bedeckt; und einem tertiären Zustand, bei dem eine dicke, meist lignifizierte Zelluloseschicht aufgelagert wird, die oft nur die innere tangentiale Wand, in anderen Fällen zusätzlich die radialen Wände und in manchen Fällen schließlich alle Wände erfaßt. Die Mehrzahl der Endodermiszellen bei unserem Objekt befindet sich in tertiärem Zustand. Alle Wände sind lignifiziert. Der Zellinhalt ist stark abgebaut. Ein Stoffdurchtritt erscheint unwahrscheinlich. Daneben existieren Zellen, die sich in primärem Endodermiszustand befinden und bei starker Vergrößerung noch den Casparystreifen erkennen lassen. Diese Zellen werden als Durchlaßzellen (der Endodermis) bezeichnet. Sie befinden sich meist in Zweier- oder Dreiergruppen über den Po-

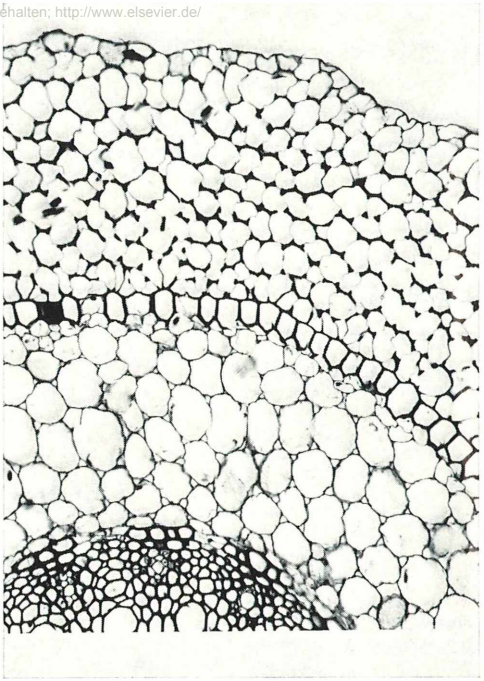
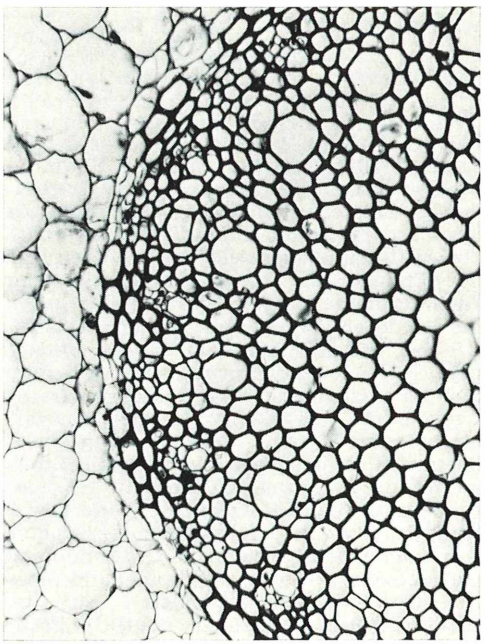


Bild 3: *Dendrobium* spec. Luftwurzel quer. Detail Velamen radicum und Rinde. Oben Velamen radicum, anschließend Exodermis und Rinde, unten Zentralzylinder.

Bild 3. Zentralzylinder von *Dendrobium*, von Endodermis umgeben.



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

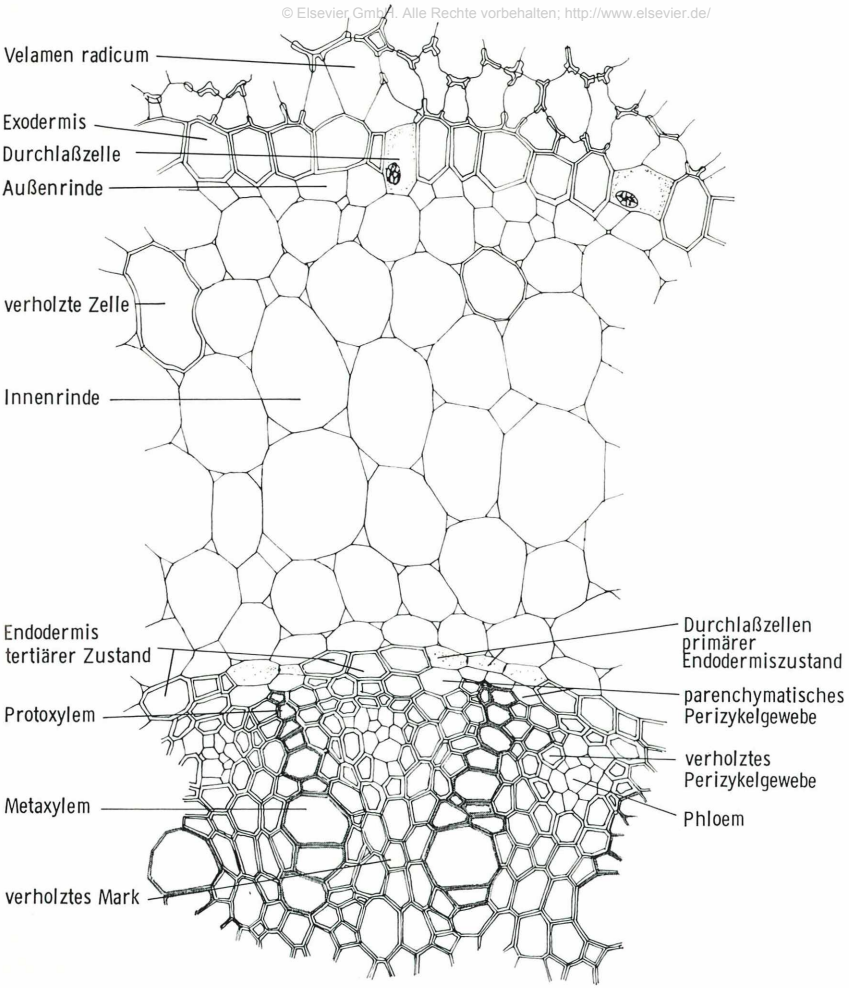


Bild 4: *Dendrobium* spec. Detailzeichnung. Die Zellwände des Xylems wurden zur Unterscheidung von Mark und Perizykel grau angelegt.

len des Xylems. Alles Wasser, das in den Zentralzylinder gelangt, muß das Zellinnere, das plasmareich ist und aktiv erscheinende Zellkerne aufweist, passieren, da der Casparystreifen einen Transport durch den Mittellamellenbereich unterbinden soll. Die Endodermis grenzt als geschlossener Zylindermantel den Zentralzylinder gegen die Rinde ab. Der Zentralzylinder weist — wie bei der Mehrzahl der Monokotyledonen — kein sekundäres Dickenwachstum auf. Er entspricht dem Typus des radiaren Leitbündels, bei dem wie die Speichen eines Rades Xylem- (Wasserleitungsgewebe) und Phloemgewebe (in dem die Stoffwechselprodukte geleitet werden) alternierend aufeinander folgen. Die Differenzierung des Xylems erfolgt dabei zentripetal, d. h. zuerst differenzieren sich die äußeren Gewebeteile (Protoxylem), später die inneren Gewebeteile (Metaxylem). Auf der Übersichtsaufnahme sind deutlich große Tracheen (Gefäße) des Metaxylems in kreisförmiger Anordnung einige Zellschichten unterhalb der Endodermis zu erkennen. Jede Trachee gehört zu einem Xylembündel. Da aber das Markgewebe sekundär verholzt ist, ist die Abgrenzung der einzelnen Bündel nicht mehr zu erkennen. Die Verholzung hat bei unserem Objekt auch Teile des Perizykels erfaßt. Bei dem Perizykel handelt es sich um Gewebe, das unterhalb der Endodermis an die Gefäßbündel grenzt. Zwischen den Durchlaßzellen der Endodermis und den aus Protoxyleme bestehenden Polen des Xylems befinden sich unverholzte Perizykelzellen, die den Wasserdurchtritt in das Xylem ermöglichen. Alle anderen Zellen des Perizykels sind sekundär verholzt. Das zwi-

schen den einzelnen Xylemstrahlen liegende Phloem ist daher gänzlich von verholztem Perizykel- und Markgewebe umgeben. Einzelne lebende, jedoch verholzte Perizykelzellen ermöglichen wohl den Stoffdurchtritt. Entsprechend der vermuteten Hauptaufgabe der Luftwurzeln erscheint der Anteil des Phloemgewebes dem Xylem gegenüber verhältnismäßig bescheiden.

Zusammenfassung: Es wird der mikroskopisch nachweisbare Querschnittaufbau der Luftwurzel einer Orchidee mit Velamen radicum dargestellt. Der mikroskopische Aufbau weist darauf hin, daß das Velamen radicum ein Absorptionsgewebe darstellt und daß zwei Membrantransport erfordernde Stoffbarrieren beim Transport des Wassers zum Zentralzylinder passiert werden müssen.

Verfasser: Kurt-Rainer Roeser, Luisenstr. 20 a, 5159 Sindorf.

Josef Jung
Franz Bukatsch

Einheimische Hölzer: Mikroskopische Untersuchung

1. Nadelhölzer: Douglasie, Fichte und Tanne

Holz gehört zu den edelsten und heute besonders wertvollen Naturstoffen. Es hat für den technischen Gebrauch große Bedeutung. Hier gibt es besonders bei tropischen Hölzern Extreme; so z. B. das weiche korkleichte Balsa-Holz (spezifisches Gewicht etwa 0,2), das heute zum Teil noch im Flugzeug- und Bootsbau verwendet wird. Auf der anderen Seite gibt es das sehr harte, zähe und schwere Pock-Holz, das vorwiegend für Kegelkugeln, Holzhämmer u. a. verwendet wird. Sein spezifisches Gewicht beträgt 1,2—1,4. Auch unsere heimischen Hölzer werden nach ihren Eigenschaften ausgewählt und gezielt verwendet; so ist Eschenholz für zähe Werkzeugschäfte, das harzige Föhren- und Lärchenholz für Bottiche und Fässer geeignet. Eichenholz verwendet man wegen seiner hohen Resistenz gegen Fäulnis durch einen hohen Gerbstoffgehalt für den Schiffbau und für Fässer, in denen es u. a. bestimmten Branntweinsorten (Cognac) und hochgradigen Destillaten (Whisky) den typischen Geschmack verleiht.

Auch im „Kunststoffzeitalter" bleibt Holz für manche Zwecke unersetzlich. Denken wir an edles Mobiliar oder an Resonanzkörper von Saiteninstrumenten; selbst die Gehäuse akustisch-elektronischer Geräte werden aus Gründen der Klangqualität vorwiegend aus Edelhölzern gefertigt.

Der Grund dafür liegt in der Feinstruktur des Werkstoffes Holz. Es ist zwar (wie Kunststoff) eine tote Masse, aber nicht wie dieser amorph, sondern, einst durch Leben gebildet, aus unzähligen winzigen Kammern, Fasern, Kanälen und Poren kunstvoll und für jede Holzart charakteristisch aufgebaut.

Diesen Eigenschaften nachzugehen, ist eine reizvolle Aufgabe für den mikroskopisch Interessierten, dem in zwangloser Folge in Einzeldarstellungen an Hand von Quer-, Radial- und Tangentialschnitten unserer Laub- und Nadelholzarten markante Unterscheidungsmerkmale der Hölzer vorgestellt werden sollen.

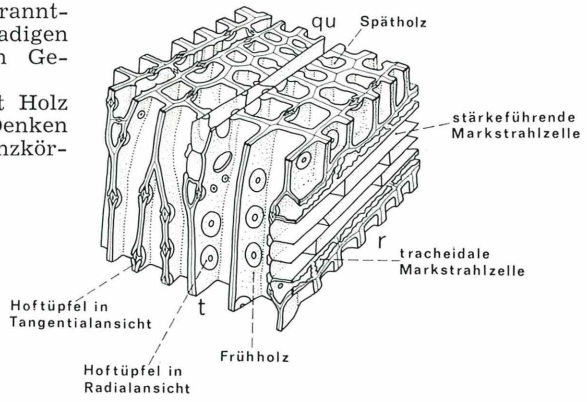


Bild 1: Schematische räumliche Darstellung von Nadelholz. Die Elemente des Nadelholzes sind in den drei Schnittrichtungen (*qu* Querschnitt, *r* radial, *t* tangential) wiedergegeben (nach Mägdefrau, verändert). Zeichnung H. Thiele

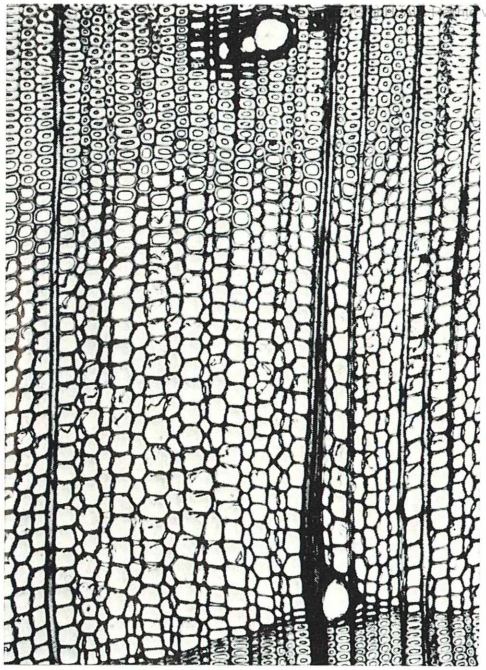
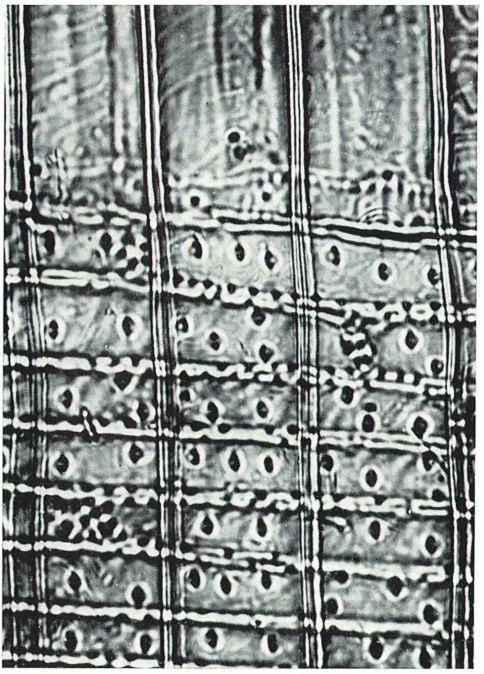


Bild 2: Scharf abgesetztes Früh- und Spätholz bei Douglasie mit einzelnen Harzgängen, die meist im Spätholz angelegt sind.

Bild 3: Radialschnitt mit Schraubentracheiden.



Diese beruhen bei den zunächst zu besprechenden Nadelholzarten auf wenigen Holz-Bauelementen, auf Tracheiden, Markstrahlen, Parenchym und Harzgängen.

Die Hauptmasse des Nadelholzes bilden die Fasern oder Tracheiden. Es sind 0,5 bis 5 mm lange, an den Enden zugespitzte Zellen. Entsprechend ihrer Entstehung aus der Teilungstätigkeit des Kambiums sind sie in radialen Reihen angeordnet. Ihre Wand dicke wechselt vom Früh- zum Spätholz; das weitlumige Frühholz dient der Wasserleitung, das dickwandige Spätholz der Festigung des Stammes. In ihren radialen Wänden zeigen die Tracheiden große runde Hoftüpfel (Tüpfeltracheiden), die in Radialschnitten in Aufsicht, in Tangentialschnitten im Querschnitt zu sehen sind (Bild 1). Sie dienen als dünne Wandstellen dem zellulären Stoffaustausch. Schraubig versteifte Tracheiden (Schraubentracheiden) haben Festigungsfunktion. Sie finden sich im Holz der Eibe und der Douglasie.

Die Markstrahlen verlaufen zwischen den Tracheiden in radialer Richtung als zahlreiche, meist eine Zellschicht breite Bänder, die der Leitung und Speicherung der Kohlenhydrate dienen. Sie führen die abwärts strömenden Assimilate in radialer Richtung dem Holz zu und leiten umgekehrt Wasser aus dem Holzkörper nach außen. Dabei können die Markstrahlen, wie bei Eibe, Wacholder und Tanne, aus Markstrahlparenchymzellen bestehen; außer diesen haben die übrigen Nadelholzgattungen eine oder mehrere Reihen Markstrahltracheiden, deren Wände zackig verdickt (bei Gemeiner Kiefer) oder glatt (bei Strobe) sein können.

Das aus dünnwandigen Zellen bestehende Holzparenchym umgibt bei manchen Nadelhölzern nur die Harzgänge, bei anderen ist es auf einfache Zellreihen zwischen den Tracheiden beschränkt. Auch Holzparenchymzellen haben Speicherungsfunktion.

Die Harzgänge durchziehen das Holz längs als weite Röhren, die von Harz ausscheidenden Epithelzellen ausgekleidet sind. Sie sind mit Gängen, die in breiten Markstrahlen radial verlaufen, netzartig verbunden. So können bei Stammverletzung oft große Harzmengen ausgeschieden werden. Sie haben eine Schutzfunktion gegen Wundinfektionen und dienen gleichzeitig dem Wundverschluß. Wegen der einfachen Unterscheidung wählen wir als ersten Beitrag die drei systematisch wegen ihrer Nadelbildung an Langtrieben nahe verwandten Nadelhölzer Douglasie, Fichte und Tanne.

Douglasienholz hat einen breitringigen Aufbau mit lockerem Früh- und scharfabgesetztem Spätholz (Bild 2). Es sind deutlich unterscheidbare Schraubentracheiden vorhanden (Bilder 3 und 4), das Holzparenchym umgibt nur die Harzgänge und fin-

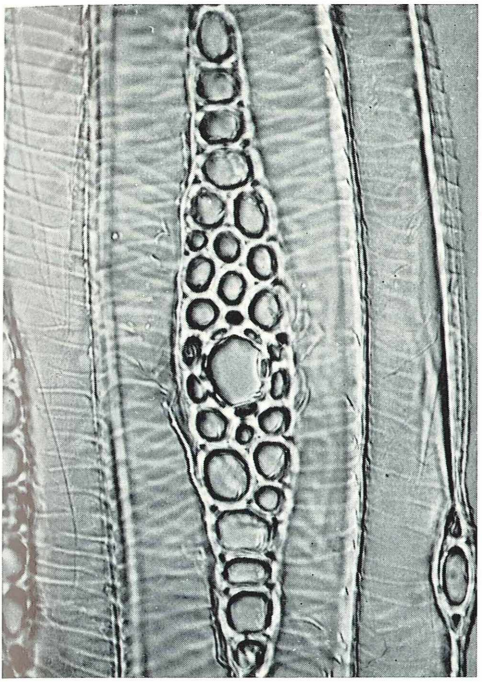


Bild 4: Tangentiale Schnittrichtung durch einen Markstrahl, in dessen Mitte ein Harzgang durchschnitten ist. Deutlich sichtbare Schraubentracheiden.

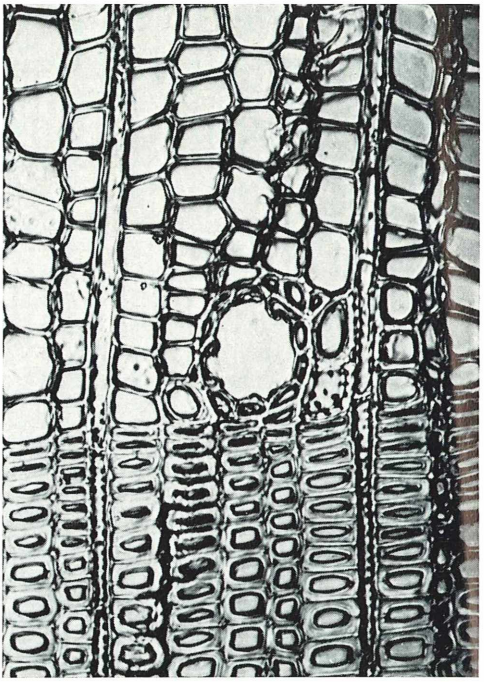


Bild 5: Querschnitt durch Fichtenholz mit Harzgang.

Bild 6: Tangentialschnitt durch Fichtenholz mit Markstrahl und Harzgang.

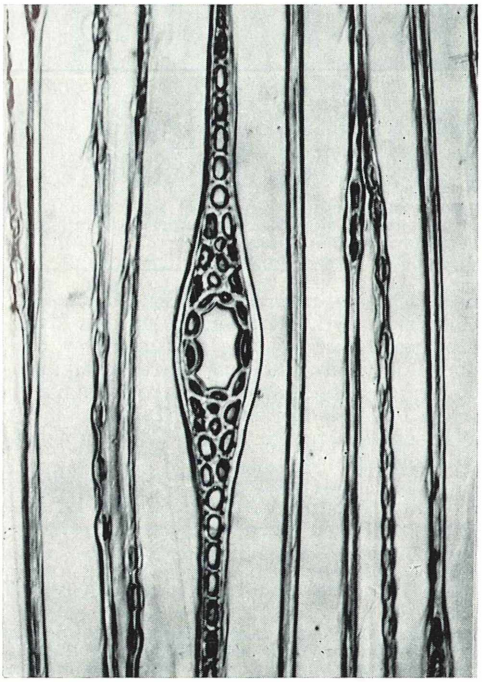
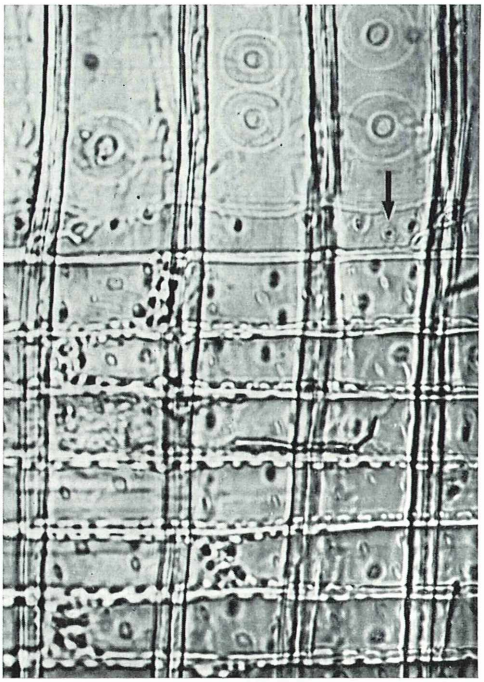


Bild 7: In Radialschnittdarstellung ist sichtbar, daß bei Fichte Hoftüpfel nur in Einer- nie in Doppelreihen vorkommen.



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

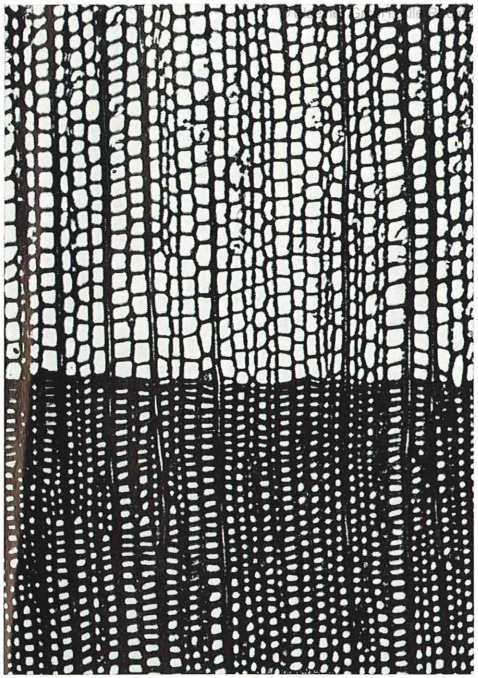
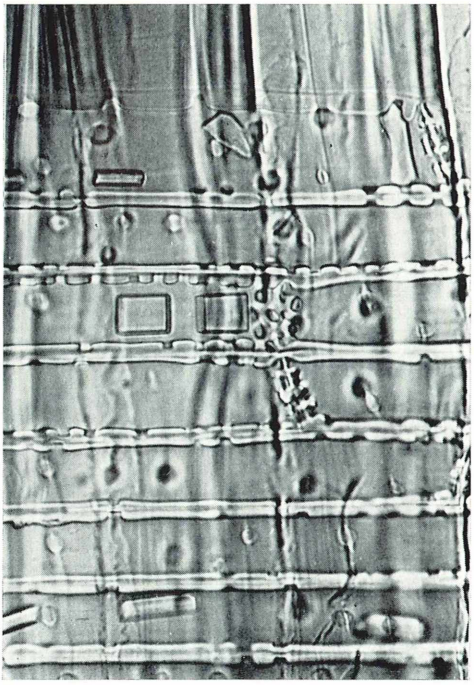


Bild 8: Querschnitt durch Tannenholz; es zeigt keine Harzgänge.

Bild 9: Radialschnitt durch Tannenholz; in den Wänden finden sich häufig Calciumoxalatkristalle.



det sich spärlich im Spätholz an der Jahrringgrenze. Harzgänge sind im Spätholz und spärlich am Ende des Frühholzes einzeln oder zu Paaren sichtbar (Bild 2). Die Markstrahlen sind einreihig gebaut und oft mit Harzgängen versehen (Bild 4).

Ohne Schraubentracheiden dagegen ist das Fichtenholz gebaut, Holzparenchym fehlt völlig, die Markstrahlen sind ein- oder mehrreihig und zeigen Harzgänge (Bilder 5 und 6), während Hoftüpfel nur in Einerreihen und nie in Doppelreihen vorkommen (Bild 7).

Beim Tannenholz finden sich weder Schraubentracheiden noch Harzgänge (Bild 8). Das Holzparenchym ist spärlich an der Jahrringgrenze verteilt, die Markstrahlen sind einreihig und nur aus Markstrahlparenchym gebildet. Diese sind meistens zwischen 15 bis 40 Zellen hoch (Bild 10), in den Wänden finden sich häufig Calciumoxalatkristalle (Bild 9).

Fichten- und Tannenholz zeigen keine Kernholzfärbung, Douglasienholz ist mit einem rötlichen Kern gezeichnet.

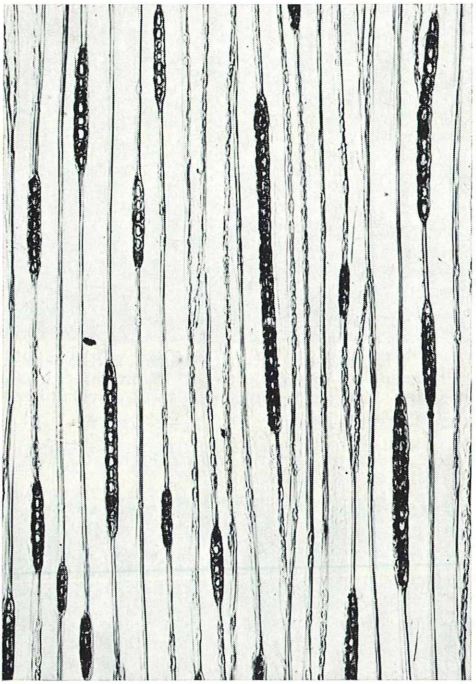


Bild 10: Tannenholz tangential geschnitten; einreihige, nur aus Markstrahlparenchym gebildete Markstrahlen.

Verfasser: Prof. Dr. Josef Jung und Prof. Dr. Franz Bukatsch, Universität Augsburg, Eichleitnerstr. 30, 8900 Augsburg.

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

Wolfgang Dawid

Fruchtkörperbildende Myxobakterien

IV. Die Melittangium-Arten: M. lichenicola, M. boletus, M. alboraceum

Dieser Beitrag befaßt sich mit fruktifizierenden Myxobakterien, deren Myxosporen wie bei *Cystobacter* (Dawid 1976 c) ebenfalls in einem umwandeten Sporangium vereint sind, hier aber nicht in Schleim eingebettet dem Substrat direkt aufliegen, sondern einzeln auf einem unverzweigten Stielchen sitzen. McCurdy faßte 1971 diese Mikroorganismen mit den sehr schönen Fruchtkörperchen in der Gattung *Melittangium* zusammen. Bisher sind drei Arten entdeckt worden: *Melittangium lichenicola* von Thaxter im Jahre 1892 auf Flechten bei New Haven (U.S.A.), *Melittangium boletus* von Jahn 1924 auf Wildmist aus der Nähe Berlins, und als dritte Art *Melittangium alboraceum* im Jahre 1959 von Peterson auf Rinde von Ulmen im Gebiet von Missouri (USA).

Anreicherung der Melittangium-Arten

Nach den Angaben in der Literatur wurden diese Myxobakterien auf sich zersetzenden Pflanzenteilen wie Flechten (Thaxter 1892) gefunden, auf gesammeltem Wildmist in feuchten Kammern (Jahn 1924), auf Mistködern in verschiedenen Bodenproben (Krzemieniewska u. Krzemieniewski 1926), auf der Rinde lebender Bäume in feuchten Kammern (Peterson 1959, McCurdy 1969), auf Agarplatten mit Filterpapier (McCurdy 1969) oder mit Hefen als Futterorganismen (Rückert 1970).
In den eigenen Untersuchungen wurden *Melittangium lichenicola* und *Melittangium boletus* fast ausschließlich auf faulenden Holzstücken gefunden, die im Siebengebirge bei Bonn gesammelt und in feuchten Kammern bei 30° C bebrütet worden sind. Die dritte Art, *M. alboraceum*, habe ich in meinen Kulturen bisher nicht beobachtet.
Melittangium bildet, wenn es in einer Holzprobe enthalten ist, nach etwa 7—10 Tagen die Fruchtkörperchen aus. Bei der Durchmusterung der feuchten Kammern unter der stereoskopischen Lupe (20- bis 50fach) erkennt man diese Myxobakterien an den sehr kleinen, orangerot aufleuchtenden zahlreichen Fruchtkörperchen, die in kleineren oder großen Gruppen zusammenstehen (Bild 1). Erst bei etwas stärkerer Vergrößerung erkennt man, daß die kuge-



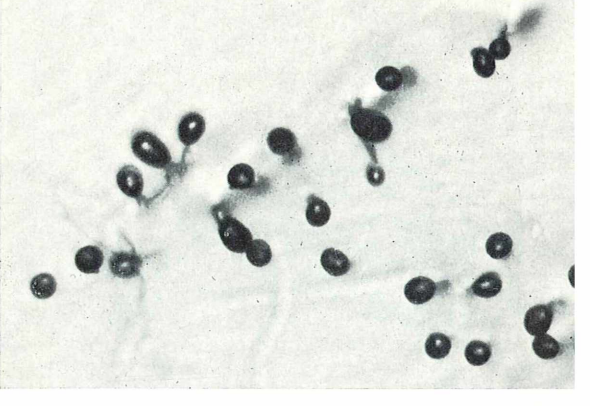


Bild 1: *Melittangium lichenicola.* Eine Gruppe von Fruchtkörpern auf Coli-Wasseragar. 10 Tage alte Kultur. Farbe der Sporangien: Orangerot. Auflicht, 60×.

Bild 2: *Melittangium lichenicola.* Die gleiche Gruppe von Fruchtkörpern im Durchlicht. Farbe: Leuchtendrot. 60×.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

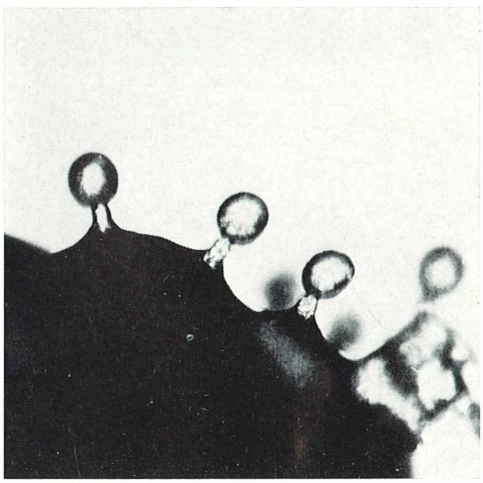


Bild 3: *Melittangium lichenicola.* Fruchtkörper am Rand eines Kaninchenmistbrockens, von der Seite her gesehen. Sporangien: orangerot; Stiel: weiß. Mistkultur, 14 Tage alt. 150×.

ligen Sporangien tatsächlich gestielt sind. *Melittangium* ist ein relativ seltenes Myxobakterium.

Isolierung und Kultur

Die gefundenen Organismen isoliert man durch Überimpfen einiger Sporangienköpfchen auf Coli-Wasseragarplatten (Dawid 1976 a). *Melittangium* lysiert die Futterbakterien. Nach etwa 3 Tagen schneidet man mit dem abgeflammten Skalpell vom Rand eines von Begleitorganismen freien Schwarmes ein Agarblöckchen aus und überträgt es auf (1) frische Coli-Wasseragarplatten oder (2) auf sterile Kaninchenmistbrocken, die halbhoch in Wasseragar in Petrischalen eingegossen sind. Auf beiden Nährsubstraten kommt es nach etwa 10 Tagen zur Bildung von Fruchtkörpern.



Biologie der Melittangium-Arten

Den Namen „*Melittangium*" hat Jahn 1924 geprägt. Er bezieht sich auf die Struktur der Sporangienmembran, die durch die senkrecht zu ihr stehenden Myxosporen ein bienenwabenartiges Aussehen erhält (melitta gr.=Biene, angion gr.=Gefäß, hier Wabe).

Charakteristische Merkmale von Melittangium

Die vegetativen Schwarmzellen sind spitz zulaufende Stäbchen. Die Sporangien

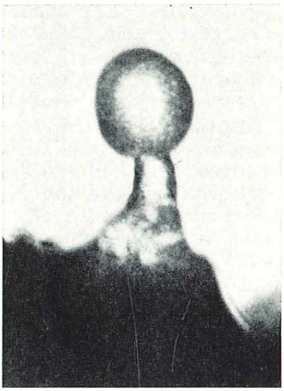


Bild 4: *Melittangium lichenicola.* Ein einzelner Fruchtkörper bei stärkerer Vergrößerung zeigt deutlich die Schleimansammlung, aus der sich das kurze kräftige Stielchen erhebt. Das kugelige Sporangium ist leuchtendrot gefärbt. Mistkultur. 250×.

(Cysten) werden einzeln auf einem Stiel gebildet. Sie sind orange bis rot gefärbt. In ihnen befinden sich die stäbchenförmigen Myxosporen. Der Schwarm greift den Agar nicht an, d. h. es entstehen durch das vegetative Wachstum keine Ätz- oder Fraßspuren auf der Agaroberfläche. Der Schleim adsorbiert Congorot.

Melittangium lichenicola (Thaxter) McCurdy 1971

Synonyme: Chondromyces lichenicolus Thaxter 1892, Chondromyces gracilipes Thaxter 1897, Podangium lichenicolum Jahn 1924, Chondromyces minor Krzemieniewska u. Krzemieniewski 1930.
Diese zahlreichen Bezeichnungen für ein und denselben Organismus lassen einer-

Bild 5: *Melittangium lichenicola.* Zwei Fruchtkörper auf einer Coli-Wasseragarplatte, von der Seite her gesehen. 100×.

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

Bild 6: *Melittangium lichenicola*. Ansammlung irregulärer Fruchtkörper auf einer Coli-Wasseragarplatte. 14 Tage alt. Farbe: Orangerot. 50×.

seits erkennen, wie stark die Ausprägung des Bestimmungsmerkmals „Fruchtkörper" hinsichtlich Form und Größe vom jeweiligen Substrat ist, andererseits wird die Schwierigkeit einer systematischen Zuordnung bei Hinzuziehung nur des Fruchtkörpers deutlich. Dieses Myxobakterium wurde, wie der Artname sagt, auf Flechten gefunden.

Fruchtkörper

Melittangium lichenicola bildet zwei Fruchtkörper-Typen. Die reguläre Form besteht aus einem festen Stielchen, das etwa 40 µm lang und bis 10 µm dick wird. Es ist weiß bis leicht orange gefärbt. Das aufsitzende ovale, kugelige oder birnenförmige Sporangium ist orangerot bis leuchtendrot gefärbt und mißt 10—30×25—35 µm (Bilder 2—5). Stehen die Fruchtkörperchen sehr eng beieinander, so geschieht es öfters, daß sie miteinander verschmelzen und zusammenfließen.
Der zweite Fruchtkörper-Typ ist die irreguläre Form. Sie entsteht auf Agarplatten nach mehrfachen Überimpfungen, wenn Reinkulturen gezogen werden. An Stelle wohlgeformter Sporangien bilden sich hellrote bis rubinrote unregelmäßige Massen bis zu 1 mm Größe. Die Oberfläche erscheint wulstig. Diese Ansammlungen (Bild 6) ähneln sehr den Fruchtkörpern von *Archangium* und können mit diesen u. U. verwechselt werden. Diese irregulären Fruchtkörper bestehen teilweise aus mehr oder weniger zusammengedrückten und deformierten Schläuchen von 50—90 µm Dicke. Die Fruchtkörperbildung beginnt auf Coli-Wasseragar nach 5 bis 7 Tagen an der Peripherie des Schwarmes. Zunächst entstehen kleine orangerote Häufchen oder Knöpfchen (Bild 7), aus denen nach kurzer Zeit die gestielten Fruchtkörper hervorgehen. Im Zentrum fruktifizierender Schwärme kommt es häufig zur Bildung der irregulären Form (Bild 8), die manchmal nur die Anfänge regulärer Fruchtkörperformen vermuten lassen (Bild 9).

Schwarm

Die vegetativen Kolonien breiten sich auf der Agarfläche rasch aus. Der Schwarm ist sehr dünn und fast durchsichtig. Als Innenstrukturen treten radiäre Falten und Akkumulate auf, leuchtendrot gefärbt. Die Peripherie besteht aus radial verlaufenden parallelen Schleimrippen (Bilder 7 und 8).



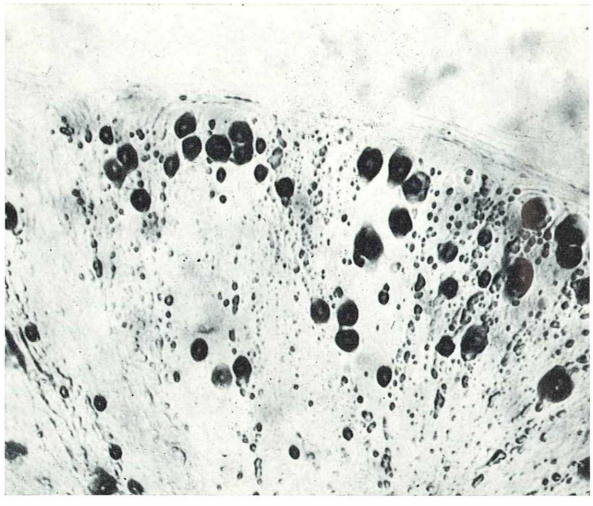
Zellen

Die vegetativen Schwarmzellen sind flexible Stäbchen mit leicht zugespitzten Enden (Bild 10). Ihre Größe schwankt zwischen 6 und 12 µm, ihr Durchmesser beträgt 0,6—0,9 µm. Die Myxosporen sind unregelmäßige verkürzte Stäbchenzellen, die häufig leicht gebogen sind. Die Zellen sind starr und von einer Schleimkapsel umgeben. Sie hängen gewöhnlich in Gruppen zusammen und sind schwer zu trennen (Bild 11).

Biochemische Leistungen

Die biochemischen Leistungen von *Melittangium lichenicola* hat McCurdy (1971) ge-

Bild 7: *Melittangium lichenicola*. Beginn der Fruchtkörperbildung in der Randzone eines Schwarmes. Farbe: Hellrot. Coli-Wasseragar, 5 Tage alt. 50×.



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

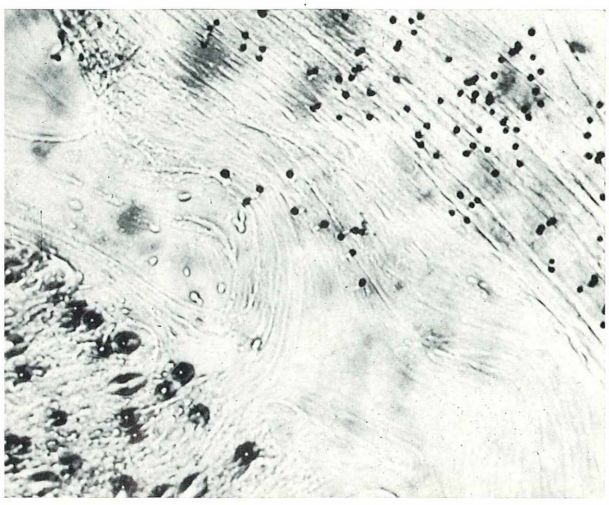


Bild 8: *Melittangium lichenicola.* Schwarm nach Fruchtkörperbildung. An der Peripherie im Gebiet der radialen Schleimrippen wurden normale Fruchtkörper gebildet (rechts oben), im Zentrum kam es zur Entstehung irregulärer Fruchtkörper (links unten). Coli-Wasseragar, 18 Tage. 20×.

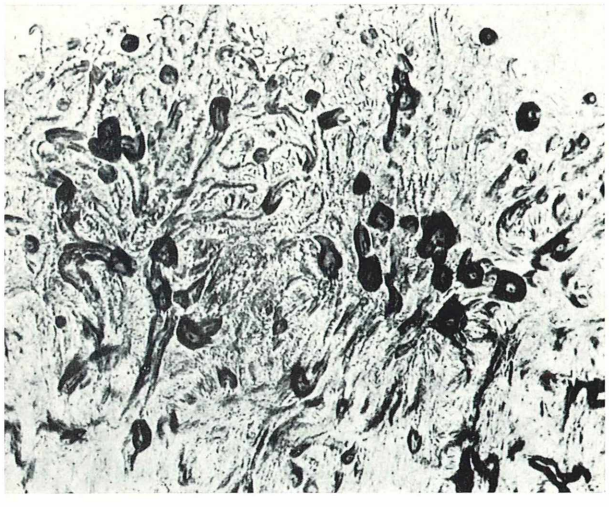
nauer untersucht. Das Enzym Katalase wird gebildet. Makromoleküle wie die Stärke, DNS und RNS werden hydrolytisch gespalten. Cellulose dagegen wird nicht angegriffen. Eine Reihe von Antibiotika (Tetracyclin, Chloramphenicol, Kanamycin u. a.) hemmen das Wachstum.

Melittangium boletus Jahn 1924

Dieses Myxobakterium, von Jahn entdeckt und benannt, hat der Gattung den Namen gegeben. Das Sporangium von *M. boletus* hat die Form eines Pilzhutes, der auf einem kurzen weißen Stiel sitzt und einem Steinpilz (Boletus) sehr ähnlich ist.

Verbreitung

Über das Vorkommen schreibt Jahn 1924:



„Nicht gerade selten auf Kaninchenmist und Rehmist aus der Nähe Berlins. Auf Damwildmist aus Dänemark". 1926 haben Krzemieniewska u. Krzemieniewski diesen Mikroorganismus in Böden Polens gefunden, 1941 Solntzeva auf Rinden in Rußland. Dennoch scheint diese Art viel seltener zu sein als aus Jahns Angaben gefolgert werden könnte. So schreibt der Myxobakterien-Forscher Brockman von der Michigan-Universität erst im Oktober 1976, daß es ihn am meisten gefreut hätte, unter vielen Isolierungen *Melittangium boletus* gefunden zu haben.
In den eigenen Kulturen ist ein einziges Mal ein boletusartiges Myxobakterium beobachtet worden (Bild 12).

Fruchtkörper

Die pilzhutartigen Sporangien von 50 bis 100 µm Durchmesser sind im Jugendstadium weißlich und werden allmählich gelblich bis fleischfarben. Im reifen Zustand haben sie eine gelbbraune Farbe. Trockene Fruchtkörper sind rotbraun gefärbt. Das Stielchen ist weißlichgelb und etwa 25 bis 60 µm hoch. Es kann auch sehr verkürzt sein oder gar fehlen. Neben den hutförmigen Sporangien findet man häufig kleinere, die kugelrund sind.

Zellen

Die vegetativen Stäbchenzellen sind leicht zugespitzt und besitzen abgerundete Enden. Sie sind etwa 4,5—10,5 µm lang und 0,7 µm dick.
Die Myxosporen sind, wie bei *M. lichenicola,* ebenfalls stäbchenförmig und messen in der Länge 1,5—3,0 µm, im Durchmesser 0,7—0,9 µm.
Melittangium boletus wächst gut auf Coli-Wasseragar, auf 10%igem Kaninchenmist-Dekokt-Agar. Es hydrolysiert Stärke, greift Cellulose nicht an.

Die dritte *Melittangium*-Art ist meines Wissens in Deutschland und Europa bisher nicht gefunden worden. Vielleicht gelingt es in nächster Zukunft einem Mikroskopiker oder interessierten Mikrobiologen, bei umfangreichen Proben in feuchter Kammer

Bild 9: *Melittangium lichenicola.* Aspekt irregulärer Fruchtkörper auf einer alten Coli-Wasseragarplatte. Diese unregelmäßigen Ansammlungen sind den Fruchtkörpern von *Archangium* sehr ähnlich. 30 Tage alt. 50×.

Copyright © Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten. http://www.urbanfischer.de/journals/

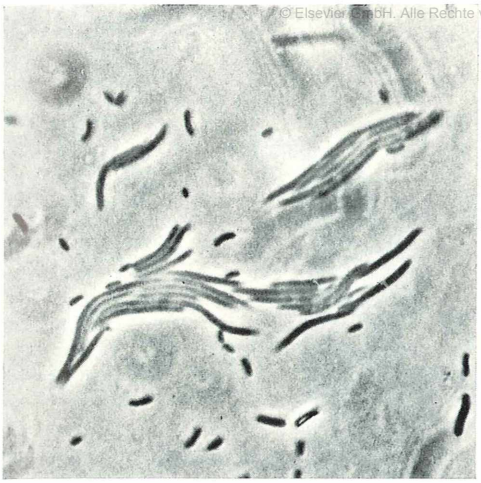


Bild 10: *Melittangium lichenicola.* Vegetative Schwarmstäbchen. Phasenkontrast, Ölimmersion 1000×.

und gründlicher Durchmusterung auf Rinden, Holz oder Dung *Melittangium alboraceum* auch hier zu entdecken. Daher seien die wichtigsten Merkmale dieses Bakteriums hier aufgeführt.

Melittangium alboraceum (Peterson) McCurdy 1971

Synonym: Podangium alboraceum Peterson 1959.
Peterson fand dieses Myxobakterium zweimal auf der Rinde lebender Ulmen in Missouri. Der Artname ist vom weißen Stiel, auf dem das Sporangium sitzt, abgeleitet (albus lat.=weiß, racemus lat.=Stiel).

Merkmale

Sporangium: einzeln, unregelmäßige Kugeln, schwach orange gefärbt;

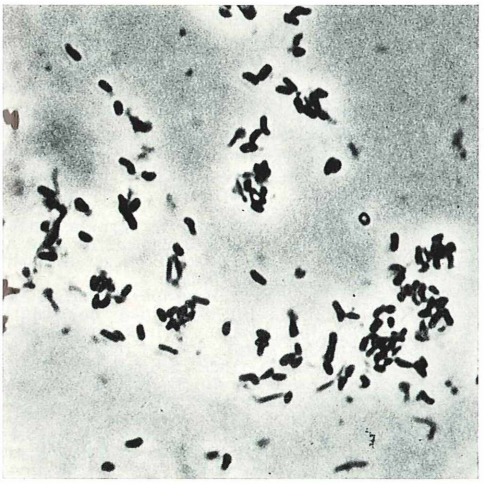


Bild 11: *Melittangium lichenicola.* Myxosporen. Phasenkontrast, Ölimmersion 1000×.

35 µm Durchmesser; umgeben von elastischer, kaum wahrzunehmender Membran.
Stiel: sehr lang, etwa 4 bis 6mal länger als der Durchmesser des Sporangiums; 85 bis 250 µm. Korkenzieherartig gedreht, schneeweiß.
Schwarmstäbchen: scheinbar nicht spitz zulaufend, mit eckigen Enden; 0,8—1,0× 4,5—5,0 µm.
Myxosporen: stäbchenförmige Zellen, leicht gekrümmt; 0,8—2,5 µm groß.
Die Kultur dieses Myxobakteriums ist Peterson nicht gelungen.

Literaturhinweise:

1. *Dawid, W.:* Fruchtkörperbildende Myxobakterien. I. Die Myxococcus-Arten: M. fulvus, M. virescens, M. xanthus, M. stipitatus. — Mikrokosmos **65,** 72—79, 1976 a.
2. *Dawid, W.:* Fruchtkörperbildende Myxobakterien. II. Die Archangium-Arten: A. gephyra, A. primigenium, A. serpens, A. flavum. — Mikrokosmos **65,** 225—233, 1976 b.
3. *Dawid, W.:* Fruchtkörperbildende Myxobakterien. III. Die Cystobacter-Arten: C. fuscus, C. ferrugineus. — Mikrokosmos **65,** 292—297, 1976 c.
4. *Jahn, E.:* Beiträge zur botanischen Protistologie. I. Die Polyangiden. — Gebr. Borntraeger, Leipzig (1924).
5. *Krzemieniewska, H.,* u. *Krzemieniewski, S.:* Die Myxobakterien von Polen. — Acta Soc. Bot. Pol. **4,** 1—54, 1926.
6. *McCurdy, H. D.:* Studies on the Taxonomie of the Myxobacterales. IV. Melittangium. — Int. J. Syst. Bact. **21,** 50—54, 1971.
7. *McCurdy, H. D.:* The Fruiting Myxobacteria. In: BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed., S. 76—98. Baltimore 1975.
8. *Peterson, J. E.:* New species of Myxobacteria from the bark of living trees. — Mycologia **51,** 163—172, 1959.

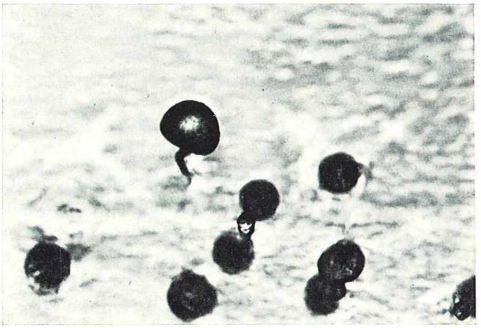


Bild 12: *Melittangium boletus.* Pilzartige Fruchtkörper auf Coli-Wasseragarplatte, 14 Tage alt. Farbe: Gelborange. 100×.

Verfasser: Wolfgang Dawid, Studiendirektor, Erzbischöfliches Gymnasium, Elsa-Brandström-Straße 71-91, 5300 Bonn-Beuel 1.

©-Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/
Walter J. Patzelt

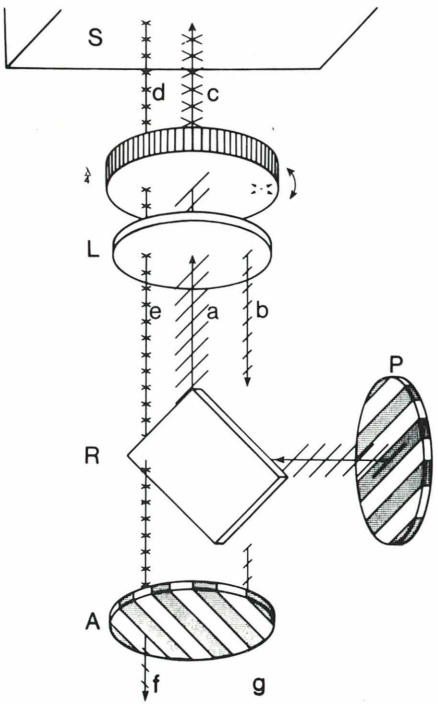
Reflexionskontrast

Eine neue lichtmikroskopische Technik

Extrem dünne, transparente Durchlichtobjekte ergeben außerordentlich geringe Gangunterschiede. Strukturelle Details sind daher weder im Phasenkontrast noch im Interferenzkontrast erkennbar. Eine befriedigende Abbildung konnte bei solchen Strukturen bislang nur mit elektronenmikroskopischen Methoden erreicht werden. Derartige Objekte sind in erster Linie Randbereiche und Ausläufer von Zellen sowie der Nachweis der Haftung von Zellen auf Oberflächen.

Prinzip des Reflexionskontrastes

Extrem dünne Schichten können im Auflichtmikroskop dargestellt werden, indem



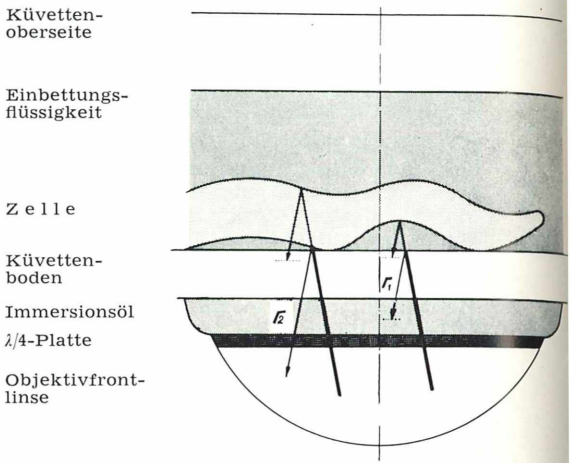


Bild 1: Entstehung von Gangunterschieden in einer Mikroküvette.
Γ_1 Gangunterschied zwischen Zellunterseite und Küvettenboden (Deckglas).
Γ_2 Gangunterschied zwischen Zellober- und Unterseite.
Reflexionen an den Grenzflächen Objektiv-Öl-Küvettenunterseite sind nicht dargestellt.

die Interferenzerscheinungen zwischen der Ober- und Unterseite der dünnen Schichten sichtbar gemacht werden. Makroskopisch sind solche Interferenzerscheinungen von den Anlauffarben von Metallen, den Farberscheinungen von Ölfilmen auf Wasser und den Newtonschen Ringen glasgerahmter Diapositive her bekannt.

Bild 2: Kontraststeigerung nach dem Immersionskontrastverfahren, angewendet bei der Reflexionskontrasteinrichtung.
P Polarisator; *A* Analysator; *R* Planglasreflektor (Teilerspiegel); *L* Linsenoberflächen (der Einfachheit halber als planparallele Platte gezeichnet); $\lambda/4$ = Viertel-Lambda-Platte.
Prinzip: Der von den Linsenoberflächen *L* reflektierte Falschlichtanteil b ist linear polarisiert. Er wird bei gekreuzten Polarisatoren vom Analysator *A* gesperrt (*g*).
Der von den Linsen nicht reflektierte, linear polarisierte Lichtanteil durchsetzt die vorgefaßte Viertel-Lambda-Platte, wobei er zirkular polarisiert (c) wird.
Das vom Objekt reflektierte Licht (*d*) vermag den Analysator *A* zu durchsetzen und liefert die kontrastreiche Bildinformation (*f*).

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

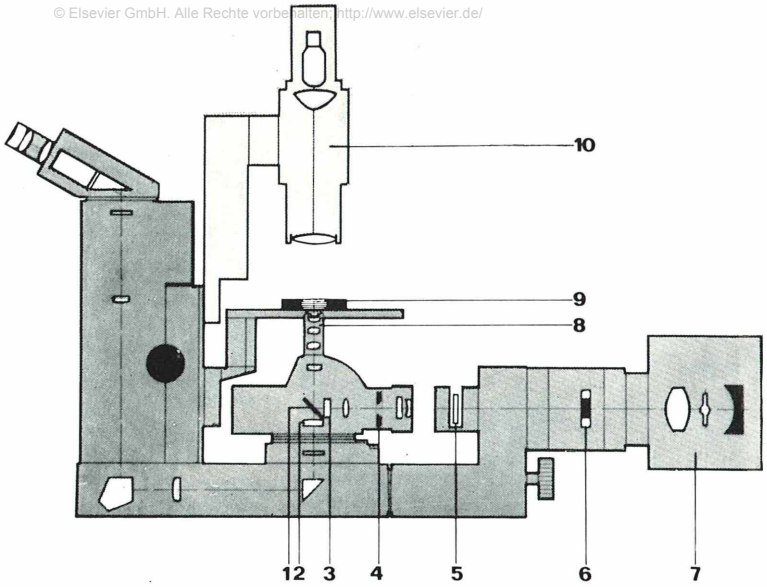


Bild 3: Prinzipskizze der LEITZ Reflexionskontrast-Einrichtung am DIAVERT.
1 Planglasreflektor (Teilerspiegel);
2 Analysator;
3 Polarisator;
4 Leuchtfeldblende;
5 Filteraufnahme;
6 Blendenschieber;
7 Auflichtbeleuchtung (Hg-Lampe);
8 Immersionskontrastobjektiv;
9 Objekt;
10 Durchlichtbeleuchtung.

In ähnlicher Weise zeigen auch beispielsweise dünne Zellausläufer oder Flüssigkeitsschichten zwischen Zelle und Deckglas Interferenzerscheinungen (Bilder 1, 6—9). Allerdings sind diese Phasenunterschiede in der Regel mit einem gewöhnlichen Auflichtmikroskop nicht beobachtbar, weil aufgrund des geringen Reflexionsvermögens ein zu geringer Kontrast gegenüber dem Umfeld vorhanden ist.
Eine zusätzliche Kontrastminderung erfolgt durch eine teilweise Reflexion des Beleuchtungslichtes an den Glasoberflächen des Objektivs (Bild 2 b) und der verwendeten Objektküvette.

Die kontrastmindernde Eigenreflexion der Linsenoberflächen kann durch polarisationsoptische Hilfsmittel wie folgt unterdrückt werden:
Wie bei einem Auflicht-Polarisationsmikroskop befindet sich ein Polarisator im Beleuchtungsstrahlengang und ein Analysator im Beobachtungsstrahlengang. Hierdurch würde aber nicht nur das von den Glasoberflächen reflektierte Licht gesperrt (Bild 2 g), sondern auch das von den Objektstrukturen reflektierte Licht. Durch Anordnung eines Viertel-Lambda-Plättchens zwischen Objektiv und Präparat (Bild 2) entsteht zirkularpolarisiertes Licht, das vom Analysa-

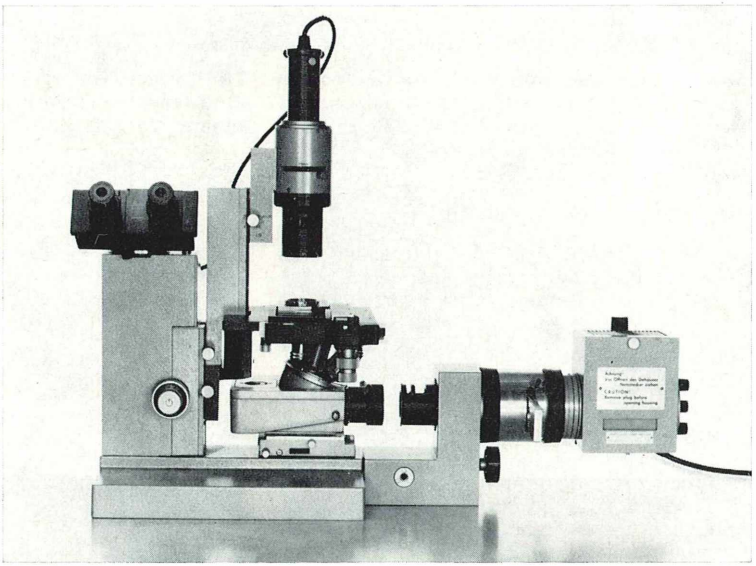
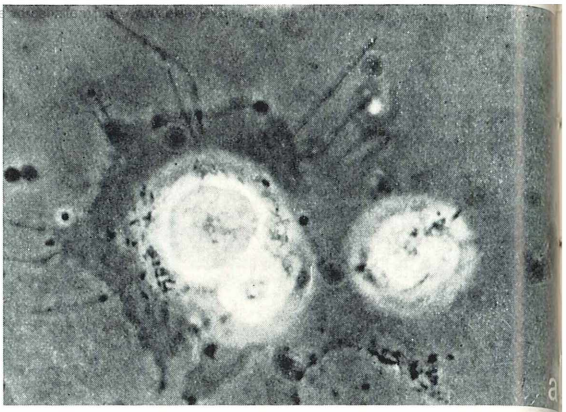


Bild 4: LEITZ-DIAVERT mit PLOEM Opak 2.2 und Beleuchtungseinrichtung für Reflexionskontrast, sowie Beleuchtungseinrichtung für Durchlichtbeobachtung.

tor nicht gesperrt wird. Die Bildinformationen können somit den Analysator passieren.
Um noch störende kontrastmindernde Reflexionen an den ebenen Glasoberflächen des Präparates auszuschalten, erfolgt eine zusätzliche Kontraststeigerung durch Verwendung einer Zentralblende im Beleuchtungsstrahlengang (Bild 3.6).
Beide zur Kontraststeigerung verwendeten Verfahren sind in der Kohlenmikroskopie jede für sich allein als „Immersionskontrast" und als „Stachscher Beleuchtungsschieber" schon lange Zeit bekannt.



Präparationstechnik

Für die Untersuchung lebender und fixierter Zellen im Reflexionskontrast eignen sich besonders kleine Zellkulturkammern (Mikroküvetten, auch Perfusionskammern genannt); sie bestehen aus einem Rahmen und zwei durch einen Distanzring getrennten Deckgläsern (Ploem 1967). Besonders geeignet für das Verfahren des Reflexionskontrast sind alle dünnen Zellen und solche Zellen, die sich anheften und fortbewegen können: Makrophagen, Fibroblasten, Neuronen, Granulozyten, Lymphozyten, Thrombozyten, Myoblasten, Amöben.

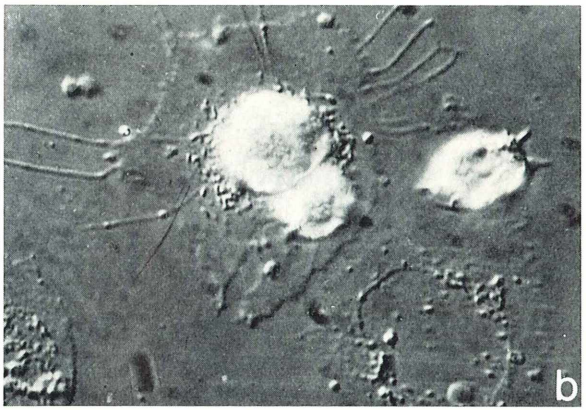


Bild 5: Makrophagen; Darstellung im Phasenkontrast (a), Interferenzkontrast (b) und Reflexionskontrast (c): An der Zelle in der Mitte des Bildes c ist der Kontaktbereich Zelle-Küvettenboden deutlich als dunkler Bereich erkennbar. Die fädigen Zellausläufer sind teilweise auf dem Kammerboden aufliegend (dunkel), teilweise haben sie keinen Kontakt (hell). An der Zelle rechts unten ist die Zellperipherie wesentlich deutlicher zu erkennen als im Phasenkontrast (a) und Interferenzkontrast (b).

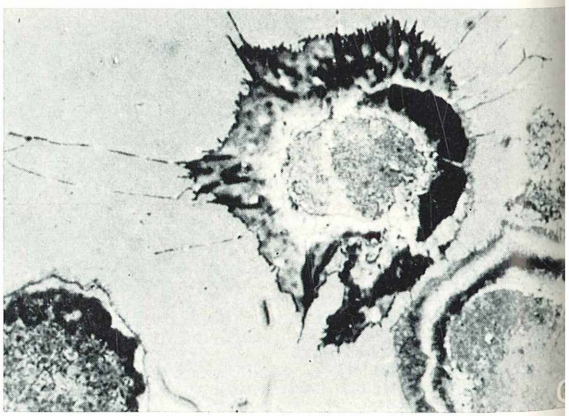
Bild 6: Menschliche Hautfibroblasten, ausgebreitet und abgerundet, Darstellung in Reflexionskontrast. ▶

Technische Realisation

Reflexionskontrast wird zweckmäßigerweise an einem Mikroskop in umgekehrter Bauweise angewendet. Aus diesem Grunde wurde die LEITZ Reflexionskontrast-Einrichtung auf das LEITZ-DIAVERT abgestimmt.
Als Lichtquelle werden die Quecksilberlampen 50 W oder 200 W verwendet. Halogenglühlampen sind aus Intensitätsgründen (hohe Lichtverluste durch geringes Reflexionsvermögen der Objekte) nicht empfehlenswert. Quecksilberlampen haben außerdem den Vorteil, daß sie zur Fluoreszenzanregung angewendet werden können.

Polarisator und Analysator sind mit einem neutralen Planglasreflektor (Bild 3.3) zu einer vorjustierten Einheit kombiniert. Diese Einheit wird an Stelle eines dichromatischen Teilersystems in die Normalversion des PLOEM Opaks 2.2 eingesetzt (Bild 4).

Die Immersions-Objektive 40 : 1 und 100 : 1 sind mit einer drehbaren Fassung und einem vorgefaßten Viertel-Lambda-Plätt-



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

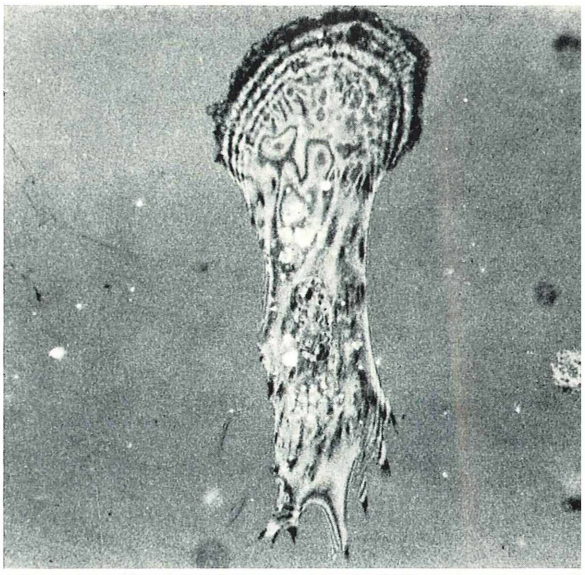
Bild 7: Menschliche Hautfibroblasten.

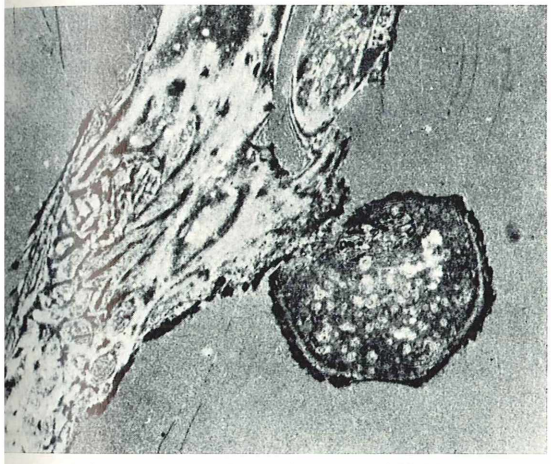
chen (Bild 1) versehen. Sie können am Objektivrevolver in einer Spezialfassung zum Einstellen des optimalen Kontrastes gedreht werden.
Die Zentralblenden für die Beobachtung mit den beiden genannten Objektiven sind im Spezialzwischenstück zwischen Lichtquelle und Lampenträger (Bild 3.6) zentrierbar angeordnet.
Für zusätzliche Durchlichtbeobachtung (Hellfeld, Phasenkontrast, Interferenzkontrast) wird die serienmäßige Niedervolt-Beleuchtung des DIAVERT (Bild 3.10) in Verbindung mit der entsprechenden optischen Ausrüstung benutzt. Die Einrichtung ist auch an normalen Mikroskopen (ORTHOLUX 2 und ORTHOPLAN) adaptierbar.

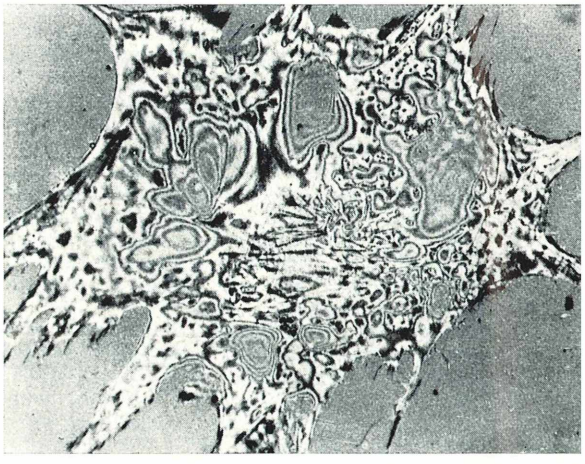
Literaturhinweise:

Abercrombie, M., and *G. A. Dunn:* Adhesions auf Fibroblasts to Substratum during Contact Inhibition observed by Interference Reflection Microscopy. — Experimental Cell Research **92**, 57—62, 1975.
Curtis, A. S. G.: The Mechanism of Adhesion of Cells to Glass, a Study by Interference Reflection Microscopy. — J. Cell Biol. **20**, 199—215, 1964.
Izzard, C. S., and *L. R. Lochner:* Cell-to-Substrate Contacts in living Fibroblasts: an Interference Reflection Study with an Evaluation of the Technique. — J. Cell. Sci. **21**, 129—159, 1976.
Ploem, J. S.: Enkele methoden voor toxiciteitsonderzoek bij weefselkweekcellen. — Thesis Amsterdam 1967.
Ploem, J. S.: Reflection-contrast Microscopy as a Tool for Investigation of the Attachment of Living Cells to a Glass Surface. — In: Mononuclear Phagocytes in Immunity, Infection and Pathology (ed. R. v. Furth). — (Oxford, London, Edinburgh, Melbourne) Blackwell Scientific Publications 1975.

Verfasser: Dr. Walter J. Patzelt, Ernst Leitz Wetzlar GmbH, Postfach 20 20, 6330 Wetzlar-Lahn.







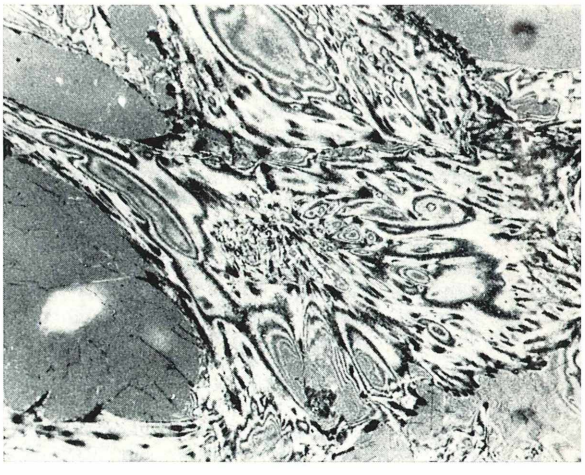


Bild 8: Menschliche Hautfibroblasten.

Bild 9: Mesonephros eines $7^1/_2$ Tage alten Hühnchens (Epitheliale Zellschicht, 24 h in vitro).

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

Gerhard Göke

Konversionsfilter für die Farbmikrofotografie

In der Farbmikrofotografie werden geeignete Farbgläser mit annähernd ideal verlaufenden Transmissionskurven zur Umwandlung der Farbtemperatur von Lichtquellen verwendet. Ihr Umwandlungswert, die Differenz der reziproken Temperaturen, wird in der Einheit 10^{-6} [K^{-1}] = mired (micro reciprocal degree) oder dem zehnten Teil dieser Einheit (decamired = daM) angegeben. Blaue Konversionsfilter haben einen negativen Umwandlungswert und erhöhen die Farbtemperatur des Lichtes. Bei rosa oder rotbraunen Konversionsfiltern ist der Umwandlungswert positiv. Sie verringern die Farbtemperatur.

Der Mikroskopiker ist im allgemeinen an eine bestimmte Lichtquelle und ein bestimmtes Filmfabrikat gebunden. Mit Hilfe von geeigneten Konversionsfiltern muß er die spektralen Werte so verändern, daß er mit dem Farbfilm seiner Wahl farbrichtige Aufnahmen erzielt.

Die üblichen Angaben in K (Kelvin) sind für die Ermittlung des richtigen Konversionsfilters ungeeignet. Es ist praktischer, mit decamired-Werten zu rechnen, weil diese beliebig addiert und subtrahiert werden können. In der Literatur werden dafür mehrere Abkürzungen verwendet, zum Beispiel D.M., dM und daM. In diesem Beitrag wird in Anlehnung an Bayer (1973) die Abkürzung daM benutzt.

Zur Bestimmung des richtigen Filters wird zunächst die Farbtemperatur der Lichtquelle ermittelt. Falls kein Meßgerät zur Verfügung steht, läßt man die Glühbirnen bei Vollast brennen und rechnet bei Niedervolt-Glühbirnen mit 2850 K = 35 daM. Für Halogen-Niedervolt-Glühbirnen setzt man 3200 K = 31 daM ein. Die Farbtemperatur des Mikroblitzes wird mit 6000 K = 17 daM angenommen. Den Datenblättern des Filmherstellers kann die Sensibilisierung der Farbemulsion entnommen werden, die bei einigen Fabrikaten auch auf der Packung in K angegeben ist. Die Tageslicht-Umkehrfilme sind im Mittel für 5500 K = 18 daM, die Kunstlicht-Umkehrfilme für 3200 K = 31 daM sensibilisiert. Mit Hilfe dieser Werte berechnet man den erforderlichen Umwandlungswert des Konversionsfilters nach der einfachen Formel

Film-daM — Licht-daM = Filter-daM.

Abweichungen von 100 K haben keinen nennenswerten Einfluß auf das Ergebnis. Die Verwendung der angegebenen Näherungswerte reicht für die Mikrofotografie aus.

Als Konversionsfilter sind mehrere Filtergläser von Schott & Gen. geeignet. Nachfolgend werden die Umwandlungswerte der wichtigsten Filter mitgeteilt:

FG 3/2 mm	−16 daM	Blaufilter
BG 34/2 mm	−15 daM	
FG 6/2 mm	− 3 daM	
FG 18/2 mm	+ 1,5 daM	Rosafilter
FG 17/2 mm	+ 3 daM	
FG 16/2 mm	+ 6 daM	
FG 15/2 mm	+12 daM	
FG 13/2 mm	+20 daM	

Durch Kombination mehrerer Filter können alle in der Praxis vorkommenden Umwandlungswerte erzielt werden.

Die Tabelle soll dem Mikroskopiker die Auswahl des richtigen Konversionsfilters erleichtern. Sie wurde mit mehreren Filmfabrikaten überprüft. In Zweifelsfällen, zum Beispiel bei Filmen mit anderer Sensibilisierung als 5500 oder 3200 K, wird ein Konversionsfilter mit dem nächst höheren daM-Wert empfohlen.

Der Umwandlungswert des Filters ist annähernd richtig, wenn das objektfreie Umfeld der Aufnahme, zum Beispiel von einer Diatomeenschale im Durchlicht-Hellfeld, weder blaustichig noch rosastichig ist. Der Blaustich mancher Elektronenblitz-Aufnahmen kann von der hohen UV- und Violett-Emission der Xenon-Blitzröhren verursacht werden. Mit einem Kantenfilter GG 400/2 mm (WG 1/2 mm) läßt sich dieser Farbstich beseitigen.

Die Filter FG 3/2 mm und BG 34/2 mm liefern in Verbindung mit einer Niedervolt-

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

Farbfilm	Lichtquelle	Konversionsfilter
Tageslicht-Umkehrfilm 5500 K=18 daM	Niedervolt-Glühlampe 2850 K=35 daM	FG 3/2 mm oder BG 34/2 mm —16 daM bzw. —15 daM
Tageslicht-Umkehrfilm 5500 K=18 daM	Halogen-Glühlampe 3200 K=31 daM	FG 3/2 mm+FG 17/2 mm —13 daM
Tageslicht-Umkehrfilm 5500 K=18 daM	Elektronenblitz 6000 K=17 daM	FG 18/2 mm +1,5 daM
Kunstlicht-Umkehrfilm 3200 K=31 daM	Niedervolt-Glühlampe 2850 K=35 daM	FG 6/2 mm —3 daM
Kunstlicht-Farbfilm 3200 K=31 daM	Elektronenblitz 6000 K=17 daM	FG 15/2 mm+FG 18/2 mm +13,5 daM

leuchte (übliche 6 V/15 W-Glühbirne mit Flachkernwendel) sehr gute Resultate, wenn die Filme CT 18, Agfachrome oder ORWO UT 18 verwendet werden. Mit dem Filter BG 34/2 mm erzielt man die wärmeren Farbtöne. Die Mikroskop-Hersteller und der Fachhandel haben die hier empfohlenen Konversionsfilter in Form von ungefaßten, polierten Rundscheiben (32 mm ϕ) vorrätig oder können sich um die Anfertigung bemühen.

Literaturhinweis:

Göke, G.: Grundlagen der Farb-Mikrofotografie. Mikrokosmos **65**, 237—242 (1976).

Verfasser: Gerhard Göke, Bahnhofstraße 27, 5800 Hagen.

Unser Umschlagbild

Dieter Krauter

Pollenmutterzellen der Lilie während der ersten Reifeteilung

Die Meiose oder Reduktionsteilung reduziert die Chromosomenzahl auf die Hälfte: Aus diploiden Zellen mit zwei Chromosomensätzen werden haploide, die nur je einen Chromosomensatz enthalten.
Bei allen Pflanzen und Tieren, die sich sexuell fortpflanzen, muß in die Generationenfolge eine Meiose eingeschaltet werden, da sich sonst die Zahl der Chromosomen in den Zellen von Generation zu Generation verdoppeln würde.
Die befruchtete Zelle (gewöhnlich die Eizelle) enthält zwei Chromosomensätze (einen väterlichen und einen mütterlichen), sie ist diploid. Bei höheren Tieren und Pflanzen sind alle aus der Eizelle hervorgehenden Zellen, die Körperzellen, gleichfalls diploid, die Chromosomenreduktion erfolgt erst bei der Bildung der Keimzelle. Je zwei Chromosomen in der diploiden Zelle entsprechen sich weitestgehend in Form und Genbestand: die homologen Chromosomen, von denen das eine vom Vater, das andere von der Mutter stammt. (Eine Zelle mit diploid 14 Chromosomen enthält also 7 Paare homologer Chromosomen.)
Die Meiose verläuft bei allen Organismen in grundsätzlich derselben Weise: In einer „1. Reifeteilung" werden die homologen Chromosomen voneinander getrennt und auf zwei Zellkerne verteilt, in der unmittel-

bar folgenden 2. Reifeteilung werden die Chromosomenspalthälften (Chromatiden) getrennt und auf je zwei Zellen verteilt, so daß insgesamt 4 Zellen entstehen, von denen jede nur einen Chromosomensatz enthält, die also haploid sind. Die 2. Reifeteilung entspricht demnach einer normalen Kernteilung.

Biologisch besonders wichtig ist die 1. Reifeteilung. Bei ihr werden nicht nur die homologen Chromosomen getrennt, sondern es laufen auch Prozesse ab, die zu einem Stückaustausch der Chromosomen und damit zu einer Umordnung der Erbanlagen führen können („crossing over"). Voraussetzung hierfür ist die Paarung der homologen Chromosomen während der Prophase der 1. Reifeteilung.

Die Prophase der 1. Reifeteilung dauert sehr viel länger als bei einer normalen Kernteilung (Tage und sogar Wochen). Man kann an ihr verschiedene Phasen unterscheiden, die mikroskopisch leicht zu erkennen sind:

1. Leptotän. Die Chromosomen werden als dünne, verknäuelte Fäden sichtbar.
2. Zygotän, Die homologen Chromosmen beginnen, sich parallel nebeneinander zu legen.
3. Pachytän. Die Paarung der homologen Chromosomen ist vollendet. Es ist jetzt erkennbar, daß jedes Chromosom in zwei Chromatiden gespalten ist, daß also jeweils vier Chromatiden nebeneinander liegen (zwei vom väterlichen, zwei vom mütterlichen Chromosom).
4. Diplotän. Die Paarung der Chromosomen wird wieder gelöst. Dabei bleiben aber verschiedene Chromatiden an einzelnen Punkten noch aneinander haften. In diesem Stadium können die Chromatiden homologer Chromosomen an einander entsprechenden Stellen brechen, und die Bruchstücke können so miteinander verwachsen, daß ein väterliches Chromatid ein Stück des mütterlichen Chromatids erhält und umgekehrt. So kann es zu neuen Genkombinationen kommen.
5. Diakinese. Die Chromosomen verkürzen sich, kontrahieren sich schraubig und wandern zur Kernwand.

Die Kernmembran verschwindet, die Prophase ist abgeschlossen, und die Chromosomen treten in die Metaphase ein: Sie ordnen sich in der Mitte der Zelle zu einer „Äquatorialplatte". In der anschließenden Anaphase werden nun nicht — wie bei der Mitose — die Chromatiden getrennt und auf die Tochterzellen verteilt, sondern die ganzen Chromosomen. Es entstehen daher in der nachfolgenden Telophase zwei haploide Kerne, die sogleich in die nächste Teilung, die 2. Reifeteilung, eintreten. Sie verläuft wie eine normale Mitose, ihre Endprodukte sind 4 haploide Zellen. Diese Zellen trennen sich dann und werden zu Pollenkörnern.

Zur Technik

Die Aufnahmen zu dieser Serie sind nach Schnitten angefertigt. Man kann jedoch die Reifeteilungen sehr gut in Ausstrichpräparaten studieren, die jeder Mikroskopiker leicht anfertigen kann:

Man schneidet mit einer Rasierklinge ganz junge, noch grüne Staubbeutel an. (Junge, noch geschlossene Knospen verwenden!) Den Inhalt streicht man mit einer Lanzettnadel auf einem Objektträger aus, fixiert durch Einstellen in Alkohol-Essigsäure (3 Teile 96%iger Alkohol, 1 Teil Eisessig) und färbt mit Karminessigsäure oder Orceinessigsäure. Zuweilen muß man viele Knospen öffnen, um Stadien der Meiose zu finden. Gut geeignet für solche Versuche sind die Pollenmutterzellen der Ampelpflanze *Tradescantia,* die sich als Zimmerpflanze leicht kultivieren läßt, daneben fast alle Liliengewächse.

Herstellung von Karmin-Essigsäure:

Man schwemmt 3—5 g Karmin in 100 ml 45%iger Essigsäure auf und läßt die Suspension ca. 1 Stunde unter Rückflußkühlung ganz schwach sieden. Nach Erkalten wird die Lösung filtriert. Fertig käufliche Karmin-Essigsäure-Lösungen sind meist unbrauchbar.

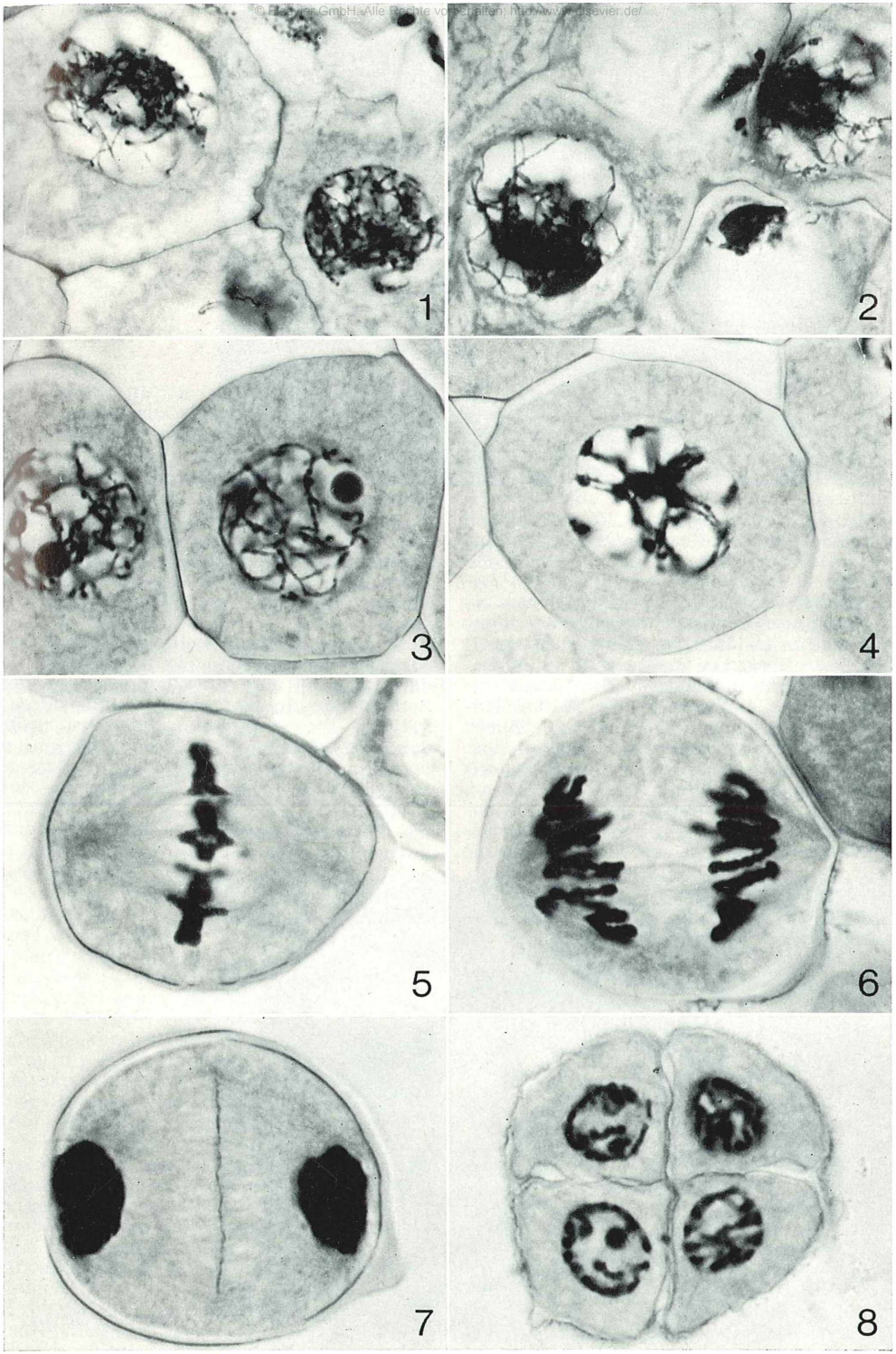
Orcein-Essigsäure:

Man löst 1 g Orcein (Merck) in 100 ml 45%iger Essigsäure. Bei Verwendung des Merckschen Orceins erübrigt sich ein Erhitzen. Die Orcein-Lösung muß in dunkelbrauner Flasche aufbewahrt werden; sie ist im Gegensatz zur Karmin-Essigsäure nur begrenzt haltbar (ca. 1 Jahr). Bei der Färbung mit Orcein-Essigsäure dürfen die Präparate zwar erwärmt werden, aber die Farblösung darf nicht kochen.

Bilder 1—8:
Ausschnitte aus den Reifeteilungen in den Pollenmutterzellen der Lilie.
1. Prophase der 1. Reifeteilung: Leptotän.
2. Prophase der 1. Reifeteilung: Zygotän.
3. Prophase der 1. Reifeteilung: Pachytän.
4. Prophase der 1. Reifeteilung: Diplotän.
5. Metaphase der 1. Reifeteilung.
6. Anaphase der 1. Reifeteilung.
7. Telophase der 1. Reifeteilung.
8. Pollentetrade nach Abschluß der 2. Reifeteilung.

Schwarzweiß-Reproduktionen nach Farbdias von Johannes Lieder.

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



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

Manfred Noll

Eine einfache Methode zur Sauerstoffbestimmung

Eine Schwierigkeit hydrobiologischer Untersuchungen ist es, daß man nicht ohne ein Mindestmaß an chemischen Begleituntersuchungen auskommt. Außer der Temperatur eines Gewässers — evtl. auch Strahlungseinflüsse — sind Kenntnisse über den pH-Wert, Gasstoffwechsel und Nährstoffgehalt von Wichtigkeit. Während zur Bestimmung des pH-Wertes eine Reihe einfacher Methoden zur Verfügung steht, ist die Bestimmung von Stickstoff- und Phosphorverbindungen immer apparativ aufwendig bzw. recht umständlich. Am einfachsten erhält man über den Stoffwechsel eines Gewässers Aufschluß anhand des Sauerstoff- und Kohlendioxidgehaltes. Bei Vorhandensein von genügend O_2- und CO_2-Werten läßt sich daraus indirekt auch eine Analyse des Nährstoffgehaltes oder der Belastung eines Gewässers ableiten.

Die titrimetrische Bestimmung von Kohlendioxid ist, was die technischen Voraussetzungen betrifft, relativ einfach. Für die exakte Durchführung ist allerdings viel Übung erforderlich. Eine speziellere, kostspielige, wenn auch einfache Ausrüstung erfordert dagegen die Sauerstoffbestimmung nach der Methode von Winkler (1914): Notwendig sind geeichte Probeflaschen und Pipetten mit Pipettierhilfe. Hinzu kommt, daß die Folge der Arbeitsschritte für den Ungeübten verwirrend ist. Es hat deshalb nicht an Versuchen gefehlt, die Winkler-Methode durch weniger aufwendige zu ersetzen.

Eine Vereinfachung stellt die Tabletten-Methode nach Hofer (1902) dar. Mit Hilfe der Tabletten wird die Grundreaktion der Sauerstoffbestimmung nach Winkler durchgeführt. Die Bestimmung aber ist grob, denn es sind nur größere Differenzen (2 mg/l) im Sauerstoffgehalt zu erfassen. Bedenkt man ferner die Eigenfärbung der Probe bzw. die schlechte Druckwiedergabe der Vergleichstabellen in Büchern, dann kann unter ungünstigen Voraussetzungen

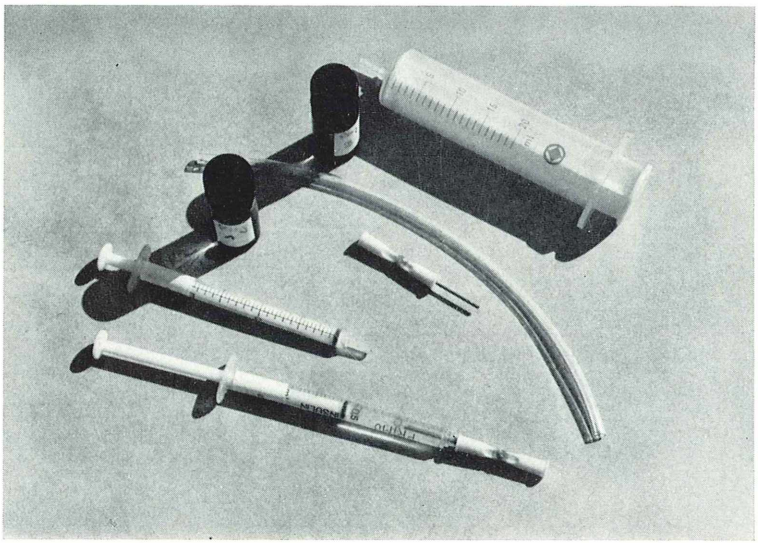


Bild 1: Geräte zur Sauerstoffbestimmung.

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

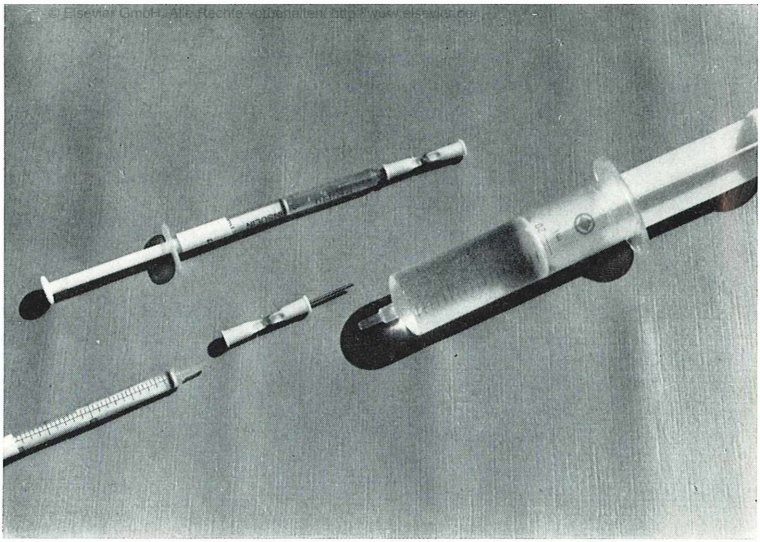


Bild 2: Probespritze und Reagensspritze mit Verbindungsstück.

die Bestimmung zu einem Glücksspiel werden. Der Aufwand der kolorimetrischen Methoden ist vom Instrumentarium her groß. Damit hängt es auch zusammen, daß solche Geräte nur für spezielle Anwendungsfälle zur Verfügung stehen. Unbestritten sind allerdings die Werte der heute vielfach angewandten elektrischen Bestimmung des O_2-Gehaltes. Die Meßgeräte sind aber für den Amateur viel zu teuer.

Um auch dem Laien die O_2-Bestimmung sowohl finanziell als auch zeitlich zu ermöglichen, soll hier eine Modifikation der Winkler-Methode beschrieben werden. Sie benutzt einfachste und billigste Materialien, ist handlich und erscheint damit auch für das Gelände geeignet. Außerdem erlaubt sie durch die spezielle Auswahl der Mittel eine Standardisierung, so daß für den Ungeübten die technischen Abläufe überschaubar werden (Bild 1).

Als Probegefäße dienen Plastikeinmalspritzen von 20 oder 50 ml Inhalt. In sie läßt sich sehr genau die für die Bestimmung notwendige Wassermenge aufziehen. Um die Füllung luftblasenfrei zu erhalten, muß man die Spritze mehrfach füllen und zum Austreiben der Luft bei nach oben gehaltener Öffnung wieder entleeren.

Beim Einfüllen der notwendigerweise sehr kleinen Mengen an Reagenzien dienen Insulin- oder besser Tuberkulinspritzen in Einwegausführung, die zweckmäßigerweise einen leicht beweglichen Stempel mit Gummiverkleidung haben sollten. Durch Abfeilen erhält man eine entschärfte Kanüle der Insulinspritze, die mittels einer röhrenförmigen Halterung absolut dicht auf die als Probegefäß dienende Spritze aufgesetzt wird. Eine nicht zu enge Kanüle mit Plastikkoppelung wird vorsichtig so an der Spitze der Plastikkoppelung durchgefeilt, daß diese umgekehrt nach Entfernen der Kanüle auf eine gleichartige Spitze geschoben und festgeklebt werden kann. Die in beschriebener Weise vorbereitete Kanüle wird auf die mit Fällungsreagens gefüllte Tuberkulinspritze gesteckt und mit der aufgeklebten Koppelung gleichzeitig auf eine der gefüllten Probespritzen gesetzt (Bild 2). Die Kanüle ragt dadurch in das Probegefäß hinein, so daß ein gute Durchmischung von Reagens und Probe erreicht wird. Die Verbindung muß luftdicht sein. Wird nun an dem Stempel der Probespritze gezogen, so entleert sich die Tuberkulinspritze in entsprechendem Maß, wobei der Kolben nachgleitet. Anhand der sehr feinen Graduierung läßt sich die erforderliche Reagensmenge genau kontrollieren (Bild 3).

Hat man die Methode im Gelände angewandt, kann man nach beendeter Fällung und damit Fixierung die Probe dunkel und kühl transportieren. Hierzu eignet sich eine Dose mit leicht herzustellenden Styroporeinsätzen. Die Probe kann aber auch direkt nach dem Auflösen des Fixierungsreagens. durch Aufziehen von HCl oder H_3PO_4 in die Probespritze in einen kleinen Erlenmeyer-Kolben überführt und titriert werden. Für diese Feldmethode eignet sich eine einfache Bürette, hergestellt aus einer besonders schmalen und fein graduierten Spritze. Titriert man dagegen zu Hause, so ist eine kleinere Bürette oder eine Meßpipette mit einer Auslaufspitze an einem Gummischlauch mit Quetschhahn zu verwenden. Da im Gegensatz zur Winkler-Methode im Normalmaßstab feste Probemengen vorliegen, braucht man das Endergebnis nicht mehr in jedem Einzelfall zu berechnen, sondern kann für die vorkommen-

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

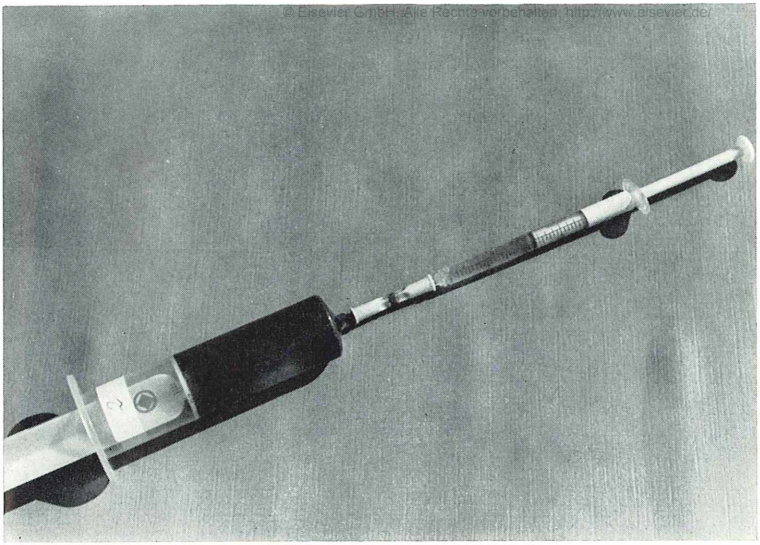


Bild 3: Aufsaugen von Fällungsreagens.

den Bereiche eine Wertetabelle erstellen und dann das Endergebnis immer sogleich ablesen.

Tabelle zur Bestimmung des Sauerstoffgehaltes je Liter:

Na-thiosulfat ml	mg 0_2/l
0,1	0,2
0,2	0,4
0,3	0,6
0,4	0,8
0,5	1
0,6	1,2
0,7	1,4
0,8	1,6
0,9	1,8
1	2
2	4
3	6
4	8
5	10
6	12
7	14
8	16
9	18
10	20

Beispiel eines Meßvorganges

Geräte:

1. 20 ml Spritze mit 15 cm langem Schlauch (Tygon) als Probespritze, Tuberkulinspritze 1 ml mit veränderter Kanüle
2. Reagensspritze A — mit $MnCl_2$ (80 g MnO_2/100 ml H_2O)
3. Reagensspritze B — mit KJ — NaOH 36 g NaOH, 20 g KJ/100 ml H_2O)
4. Flasche aus Polyäthylen (50 ml) mit Schlauchstück, gefüllt mit HCL konz. oder H_3PO_4
5. Erlenmeyerkolben (50 ml)
6. Meßpipette (10 ml) mit Schlauch mit Quetschhahn und Auslaufspitze mit 0,01 n Na-thiosulfat
7. Tropfflasche mit 1%iger Stärkelösung

Arbeitsschritte:

a. Mit der Spritze werden durch den Schlauch 20 ml Probewasser aufgezogen und dann die Spritze mit nach oben zeigendem Schlauch wieder entleert, wobei ein Rest Wasser im Schlauch verbleibt. Der Vorgang wird wiederholt bis die Spritze blasenfrei gefüllt ist.
b. Dann wird die mit Manganchlorid gefüllte Reagensspritze A aufgesetzt und eine Menge von 0,2 ml Reagens in die Probe-Spritze gesaugt.
c. Der gleiche Vorgang wird mit Reagensspritze B wiederholt.
d. Danach wird die Probespritze geschüttelt, um die Fällung zu erreichen. In dieser Form kann die Probe dunkel und kühl transportiert weden.
e. Aus der Polyäthylenflasche saugt man über ein Schlauchstück 0,5 ml Salzsäure oder Phosphorsäure in die Probespritze und löst unter Schütteln den Niederschlag, worauf die Probe in einen Erlenmeyerkolben von 50 ml gedrückt wird.
f. Nach Zugabe von 5 Tropfen Stärkelösung wird die Probe mit 0,01 n Na-thiosulfat bis zur Farblosigkeit titriert.

Literaturhinweise:

Winkler, L. W.: Die Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffs. Zeitschrift für analytische Chemie 53, 1914.
Hofer, B.: Eine einfache Methode zur Schätzung des Sauerstoffgehalts im Wasser. Allgem. Fischerei-Zeitung 1902.

Verfasser: Dr. Manfred Noll, PH Ruhr, Lehrbereich Biologie, Emil-Figge-Str., 4600 Dortmund 50.

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

Biologie in der Schule

Rolf Voßwinkel

Das Auge

Präparationsanleitung und Auswertung

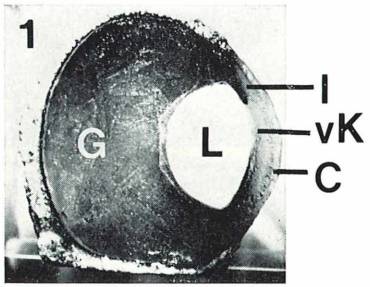
Augen frisch getöteter Rinder und Schweine werden tiefgefroren oder nach intraokularer Injektion einer 8%igen Formalinlösung in einer 5%igen Formalinlösung fixiert. Vor Gebrauch erfolgt ein gründliches Auswaschen (ca. 5 h).
Die Fotografien wurden mit einer Kleinbildkamera (Bilder 1, 2, 3, 5), einem Fotomikroskop (Bild 4) bzw. mit einer Stereolupe mit Aufsetzkamera (Bilder 6, 7) gemacht.

I. Beobachtungen am sagittal durchschnittenen Bulbus

Ein tiefgefrorenes Auge wird in Höhe des Sehnerven mit einer feinzähnigen Säge durchgesägt.
Deutlich setzt sich die Cornea (Hornhaut) gegen das in der vorderen Augenkammer befindliche Kammerwasser ab. Die hintere Augenkammer und der Ziliarkörper treten nicht klar hervor (Bild 1). Die Cornea weist in Höhe des Iriswinkels eine schwache Verjüngung auf. Nach einigen Millimetern wird die endgültige Stärke bei gleichmäßig zunehmender Wölbung zum Zentrum hin erreicht. Die Überdeckung der Linse durch die Iris, die Weite der Pupillenöffnung also, hängt vom Kontraktionszustand der Iris ab.
Eine Schichtung der Bulbuswandung ist nur bedingt zu erkennen; dagegen hebt sich das umgebende Bindegewebe deutlich ab.
Die bikonvexe Linse ragt mit der stärker gewölbten Rückseite beträchtlich in den Glaskörper hinein. Ein Vergleich der Linsenform von Rind und Schwein verdeutlicht, abgesehen von der unterschiedlichen Größe, die stärkere Wölbung der Linsenrückseite des Schweineauges. Hier liegt die anatomische Grundlage zum Verständnis der höheren Brechkraft der Linse des Schweineauges (Bild 2; * Dioptrie).

II. Die Innenseite der hinteren Bulbuswand

(Frische und fixierte Augen werden im äußeren Drittel mit Hilfe einer Präparierschere eröffnet; der Glaskörper wird mit einem Skalpell durchtrennt. Von einer Entfernung des Glaskörpers ist abzusehen, da sich andernfalls die Netzhaut (Retina) noch stärker vom Pigmentepithel abhebt. Der Glaskörper ist nämlich über Fibrillen mit der Retina (Membrana limitans interna) verbunden. Außerdem läßt sich durch Druck auf den Glaskörper die gefältelte Retina glätten.)
Zunächst erkennen wir als kreisförmige flache Scheibe den blinden Fleck * (Papilla optica). Hier treten die Blutgefäße ein bzw. aus. Bereits im blinden Fleck zweigt die Retinaarterie auf. Dünnere Gefäße ziehen



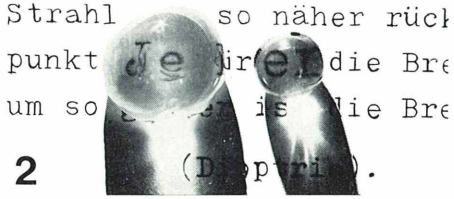


Bild 1: Rind. Bulbus, 10 : 1, sagittal. Abkürzungen s. Bild 7.

Bild 2: Linsentypen. 10×. Rechts — Schwein; links — Rind.

Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

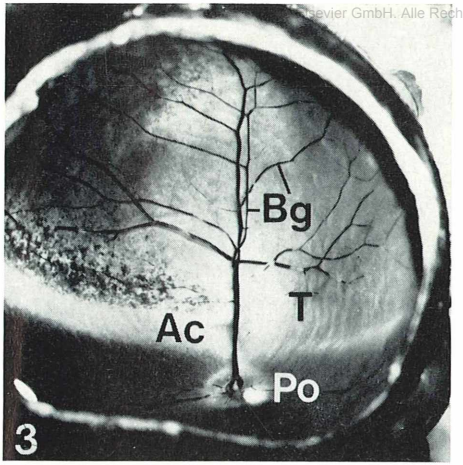


Bild 3: Rind. Innenseite der hinteren Bulbushälfte. 15 : 1.

seitwärts und zum Boden des Bulbus; eine stärkere Arterie steigt auf und verzweigt sich baumartig (Bild 3). Fast die gleiche Lage zeigen die Venen, die häufig parallel zu den Arterien verlaufen. Arterien und Venen lassen sich makroskopisch an ihrer Stärke unterscheiden; die ersteren sind in der Regel dünner als die letzteren. Die makroskopisch an der Oberfläche der Retina zu beobachtenden Blutgefäße grenzen an den Glaskörper. Sie liegen im allgemeinen unter der Membrana limitans interna, teilweise bereits in der Nervenfaserschicht der Retina, in der sie sich weiter aufzweigen, um bald in die tieferen Schichten der Retina abzubiegen. Diese können nur dann verfolgt werden, wenn sie noch mit Blut gefüllt sind (Bild 4).

Im blinden Fleck tritt häufig ein gefäßhaltiger Stumpf auf, Processus papillaris genannt (Lupenbetrachtung!). Dieser setzt sich aus Bindegewebe und der rudimentären Arteria hyaloidea zusammen, die Glaskörper und Linse während der Embryonalentwicklung des Auges versorgte. Diese Struktur darf nicht verwechselt werden mit dem Glaskörperkanal, der gelegentlich beim Rinder- und Schweineauge zu sehen ist.

Die tote Retina ist grau-beige gefärbt; im lebenden Zustand soll sie durchsichtig sein. Nach der Abhebung der Retina von der hinteren Wand des Rinderauges fällt das Tapetum auf. Dieser Teil der Aderhaut leuchtet orangegelb-grün, in der Regel grün bis tiefblau bei Betrachtung von frischen oder aufgetauten Augen. Die Farben werden durch das Pigmentepithel *, das sich teilweise bei der Ablösung der Retina von der Aderhaut (Chorioidea) abhebt, und durch die bläulich erscheinende, schwarz pigmentierte Lederhaut (Sclera) bedingt. Vor dem Tapetum ist das Pigmentepithel weniger stark entwickelt.

Das Tapetum lucidum, das in der geschichteten Aderhaut liegt, besteht bei Wiederkäuern und Pferden aus dichten kollagenen Faserbündeln und Pigmentzellen. Es reflektiert einfallendes Licht und fördert somit das Sehen bei geringer Lichtintensität. Dem Schwein fehlt ein Tapetum. In seinen Umrissen zeigt das Tapetum gewisse Schwankungen, die zur Abwandlung der Form eines gleichschenkeligen Dreiecks führen (Bild 3). Am geringsten ist davon die untere Tapetumgrenze betroffen. Sie liegt oberhalb des blinden Fleckes und zieht sich geradlinig nach beiden Seiten hin.

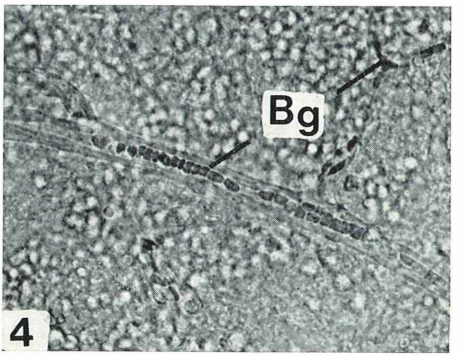
Oberhalb des blinden Fleckes an der unteren Grenze des Tapetums ist die streifenförmige Area centralis zu lokalisieren. Mit ihr registriert das Tier kleinste Bewegungen, die beispielsweise für den Menschen nicht mehr wahrnehmbar sind. Ein binokulares Sehen dagegen wird durch die runde Area centralis ermöglicht, die seitwärts (temporal) vom blinden Fleck, ebenfalls im unteren Bereich des Tapetums zu suchen ist. (Diese beiden bedeutsamen Bereiche der Retina sind makroskopisch nicht erkennbar; aufgrund ihrer Lagebeziehung zur unteren Tapetumgrenze und dem blinden Fleck kann dennoch eine ungefähre Angabe gemacht werden.)

III. Die vordere Bulbushälfte

(Die vordere Augenhälfte wird von der Innenseite betrachtet. Eine Entfernung des Glaskörpers ist nicht erforderlich, zumal auch hier die Schwierigkeit besteht, die Fibrillen des Glaskörpers vom Ziliarkörper zu lösen.)

Durch die Eröffnung des Augapfels bedingt, hat sich der lichtperzipierende Teil der Netzhaut von der Wandung abgehoben, und zwar bis zur Ora serrata (= O. terminalis *). An dieser deutlich erkennbaren Grenzlinie geht der lichtperzipierende Teil der Retina in den blinden Anteil über. Von

Bild 4: Rind. Blutgefäße in der Retina. 250 : 1.



© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

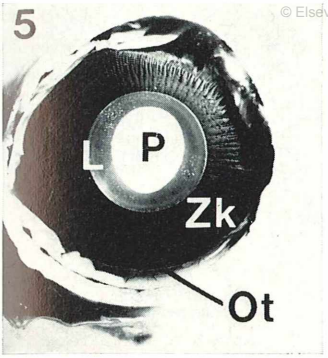


Bild 5: Rind. Innenseite der vorderen Bulbushälfte. 2 : 1.

der O. serrata linsenwärts liegt der Ziliarkörper (Bild 5).

Der Ziliarkörper stellt einen Kranz von radiär verlaufenden Falten dar, der die Linse konzentrisch umgibt. In der Regel läßt sich eine Zonierung feststellen (Bild 6). Im peripher gelegenen Bereich des Ziliarkörpers, dem sog. Orbiculus ciliaris, liegen feine, wenig erhabene Falten, die zwischen die kammartig aufgewellten Vorsprünge ausstrahlen. Die starken Falten bilden eine zweite Zone, Corona ciliaris genannt. Die Falten — als Kämme oder auch Ziliarfortsätze bezeichnet — reichen bis in die Nähe der Linse, ohne mit ihr Kontakt aufzunehmen. Eine Verbindung wird nur durch das Strahlenband hergestellt, das als Gesamtheit der Zonulafasern zu betrachten ist. Die Fasern sind Fibrillenbündel, die dem Epithel der feinen Falten des Orbiculus ciliaris und dem Epithel der starken Leisten der Corona ciliaris entspringen und mit der Linsenkapsel verschmelzen. An diesen Fibrillen hängt die Linse (Bild 7).

Hiervon kann man sich überzeugen, indem man die Grundplatte des Ziliarkörpers von dem tiefer liegenden Gewebe löst. Sodann läßt sich die Linse mit den freipräparierten Teilen des Ziliarkörpers abheben. Zur Darstellung der Zonulafasern können aufgetaute Augen verwendet werden. An diesem Material werden gelegentlich die Zonulafasern einer Lupenbetrachtung zugänglich, wenn aus dem durch den Gefriervorgang geschädigten Pigmentepithel der Iris beim Auftauen und Präparieren Pigment frei wurde und sich zwischen den Fasern ablagerte.

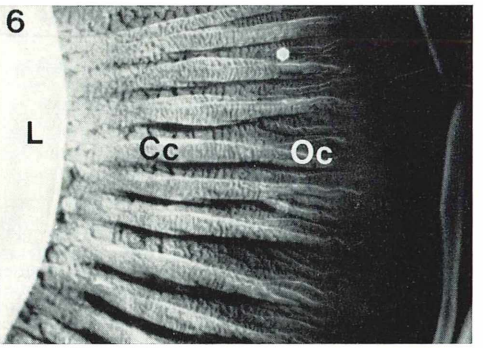
Vorteilhafter lassen sich fixierte Augen präparieren. Nach vorsichtiger Entfernung des Glaskörpers und der Cornea läßt man die vordere Augapfelhälfte über mehrere Stunden an der Luft trocknen. Danach hebt man die Linse einige Millimeter von der Iris ab, indem man durch die Pupillenöffnung gegen die Linse drückt. Dabei treten die Zonulafasern in ihrer Gesamtheit als glänzendes Strahlenband hervor (Bild 7). Als weiterer Präparationsschritt läßt sich die Linsenkapsel vom Linsenkern abheben.

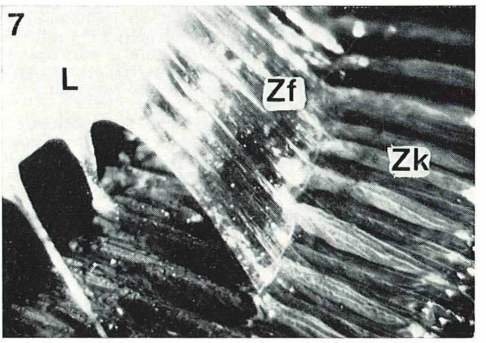
Nach Abhebung des Ziliarkörpers wird der Ziliarmuskel freigelegt. Der Muskel befindet sich zwischen Grundplatte des Ziliarkörpers und dem Sclera-Anteil der vorderen Bulbushälfte. Der Muskel ist als ein Ring angelegt, der in einem bestimmten Abstand zum Irisansatz bzw. dem Rand der hinteren und der vorderen Augenkammer (Iriswinkel) verläuft. Die Lagebeziehung der einzelnen Muskelfasern ist entsprechend ihrer Funktion als Teil des Akkommodationsapparates recht kompliziert.

Je nach Kontraktionszustand ist die dunkelbraune Irishinterseite glatt oder gewellt. Der Irisrand verleiht der Pupille eine länglich-ovale Form. Die in der Literatur für die Haussäugetiere beschriebenen Traubenkörner — warzenartige oder wulstige, in die Pupille vorspringende Sonderbildungen des Irisrandes — konnten nicht festgestellt werden.

Bild 6: Rind. Falten des Ziliarkörpers. 8 : 1.

Bild 7: Rind. Ansatz der Zonulafasern. 11 : 1.





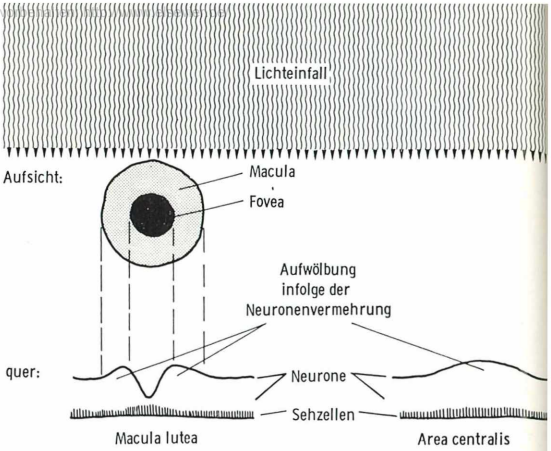
Abkürzungen für alle Bilder:

Ac Area centralis, *Bg* Blutgefäße, *Cc* Corona ciliaris, *C* Cornea, *G* Glaskörper, *I* Iris, *L* Linse, *Oc* Orbiculus ciliaris, *Ot* Ora terminalis, *P* Pupille, *Po* Papilla optica, *T* Tapetum, *vK* vordere Augenkammer, *Zf* Zonulafasern, *Zk* Ziliarkörper.

IV. Mikroskopische Betrachtung der Retina

Im Quetschpräparat der frischen Rinder-Retina sind zwar Zapfen und Stäbchen nicht auf Anhieb voneinander zu unterscheiden, dennoch wird ersichtlich, daß Rezeptoren unterschiedlicher Größe und Gestalt vorkommen. Die Außenglieder der Zapfen und Stäbchen unterscheiden sich nur in der Länge, nicht aber in ihrem Durchmesser und in ihrer Form. Das Innenglied der Zapfen ist dagegen im Durchmesser 3—4-mal stärker als das der Stäbchen.

Zapfen und Stäbchen sind im Verhältnis 1 : 15 über die Retina verteilt; im zentralen Retinabereich verschiebt sich das Verhältnis zugunsten der Zapfen (Mason et al. 1973). Insgesamt werden für Haus-Huftiere 280 000—425 000 Sehzellen pro mm² angegeben (Franz, 1934). Außerdem erkennt man bei der mikroskopischen Betrachtung die Kapillaren, die bis in die innere Körnerschicht der Retina ziehen und häufig mit Erythrozyten angefüllt sind (Bild 4).



Literaturhinweise:

1. *Bargmann, W.:* Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. Stuttgart, 1967.
2. *Franz, V.:* Höhere Sinnesorgane. In: Bolk, L., Göppert, E., Kallius, E. u. W. Lobusch: Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere. 2. Bd., 2. Hälfte. Berlin, Wien 1934.
3. *Ellenberger, W.* u. *H. Baum:* Handbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere. Berlin, 1932.
4. *Loeffler, Kl.:* Anatomie und Physiologie der Haustiere. Stuttgart, 1970.
5. *Mason, W. T., R. S. Fager* u. *E. W. Abrahamson:* Ultrastructure of the receptor and epithelial layers of the bovine retina. J. Anat. 115, 289—308 (1973).
6. *Stöhr, Ph., Möllendorff, W. v.* u. *K. Goerttler:* Lehrbuch der Histologie. Jena, 1969.
7. *Trautmann, A.* u. *J. Fiebiger:* Lehrbuch der Histologie und vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Haussäugetiere. Berlin, 1931.

Erklärung von Fachausdrücken

Area centralis: Aufwölbung der Retina zum Glaskörper hin. Sie kann streifen- oder kreisförmig angelegt sein und in beiden Formen oder einzeln in der Retina vorkommen. Die Verdikkung ist auf die vermehrte Anzahl der Neurone zurückzuführen, die den Sehzellen nachgeschaltet sind (→ erhöhte Sehschärfe). Inwieweit eine Vermehrung der Sehzellen und eine Verlängerung ihrer Außenglieder vorliegt und ob insbesondere die Stärke der inneren Körnerschicht und der Ganglienzellschicht erhöht ist, wie dies für die Macula lutea des Menschen zutrifft, kann für die Haussäugetiere nicht angegeben werden.

Macula lutea: Die beim Menschen so bezeichnete Stelle des schärfsten Sehens (=gelber Fleck); Sehzellen vorwiegend Zapfen; nachgeschaltete Neurone liegen zur Seite abgedrängt; aufgrund der erhöhten Zahl der letzteren erfährt die Retina eine Aufwölbung, die im Zusammenhang mit der Fovea besonders auffällt. Der Name deutet auf das nur an dieser Stelle eingelagerte gelbe Pigment hin (s. Abb.).

Fovea centralis: Vertiefung im Bereich der Macula lutea des Menschen bzw. in der Retina anderer Vertebraten; Stelle des schärfsten Sehens (für den Menschen bei Helligkeit); in der menschlichen Fovea treten nur Zapfen auf, die mit den nachgeschalteten Bipolaren und Ganglienzellen im Verhältnis 1 : 1 : 1 stehen. Diese nachgeschalteten Neurone werden seitlich verlagert und bedingen dadurch die reduzierte Schichtung der Retina unterhalb der Fovea. Eine Fovea fehlt den Haussäugetieren.

Akkommodation: aktive Einstellung des Auges auf eine bestimmte Entfernung; Haussäugetiere akkommodieren auf die Ferne, der Mensch auf die Nähe.

Bulbus: der Augapfel; seine Wand besteht aus der Lederhaut (Sclera), aus der von Blutgefäßen durchzogenen Aderhaut (Chorioidea) und der Netzhaut (Retina).

Cornea: Hornhaut; vorderer durchsichtiger Teil des Bulbus, dessen Grundlage das Sclera-Gewebe darstellt.

Dioptrie: Maßeinheit (D) für die Brechkraft des Auges. Das menschliche Auge hat eine Gesamtbrechkraft von 60 D. Weitere 14 D sind durch Akkommodation zu erreichen. 18 D liefert die Linse, die die Lichtstrahlen um so stärker bricht, je kräftiger sie gewölbt ist. Mit stärkerer Wölbung korreliert eine kürzere Brennweite. D=1 : f (f= Brennweite in Meter).

Iris: Regenbogenhaut; vorderer Abschnitt der Chorioidea; Regulation der Pupillenöffnung.

Linsenkapsel: vom Linsenepithel gebildete dünne (7—20 µm) äußere Hülle, die fest und durchsichtig ist; Ansatzstelle der Zonulafasern.

Ora terminalis: Grenze zwischen lichtperzipierendem und blindem Anteil der Retina; O. terminalis wird beim Menschen als O. serrata bezeichnet, da die Grenze hier gezackt verläuft (serra=Säge).

Papilla optica: Blinder Fleck; Retinastelle, an der die Sehzellen und Neurone fehlen; an dieser Stelle vereinigen sich die Ganglienzellfortsätze der Retina zum Augennerv und verlassen den Bulbus. Ebenfalls verlaufen hier die Blutgefäße, die in der Retina aufzweigen.

Pigmentepithel: äußeres Blatt der Retina, das an die Schicht der Sehzellen grenzt; pigmentiertes Epithel, das am Abbau der Außenglieder der Stäbchen und an den sog. retinomotorischen Erscheinungen beteiligt ist.

Retina: Sie besteht aus dem äußeren Blatt (* Pigmentepithel) und dem inneren Blatt des

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

Augenbechers. Das innere Blatt setzt sich zusammen aus den lichtempfindlichen Sehzellen (sog. Neuroepithelschicht) und den erregungsleitenden Neuronen mit dem Gliagerüst (sog. Gehirnschicht). In der Gehirnschicht verlaufen die Blutgefäße. Diese Differenzierung weist nur der lichtperzipierende Teil (Pars optica) der Retina auf, der durch die * Ora terminalis vom blinden Teil (Pars caeca) getrennt wird. Die Pars caeca bildet den Epithelüberzug des Ziliarkörpers und der rückwärtigen Irisfläche.

Sclera: Lederhaut; besteht aus straffem faserigen Bindegewebe, elastischen Fasern und Chromatophoren; verleiht dem Augapfel unter dem Druck des Glaskörpers und Augenkammerwassers die Form.

Tapetum lucidum: nicht bei allen Tieren vorkommende Sonderbildung in der Chorioidea; reflektiert einfallendes Licht.

Verfasser: Dr. Rolf Voßwinkel, Zool. Institut, Hüfferstr. 1, 4400 Münster.

Zur Einführung in die Mikroskopie

Peter Rietschel

Mikrokosmos — schon durch die Lupe

Die biologische Forschung der Gegenwart bereichert unsere Erkenntnisse vor allem durch ihren Vorstoß weit in den Bereich des Mikrokosmos hinein. Freilich kann der Laie diesem Vordringen nicht mehr mit eigener Anschauung folgen: Der Molekularbiologe vermittelt ihm das Neue lediglich in Modellen, der Elektronenmikroskopiker in Fotos. Selbst die Deutung dessen, was wir im Lichtmikroskop sehen, bereitet uns oft Schwierigkeiten. Das gilt vor allem, wenn wir das zu Untersuchende zuvor in Serien dünner Schnitte zerlegen und aus ihnen dann in unserer Vorstellung das Ganze wieder herstellen. Die Meinungsverschiedenheit der Forscher um den Feinbau der Leber oder um die Frage des geschlossenen oder offenen Blutkreislaufes in der Milz haben gezeigt, daß selbst das lichtmikroskopische Bild oft schwierig zu deuten ist. Dies geht umso leichter, je geringer die benötigte Vergrößerung ist; so hat sich der Brauch durchgesetzt, bei jeder Untersuchung mit der schwachen Vergrößerung zu beginnen und diese dann stufenweise bis zur benötigten Höhe zu steigern.

Das schwächste Objektiv des gebräuchlichen Lichtmikroskopes hat meist etwa dreifache Eigenvergrößerung bei einer numerischen Apertur um 0,10. Die „förderliche Vergrößerung" (nach Abbe die 500- bis 1000fache numerische Apertur) liegt daher zwischen 50- und 100fach. Mit dem in der Praxis gebräuchlichen zehnfachen Okular wird sie bei etwa dreißigfacher Gesamtvergrößerung erheblich unterschritten. Aber selbst bei ihr bleibt zwischen der Betrachtung mit unbewaffnetem Auge (in normaler Nahsehweite im Maßstab 1 : 1) und dem Beginn mikroskopischen Sehens eine Spanne, die in ihrer Größenordnung dem gesamten Vergrößerungsumfang des Lichtmikroskopes entspricht! Der „Mikrokosmos" als die Welt des unserem Auge nur mit technischen Hilfsmitteln Zugänglichen und der „Mesokosmos" als das mit unseren Sinnen unmittelbar Erfaßbare sind aber keine zwei durch eine Kluft getrennte Welten. Es gilt daher, die Spanne zwischen dem mit bloßem Auge noch Erkennbaren und dem Bereich der schwächsten Mikroskop-Vergrößerung zu überbrücken.

Zum Schauen in diesem Bereich dient das „Binokulare Präpariermikroskop". Solange es noch keine anderen Mikroskope mit Doppeltubus zum beidäugigen (binokularen) Sehen gab, nannte man es einfach das „Binokular". Sein Bild ist seitenrichtig und aufrecht, dazu dank der geringeren Vergrößerung bis in größeren Tiefenbereich scharf. Der verhältnismäßig große Abstand zwischen Optik und Objekt läßt das Beobachten im gewohnten Auflicht zu und erspart damit die mit dem Mikroskopieren verbundenen Vorbereitungen. Allen diesen Vorzügen steht nur ein Nachteil gegenüber: Das Binokulare Präpariermikroskop ist wie das übliche Mikroskop ein schweres Gerät für den Arbeitstisch, nicht aber zur ständigen Mitnahme ins Gelände. Wer draußen beobachten will, läßt es daheim.

Im Gelände und auf allen unseren alltäglichen Wegen tritt an seine Stelle ein kleines, unscheinbares und weniger kostspieli-

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

ges Gerät, dessen Leistung — vielleicht wegen dieser Eigenschaften — noch viel zu wenig gewürdigt wird: die Lupe. Der Bereich der Lupen-Vergrößerungen deckt sich gerade mit der Lücke zwischen dem Sehen mit unbewaffnetem Auge und dem mit schwächster Mikroskopvergrößerung. Wie man am Mikroskop mit wenigen, gut abgestuften Vergrößerungen auskommt, so auch bei den Lupen. So ist man mit einer 5- oder 6fachen, einer 10- oder 12fachen und einer etwa 20fachen Lupe für alle Beobachtungen gerüstet, und als ständiger Begleiter genügt sogar die mittlere von den Dreien. Mit der Vergrößerungszahl einer Lupe ist ja stets die „lineare" Vergrößerung gemeint. Unsere Zehnfache vergrößert daher alle Längen zehnmal, die Flächen hundert- und das Volumen unseres Objektes gar tausendmal! Da diese Lupe noch ein Gesichtsfeld von etwa 1,5 cm Durchmesser überschauen läßt, bleibt bei der Lupenbetrachtung noch die Verbindung zu dem mit bloßem Auge Überschaubaren gewahrt. Beim Erwerb einer Lupe sollte es auf einige Mark mehr nicht ankommen, da sich jede Mehrausgabe auf viele, viele Jahre verteilt — sofern man die Lupe nicht verliert! Eine gute Einschlaglupe gehört daher an die Leine wie jene Zehnfache, die Weihnachten 1910 die Eltern ihrem Siebenjährigen schenkten und die ihn seitdem in Freud und Leid durch ein ganzes Forscherleben begleitete. Ein anderer Aufbewahrungsort ist der Geldbeutel; hierfür eignet sich vor allem der 12fach vergrößernde „Fadenzähler" der Textilbranche, der einen Quadratzentimeter (also einen Umkreis von 14 mm Durchmesser) gut abbildet. Das Aufklappen des dreiteiligen Gerätes über zwei Scharniere ist freilich etwas zeitraubender als das Öffnen der Einschlaglupe.

Mikroskopieren will gelernt und geübt sein, das weiß jeder Mikroskopiker. Für die Lupe gilt vor allem eine Grundregel: Man soll sie immer mit sich führen! Wir greifen zu ihr ja nicht nur, um Bestimmungsmerkmale einer Pflanze oder eines Insektes aufzuspüren; als ständiger Begleiter ist sie uns ein Fenster in das Reich des Mikrokosmos und erschließt uns seine Wunder selbst in freien Minuten des Alltags.

Verfasser: Prof. Dr. P. Rietschel, Erich-Kästner-Straße 6, 6000 Frankfurt 60.

Kleine Mitteilungen

Anilinblau und Silbernitrat zur gleichzeitigen Darstellung von Zellkörpern und Faserbündeln im Zentralnervensystem verschiedener Entwicklungsstadien von Insekten

Bei Untersuchungen über die Morphogenese des Zentralnervensystems der Fliege *Phormia regina* Meigen gelang es den Verfassern nicht, mit Bielschowskys Silbermethode oder mit Larsens Modifikation der Holmesschen Silbermethode die Verbindung zwischen den Nervenzellkörpern der peripheren Rinde und den Faserbahnen des zentralen Neuropilems befriedigend darzustellen. Erst ein zufälliges Nachbehandeln der nach den erwähnten Methoden imprägnierten Schnitte mit wäßriger Anilinblaulösung erbrachte den gewünschten Erfolg. Möglicherweise wirkt das Silbernitrat wie eine der Beizen bei der Hämatoxylinfärbung. Nach einigen Versuchen wurde folgendes Verfahren entwickelt: 1. Das zu untersuchende Material wird 24 Stunden in alkoholischer Bouinscher Lösung fixiert, über die aufsteigende Alkoholreihe entwässert und mit Paraffin oder einem ähnlichen Einbettmedium durchtränkt. 5 μm dicke Schnitte werden mit Eiweiß auf Objektträgern festgeklebt. 2. Das Einbettmedium wird mit Xylol aus den Schnitten gelöst und die Objektträger werden über die absteigende Alkoholreihe in H_2O dest. gestellt. 3. Die Schnitte werden für eine halbe Minute in einem Gefäß mit einer ausreichenden Menge einer Silbernitratlösung behandelt (3 g $AgNO_3$, 0,5 ml Pyridin, 305 ml H_2O dest.). 4. Mit H_2O dest. wird gespült. 5. Das Silbernitrat wird reduziert durch Einstellen der Objektträger für eine Minute in eine Oxalsäurelösung (10 g Oxalsäure in 100 ml H_2O dest.). 6. Mit H_2O dest. werden die Schnitte gespült. 7. Die Objektträger werden für 2 Minuten in ein Färbegefäß mit einer ausreichenden Menge einer Lösung von 0,07 g Wasserblau I (Waterblue I von Harleco, C.I. No. 42775) gestellt. 8. Die Schnitte werden nun mit H_2O dest. gespült, bis der überschüssige Farbstoff entfernt ist. Überlanges Spülen bleicht die Farbe aus. 9. Die Objektträger werden 5 Minuten mit saurem Delafieldschem Hämatoxylin (Matheson, Coleman and Bell hematoxylin, C.I. No. 75290) gefärbt. Die Schnitte dürfen nicht mit 70%igem Alkohol, Lithiumcarbonat oder alkalischem Alkohol nachbehandelt werden. 10. Die Objektträger werden mit H_2O dest. gespült. 11. Rasch entwässern und in Canadabalsam einschließen. Die Silber-Pyridin-Lösung von Schritt 3 kann wiederholt verwendet werden, muß jedoch erneuert werden, wenn sich ein schwarzer Niederschlag zeigt. Nach Schritt 8 darf nicht zu lange gespült werden, da sonst der Farbstoff ausgewaschen wird.

Zugabe von einigen Tropfen Eisessig zu dem zum Spülen verwendeten H_2O dest. und zu den aufsteigenden Alkoholstufen verlangsamt das Ausbleichen. Dringend abzuraten ist von einer Phenolbehandlung der eingebetteten Gewebe, wie sie in der Insektenhistologie häufig angewendet wird. Andere Einschlußmedien als Canadabalsam führen zu einem allmählichen Ausbleichen des Farbstoffes. Mit dem geschilderten Verfahren gelang es, Faserzüge von Globulizellen in das Neuropilem und Faserzüge innerhalb des Neuropilems im Zentralnervensystem von *Phormia regina* Meigen während der Puppenphase klar darzustellen. Vergleichbare Ergebnisse wurden bei Larven und Imagines von *Sarcophaga bullata* und bei Nymphen von *Blattella germanica* erzielt.

Gundersen, R. W. and J. R. Larsen: Anilin blue and silver nitrate for staining developing insect nerve tissue. Stain Technol. **51**, 206—208 (1976).

Alexander Pareto

Gleichzeitige Knorpel- und Knochendarstellung bei Totalpräparaten formol-fixierter Wirbeltiere

Die hier geschilderte Methode für vergleichend-anatomische, embryologische und systematische Untersuchungen eignet sich wegen der Formolfixierung besonders für Museumsexemplare, die ja üblicherweise in Formol fixiert werden. Obwohl auch gute Ergebnisse mit schon längere Zeit fixiertem Material erzielt wurden, empfiehlt es sich, frisch fixierte Tiere zu verwenden. Kaulquappen läßt man vor der Fixierung 10—15 Minuten in sauberem Wasser schwimmen, damit sich eventuell vorhandene Schmutzpartikel vom Filterapparat der Kiemen lösen können, im übrigen sind keine besonderen Maßnahmen bei der Fixierung zu beachten, außer daß die Volumina aller verwendeten Flüssigkeiten das 10fache des Volumens der zu behandelnden Objekte betragen sollen. Fixiert wird in 10%igem Formol, dem man auf jeweils 200 ml 0,1 g Magnesiumcarbonat ($Mg(CO_3)_5$) zusetzt. Tiere, die von der Schnauzenspitze zum After 5—10 mm messen, werden 2 Tage fixiert, bei 15 mm 4 Tage. Formol ist gegenüber Äthanol-Eisessig als Fixierlösung vorzuziehen, weil Amphibien darin nicht so stark schrumpfen. Bei Fixierung in Glutaraldehyd werden die Objekte nachher nicht so durchsichtig wie nach Formolfixierung. Nach der Fixierung wird den Objekten die Haut abgezogen, die Eingeweide und die Augen werden entfernt. Pigmentiertes Bindegewebe läßt sich später, während des Mazerationsprozesses leicht abziehen. Unter schwach tröpfelndem Wasserhahn werden die Objekte ungefähr 12 Stunden gewaschen, dann in schwach fließendem oder 5—6mal gewechseltem destilliertem Wasser 2 Stunden. Zu langes Waschen sollte vermieden werden, weil die sauren Mucopolysaccharide des Knorpels, die durch Alcianblau spezifisch angefärbt werden, wasserlöslich sein können. Die Löslichkeit der sauren Mucopolysaccharide läßt sich durch Zusatz von 0,5—1,0% Cetylpyridinchlorid zur Fixierungsflüssigkeit verringern; dadurch wird auch die Färbezeit im Alcianblau verkürzt. Diese Behandlung kann jedoch zu einer gewissen Hintergrundanfärbung führen. Zur Färbung des Knorpels werden die Objekte gut abgetrocknet und für 24 bis 48 Stunden in die Alcianblau-Lösung (9 mg Alcianblau 8GX, 60 ml absolutes Äthanol, 40 ml Eisessig) gelegt. Dabei sollte oberflächlich liegender Knorpel deutlich gefärbt durchschimmern, obwohl noch nicht mazeriert und aufgehellt wurde. Während der Färbung sollte man zweimal täglich das Fortschreiten des Färbeprozesses kontrollieren. Zu langer Aufenthalt in der Färbelösung ist zu vermeiden. Zur Entwässerung nimmt man die Objekte aus der Alcianblau-Lösung heraus, trocknet sie gut ab und legt sie für 3—4 Tage in täglich gewechseltes absolutes Äthanol. Es ist sehr wichtig, daß den Objekten das Wasser vollständig entzogen wird, um eine Diffusion und ein Ausbleichen des Farbstoffes zu vermeiden. Zur Mazeration und Knochenfärbung kommen die Objekte für etwa 2 Tage in 0,5%ige Kaliumhydroxid-Lösung (KOH), der auf je 100 ml 3—4 Tropfen einer 0,1%igen Alizarinrot S-Lösung zugesetzt werden. Zur Aufhellung werden die Objekte aus der KOH-Alizarinrot-Lösung herausgenommen. gut abgetrocknet und über aufsteigende Glyzerin-Wasser-Stufen, z. B. 25%iges, 50%iges und 75%iges Glyzerin, in reines Glyzerin übertragen. Der Aufenthalt in jeder einzelnen Stufe sollte etwa 24 Stunden betragen. Zur Aufbewahrung und Auswertung werden die Objekte in reines Glyzerin übertragen, dem man einen kleinen Kristall Phenol zusetzt, um ein Verderben zu verhindern. Ergebnis: Knorpel erscheint dunkelblau, Knochengewebe erscheint purpurrot oder rosa gefärbt, die Muskulatur ist durchscheinend oder durchsichtig. Auf diese Weise wurden kleine Knochenfische, Salamanderlarven, Salamander, Kaulquappen, Frösche und Eidechsen gefärbt, bei größeren Objekten ist der Aufenthalt in den einzelnen Flüssigkeiten entsprechend zu verlängern.

Wassersug, R. J.: A procedure for differential staining of cartilage and bone in whole formalin-fixed vertebrates. Stain Technol. **51**, 131—134 (1976).

Alexander Pareto

Über den Einfluß verschiedener Fixiergemische auf tierisches Gewebe, insbesondere Säugetiermuskeln

Neun verschiedene Fixiergemische, nämlich Carnoy (ohne Chloroform), Susa, Bakers Formalin, 5%iges Formalin, 10%iges Formalin, 10%iges Formalin in physiologischer Kochsalzlösung, Bouin, Zenker und 2,5%iger Glutaraldehyd wurden an zwei verschiedenen Testobjekten ausprobiert. Um Volumenveränderungen nach der Fixierung und den verschiedenen nachfolgenden Schritten der Weiterverarbeitung zu untersuchen, wurden Gelatin-Albumin-Gele hergestellt. Nach der Fixierung wurden auch das Aussehen und die Härte der Gele protokollarisch festgehalten. Die verschiedenen Fixierlösungen ließen die Gele entweder schrumpfen oder schwellen, die anschließende Entwässerung und das Einbetten der Gele führten jedoch in allen Fällen zu einem Schrumpfen der Gele. Als zweites Testobjekt wurden Proben von Muskelgewebe von einer bestimmten Stelle im Musculus longissimus dorsi des Rindes in gleicher Weise wie die Gele mit den verschiedenen Fixiergemischen behandelt. Die schwellende oder schrumpfende Wirkung jedes einzelnen Fixiermittels wurde schriftlich festgehalten, ebenso, wie leicht sich die Paraffinblöcke mit den Testobjekten schneiden und wie gut sich die hergestellten Schnitte mit Mallorys Dreifachfärbung anfärben ließen. Die Durchmesser der einzelnen Muskelfasern wurden an Querschnitten ausgemessen und mit dem Durchschnittswert des Faserdurchmessers eines unfixierten Gefrierschnittes von frischem Muskelgewebe von der gleichen Entnahmestelle verglichen. Es zeigte sich, daß das jeweils getestete Fixiergemisch beim Gel und bei der Muskelprobe den gleichen Effekt hatte und daß andererseits nach Analyse von Varianztests die verschiedenen Fixiergemische miteinander verglichen verschieden starke Schrumpfung der Untersuchungsobjekte hervorriefen. Bei der Entscheidung für das beste Fixiergemisch wurde neben dem Ausmaß der Schrumpfung auch das allgemeine histologische Bild berücksichtigt. Dabei erwies sich von den getesteten Fixiergemischen Carnoy als das beste, und zwar nach fünfstündiger Fixierung; anschließend für 48 Stunden in 70%igen Alkohol übertragen, dann für 2 Stunden in 95%igen Alkohol legen und schließlich in absoluten, 2mal gewechselten Alkohol für eine Stunde. In wasser- und alkoholfreies Zedernholzöl für 24 Stunden übertragen; bei 58 °C mit zweimal gewechseltem Paraplast 8 Stunden lang durchtränken, in frischem Paraplast einbetten und 7 µm dick schneiden. Nach der Färbung mit DPX eindecken.

Stickland, N. C.: A detailed analysis of the effects of various fixatives on animal tissue with particular reference to muscle tissue. Stain Techn. **50**, 255—264 (1975).

Alexander Pareto

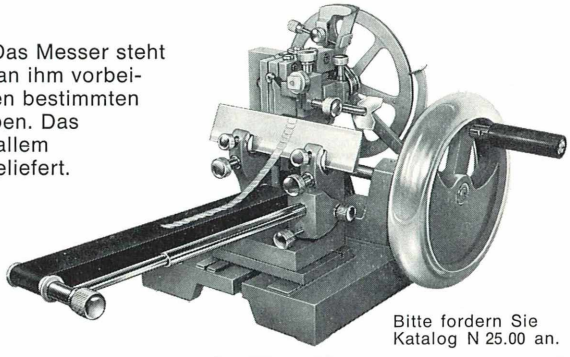
© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

KOSMOS-Rotationsmikrotom

nach dem bewährten Prinzip Minots: Das Messer steht fest, das zu schneidende Objekt wird an ihm vorbeigeführt und vor jedem Schnitt um einen bestimmten zuvor eingestellten Betrag vorgeschoben. Das Rotationsmikrotom wird komplett mit allem Zubehör einschließlich des Messers geliefert.

Best.-Nr. 855845. DM 1600,–
(Für Bezieher des MIKROKOSMOS DM 1550,–)

kosmos service-71
Postfach 640 D-7000 Stuttgart 1



Bitte fordern Sie Katalog N 25.00 an.

MIKROKOSMOS

Zeitschrift für angewandte Mikroskopie, Mikrobiologie, Mikrochemie und mikroskopische Technik

Organ der Deutschen Mikrobiologischen Gesellschaft Stuttgart, der Mikrobiologischen Vereinigung Hamburg, der Mikrobiologischen Arbeitsgemeinschaft Mannheim, der Mikrobiologischen Vereinigung München, der Mikrographischen Gesellschaft Wien, der Mikroskopischen Gesellschaft Zürich.

Inhalt

Roeser, K.-R.: Die Luftwurzel der Orchidee Dendrobium 65

Jung, Prof. Dr. J. und Prof. Dr. F. **Bukatsch:** Einheimische Hölzer: Mikroskopische Untersuchung. 1. Nadelhölzer: Douglasie, Fichte und Tanne 69

Dawid, W.: Fruchtkörperbildende Myxobakterien. IV. Die Melittangium-Arten: M. lichenicola, M. boletus, M. alboraceum 73

Patzelt, Dr. W. J.: Reflexionskontrast. Eine neue lichtmikroskopische Technik . . . 78

Göke, G.: Konversionsfilter für die Farbmikrofotografie 82

Unser Umschlagbild

Krauter, Dr. D.: Pollenmutterzellen der Lilie während der ersten Reifeteilung . . . 83

Winke fürs Labor

Noll, Dr. M.: Eine einfache Methode zur Sauerstoffbestimmung 86

Biologie in der Schule

Voßwinkel, Dr. R.: Das Auge. Präparationsanleitung und Auswertung 89

Zur Einführung in die Mikroskopie

Rietschel, Prof. Dr. P.: Mikrokosmos — schon durch die Lupe 93

Kleine Mitteilungen 94

Umschlagbild: Pollenmutterzellen der Lilie während der ersten Reifeteilung (Pachytän). Aufnahme Johannes Lieder. Siehe auch S. 83

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

E 20877 E

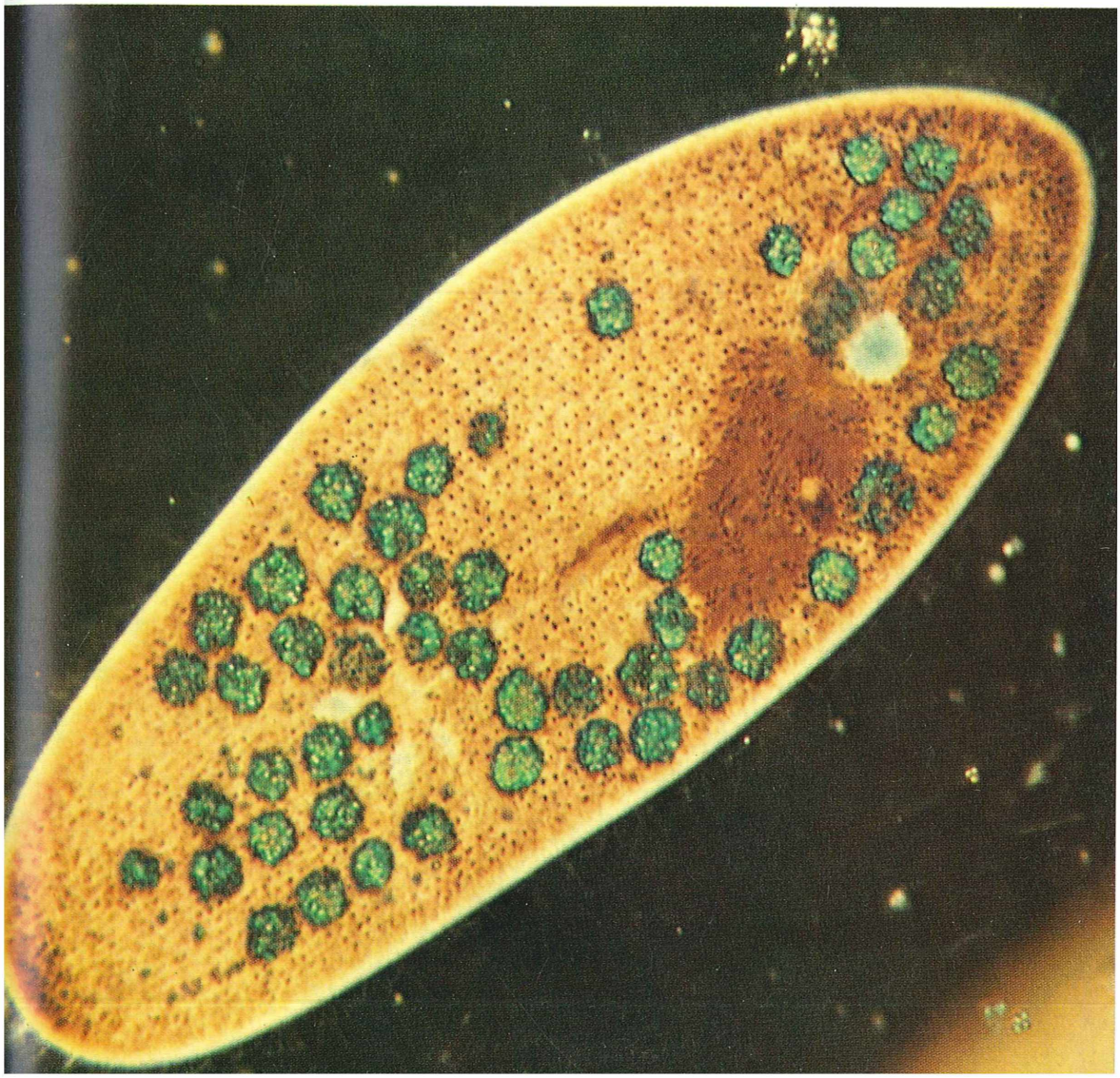
MIKROKOSMOS

66. Jahrgang · Heft 4/April 1977

Eine Zeitschrift aus dem Kosmos-Verlag

ISSN 0026-3680 66. 1977, Nr. 4, S. 97–128

Pantoffeltier im Interferenzkontrast



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

Franz Bukatsch
Josef Jung

Einheimische Hölzer: Mikroskopische Untersuchung

2. Nadelhölzer: Lärche und Kiefer

Bei unseren sommergrünen Lärchen finden wir die Nadeln an Lang- und Kurztrieben. Im ersten Jahr trägt jeder Langtrieb Nadeln, aus deren Achseln sich im zweiten Jahr Kurztriebe mit Nadelbüscheln entwickeln, die einige Jahre weiterwachsen können. Dagegen stehen Kiefernnadeln bei erwachsenen Bäumen nur an Kurztrieben. Ein- und zweijährige Keimlinge bilden auch bei Kiefern an Langtrieben Nadeln. Die Langtriebe tragen aber im weiteren Verlauf ihrer Entwicklung nur noch braune Schuppenblätter, aus deren Achseln sich Kurztriebe entwickeln.

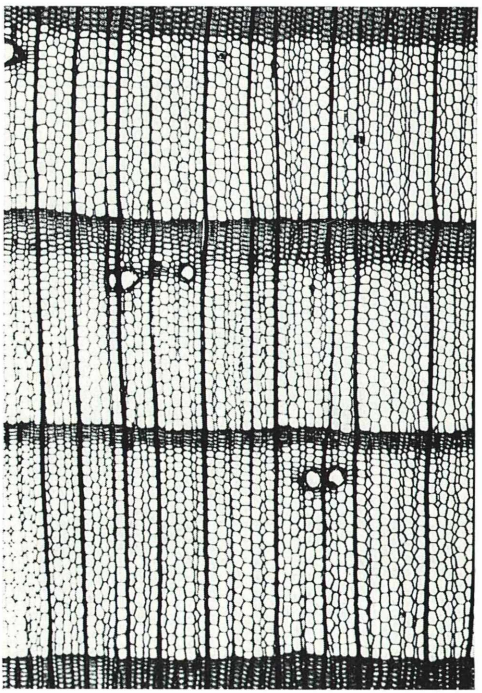
Das Lärchenholz wird überall verwendet, wo hohe Anforderungen an die Materialfestigkeit und Dauerhaftigkeit gestellt werden; es gehört zu unseren härtesten und zähesten Nadelhölzern. Deswegen findet man Lärchenholz im Erd-, Gruben- und Brückenbau ebenso wie in der Faßherstellung, wegen seiner Säurefestigkeit. Es wird verwendet im Bootsbau und im Hausbau für Fenster, Treppen, Türen, für Wand- und Deckenverkleidung und für Furnierzwecke.

Das Kiefern- oder Föhrenholz zeigt eine mittlere Härte, es ist nicht dauerhaft und bläuepilzanfällig. Verwendet wird es für Rammpfähle, Waggonböden, Tür- und Fensterrahmen und Eisenbahnschwellen. Es hat eine gewisse Bedeutung als Schindelholz, für Kistenherstellung, in der Rolladenindustrie, als Mastenholz und in der Faserplattenindustrie.

Bedeutsam sind die im Kiefernholz verlaufenden Harzgänge, aus denen bei Verletzung Harz austritt, das einen natürlichen Wundverschluß bildet. Für die Gewinnung von Harz zu wirtschaftlichen Zwecken werden Kiefernstämme künstlich nach verschiedenen Verfahren verletzt und dadurch zu einer vermehrten Harzbildung angeregt. Harze sind Gemische verschiedener Verbindungen; sie bilden zusammen mit ätherischen Ölen Balsame. Den Mikroskopiker interessiert, daß der in früheren Jahren zum Einschluß mikroskopischer Präparate allein übliche Kanadabalsam vor allem aus der Balsamtanne *(Abies balsamea)* gewonnen wird. Dieses blaßgelbe Harz dient auch zur Verkittung von Glaslinsen in der optischen Industrie. Zur Gewinnung von Terpentin aus Harz werden unsere Waldkiefer *(Pinus silvestris)*, die österreichische Schwarzkiefer *(Pinus nigra)* und die Strandkiefer *(Pinus maritima)* verwendet. Durch Destillation läßt sich das gelblich gefärbte Terpentinöl vom braunen Harz, dem Kolophonium, trennen. Ersteres wird besonders für die Lack- und Firnisherstellung und als Lösungsmittel für Farben verwendet, letzteres in der Lack- und Seifenindustrie und zur Linoleumherstellung. Auch in die Humantherapie und Balneologie haben die

Das Inhaltsverzeichnis finden Sie in diesem Heft auf S. 128

Bild 1: Querschnitt durch Lärchenholz, mit scharfer Früh- und Spätholztrennung.



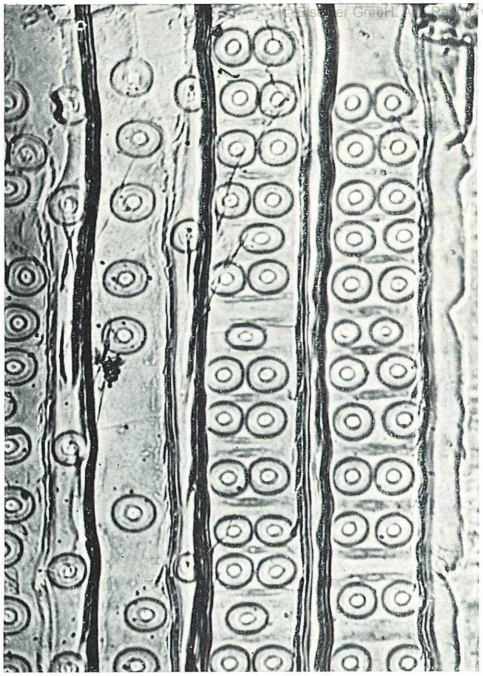
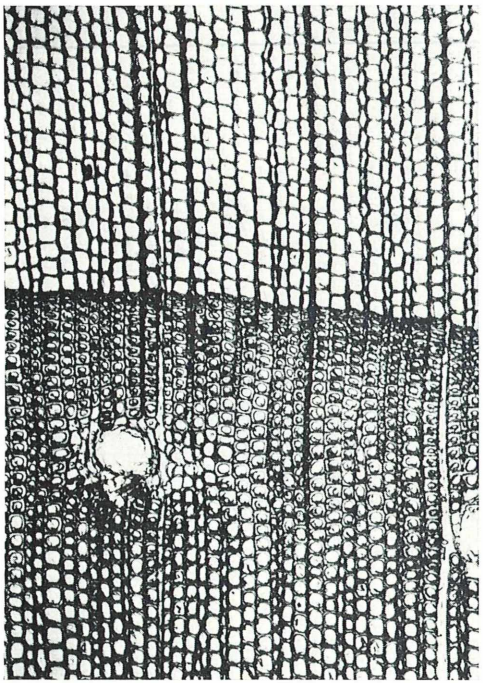


Bild 2: Radialschnitt durch Lärchenholz mit nebeneinanderliegenden Tüpfelpaaren.

Bild 3: Kiefer quer; Früh- und Spätholz mit Harzkanälen.



desodorierenden Harzbestandteile, z. B. Latschenkiefernöl, Eingang gefunden.

Im mikroskopischen Lärchenholzschnitt (Bild 1) sind die Jahresringe gut erkennbar, das Spätholz ist vom Frühholz scharf abgegrenzt, Harzkanäle finden sich im Spätholz. Der anatomische Bau ähnelt stark dem der in unserer ersten Mitteilung besprochenen Fichte. Allerdings zeigen sich im Gegensatz dazu in den Radialwänden der Tracheiden fast immer paarweise nebeneinanderliegende Tüpfel (Bild 2). Lärchensplintholz ist hell, Kernholz rotbraun gefärbt.

Auch das Kiefernholz zeigt gut erkennbare Jahresringe mit einer markanten Spätholzausbildung. Der Übergang vom Früh- zum Spätholz ist scharf (Bild 3). Die

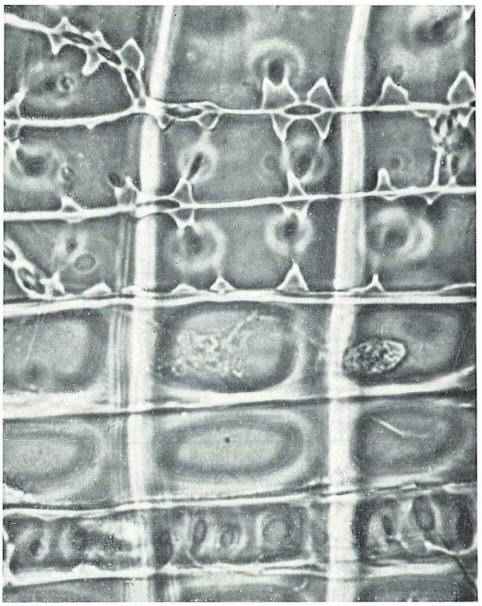


Bild 4: Radialschnitt durch Kiefernholz mit grob zackig verdickten Zellwandungen der Markstrahltracheiden.

Harzkanäle im Früh- und Spätholz sind von Parenchym umgeben. Es finden sich ein- und mehrreihige Markstrahlen; die Markstrahltracheiden zeigen bei unserer heimischen Kiefer grob zackig verdickte Zellwandungen (Bild 4), was gegenüber anderen Kiefernarten als charakteristisches Bestimmungsmerkmal gilt. So zeigt z. B. die Zirbelkiefer glattwandige Markstrahltracheiden.

Das Splintholz ist hellgelb, der Kern rötlichbraun gefärbt.

Verfasser: Prof. Dr. Franz Bukatsch und Prof. Dr. Josef Jung, Universität Augsburg, Eichleitnerstr. 30, 8900 Augsburg.

Teil I: Douglasie, Fichte und Tanne ist erschienen in MIKROKOSMOS 66 (H. 3), März 1977, S. 69.

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

Eric Grave

100 Jahre New York Microscopical Society

Die New York Microscopical Society wird am 14. November 1977 hundert Jahre alt — ein respektables Alter. Sie gehört damit zweifellos zu den ältesten Vereinigungen von Amateur- und Berufsmikroskopikern. In den USA ist nur eine Mikroskopische Gesellschaft noch älter: die American Microscopical Society of the City of New York, die erstmalig am 17. März 1865 zusammentrat. Einige Jahre lang haben beide Gesellschaften nebeneinander existiert; sie hatten sogar Mitglieder, die zu beiden Vereinigungen zu gleicher Zeit gehörten.

In Parenthese sei bemerkt, daß die American Microscopical Society of the City of New York nicht mit der heutigen American Microscopical Society, der nationalen Organisation, zu verwechseln ist. Diese wurde im August 1878 unter dem Namen American Society of Microscopists gegründet.

Die ersten verfassungsgebenden Versammlungen fanden in den Privatwohnungen der „Väter" der NYMS statt, die damals „uptown" waren, heute weit „downtown" sind. Insgesamt zählen 15 Mitglieder zu den Gründern. Es ist nicht ohne Interesse, sich New York in den 70er Jahren des vergangenen Jahrhunderts vorzustellen. Das American Museum of Natural History, in dem die Geschäftsstelle der NYMS heute untergebracht ist und wo die Versammlungen stattfinden, war erst geplant. 1877 ist das Jahr, in dem Alexander Graham Bell das erste Telephon demonstrierte und bis zum Oktober 1878 waren nur soviele Telephone installiert, daß das New Yorker „Telephonbuch" eine einzige Seite füllte! Die Brooklyn-Brücke ist erst am 24. Mai 1883 eröffnet worden. Wer in Brooklyn wohnte und einer Versammlung der NYMS in Manhattan beiwohnen wollte, mußte erst eine Pferdedroschke nehmen, die ihn zur Eastriver-Fähre brachte. Nach Überqueren des Flusses mußte er wieder eine Droschke nehmen oder mit der Pferdebahn zur 21. oder 23. Straße fahren, wo die frühen Versammlungen stattfanden. Eine Versammlung in der Bronx machte es notwendig, ein Mitglied aus Brooklyn über Nacht unterzubringen.

Der erste Präsident der NYMS war *J. D. Hyatt,* ein Biologielehrer, der sich hauptsächlich mit Diatomeen befaßte. Der gegenwärtige Präsident ist *Bernard Friedman,* auch er ursprünglich Biologielehrer, heute Direktor der Nikon Instrument Division. Wissenschaftlich widmet er sich Chromosomenuntersuchungen.

Die Liste der Präsidenten der 100 Jahre umfaßt 55 Namen. Besonders bemerkenswert ist *George E. Ashby,* der das Amt für die Jahre 1901, 1902 und 1905—1917 übernahm und 67 Jahre lang Mitglied war. Er starb 1953. Zu seinen Ehren wurde 1954 der Ashby-Preis gestiftet, der Mitgliedern verliehen wird, die sich um die Gesellschaft besonders verdient gemacht haben. Ein anderer Preis, der Abbe-Preis, ist für Wissenschaftler reserviert, die auf dem Gebiet der Mikroskopie hervorragende Leistungen aufzuweisen haben. Bisher ist nur *Nomarski,* der das Interferenzkontrastverfahren entwickelte, mit diesem Preis ausgezeichnet worden.

Es ist nicht möglich oder wünschenswert, im Rahmen dieses Aufsatzes auf jeden einzelnen Präsidenten einzugehen. Viele waren Liebhabermikroskopiker mit den unterschiedlichsten Interessen. Sie alle haben in der einen oder anderen Form zur Förderung der Mikroskopie beigetragen. Viele haben Schulungskurse an Sonnabenden geleitet.

Einige Präsidenten haben jedoch bleibende Leistungen vorzuweisen, und sich als Autoren einen Namen gemacht.

Roy M. Allen (1917—1920) hatte ein encyclopädisches Wissen auf allen Gebieten der Mikroskopie. Sein Fach war industrielle Beratung. Seine Dienste wurden von industriellen Firmen in Anspruch genommen, wenn Produktionsprobleme mit mikroskopischen Methoden zu lösen waren. Er hat zwei Bücher geschrieben: „The Microscope" (1940), das 6 Auflagen erlebt hat und „Photomicrography" (1941).

Robert Hagelstein (1923—1924) ist durch ein

Buch über Myxomyceten (Schleimpilze) bekannt geworden.

George H. Needham (1931—1932) ist heute wohl einer der bekanntesten Autoren der mikroskopischen Literatur mit seinem nunmehr klassischen Werk „The Practical Use of the Microscope" (1958).

Joseph F. Burke (1934—1935) bedarf besonderer Erwähnung, denn er hat — obwohl Liebhabermikroskopiker — in der Diatomeenforschung Außerordentliches geleistet. Das Jahrbuch 1957 enthält einen Aufsatz aus seiner Feder mit dem ungewöhnlichen Titel „Diatoms for the Businessman" (Kieselalgen für den Geschäftsmann), in dem er die faszinierende Beschäftigung mit diesen Kunstwerken der Natur denen empfiehlt, die einen in jeder Beziehung naturfremden Beruf ausüben müssen. Heute lebt Herr Burke im Ruhestand. Er hat ein Laboratorium im Staten Island Museum of Arts and Sciences, Staten Island, N.Y., in dem er sich in täglicher 8stündiger Arbeit den taxonomischen Fragen der Diatomeen-Welt widmet. Zahllose Veröffentlichungen auf diesem Gebiet sind die Früchte dieser Arbeit. Präsident *Warren E. Flint* (1951) ist einer seiner treuesten Mitarbeiter.

F. Gorden Foster (1953), ein früherer Ingenieur der Bell Telephone Laboratories, arbeitet im Ruhestand über Farne und hat zwei Bücher veröffentlicht: „The Gardener's Fernbook" und „Ferns to know and Ferns to grow".

1956 wurde eine Frau zur Präsidentin gewählt: *Pauline Holbert,* eine Elektronenmikroskopikerin. Sie hatte ihr eigenes Elektronenmikroskop, vielleicht (zu dieser Zeit) das einzige, das in einem Privathaus auf dem Lande installiert war. Seither haben wir drei weitere Präsidentinnen zu verzeichnen, die den fortschrittlichen Geist unserer Gesellschaft bezeugen.

Schließlich sei *George S. M. Cowan* erwähnt, der leider kürzlich verstorben ist. Dr. Cowan war Arzt. Sein Interesse auf dem Gebiet der Mikroskopie galt vor allem der Geschichte. Er sammelte antike Mikroskope und besaß eine phantastische Kollektion — und ein enormes Wissen über die Entwicklung dieses Instruments.

Das Organ der NYMS war das *Journal of the New York Microscopical Society.* Die ersten Jahrgänge sind wahre Fundgruben interessanter Informationen. Nur einige Beispiele können hier erwähnt werden. Der Protozoologe *Alfred C. Stokes,* dessen Arbeiten in Kudos „Protozoology" erwähnt sind, berichtet über „A new symbiotic Infusorian", *Leucophrys emarginata.* Das beschriebene Wimpertierchen enthält Zoochlorellen, mit denen es (ähnlich wie *Paramecium bursaria*) in einer symbiontischen Beziehung lebt. Stokes berichtet übrigens, er habe im Fundort, einem Sumpf in New Jersey, viele Formen beobachtet, „von denen die meisten noch unbekannt sind". Welchem Mikroskopiker unserer Zeit ist es vergönnt, noch unbekannte einzellige Organismen in einem Sumpf oder Teich gleich in Mengen zu entdecken! (Band I, No. 6, Juni 1885.)

Im Band III, No. 4, Oktober 1887 schreibt *George F. Kunz* über „Die neuen künstlichen Rubine". Er war der Sachverständige der bekannten Juwelenfirma Tiffany in New York. Diese Firma hatte große Rubinsteine aus Genf erhalten, über deren Echtheit Zweifel bestanden. Kunz hat durch mikroskopische Untersuchungen den Verdacht bestätigt. Die Natur gewisser Einschlüsse in den Steinen erlaubte den Nachweis, daß die Fälschungen in einem Schmelzprozeß entstanden waren.

Ein ungewöhnliches Thema wird im Band VIII, No. 3, Juli 1892 behandelt. Das war das Jahr, in dem der Elektrische Stuhl in New York eingeführt worden war. Das erste Opfer war ein Mann namens Kemmler. *Samuel Lockwood,* ein regelmäßiger Mitarbeiter des „Journal", berichtet über die Wirkung des elektrischen Schocks auf die roten Blutkörperchen des Hingerichteten. Blut wurde fünf Minuten nach der Hinrichtung jenen Körperteilen entnommen, die im direkten Pfad des Stromes lagen (Kopf und Schenkel). Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß keine einzige Zelle unbeschädigt geblieben war; ihre Größe war um 1/3 reduziert, viele waren zerdrückt oder verzerrt; bei anderen war der Zellinhalt ausgeflossen.

Die Veröffentlichung des „Journal" endete 1902. In späteren Jahren sind sporadisch Jahrbücher herausgekommen. Seit einem Jahr gibt die Gesellschaft vierteljährlich unter Leitung von *Hal Bowser,* Senior Editor der Zeitschrift „Saturday Review", einen „Newsletter" heraus, in dem auch ausgewählte Beiträge des „Mikrokosmos" exzerpiert sind, um die Arbeiten deutscher Kollegen den Mitgliedern des NYMS zugänglich zu machen.

Der New York Microscopical Society sei an dieser Stelle weiterhin ein langjähriges erfolgreiches Wirken gewünscht.

Dieser Bericht basiert im Wesentlichen auf dem Artikel „The History of the NYMS 1877—1977" von W. W. Clay und J. F. Burke, der anläßlich des Jubiläums der Gesellschaft im Jahrbuch 1977 erscheinen wird. Beiden Herren danke ich dafür, daß sie mir die Daten zur Verfügung gestellt haben.

Verfasser: Eric V. Grave, 651 West 171th Street, New York 10032, N.Y. USA.

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

Kurt von der Dunk
Klaus von der Dunk

Laubmoose in fließendem Wasser

Moose lieben Feuchtigkeit. Daß sie auch das Wasser zum Daueraufenthalt auswählten, ist daher nicht verwunderlich.

Ein Leben unter Wasser stellt aber z. T. gänzlich andere Anforderungen an Gestaltung und Lebenszyklus, als es der Aufenthalt auf dem Trockenen in der Luft mit sich bringt. Daher ist es reizvoll, sich mit der Beobachtung von Wassermoosen und ihrer Anpassung an die ihnen gegebenen Umweltfaktoren zu befassen.

Ob Wasser steht oder fließt, bringt verschiedene Anforderungen mit sich. In diesem Beitrag sollen nur Beispiele einiger Wasser-Laubmoose besprochen werden, die ihren Standort in strömendem Wasser haben.

Abgesehen davon, daß eine Anzahl Moose, deren Lebensraum sich außerhalb des Wassers befindet, auch im Wasser leben können und sich in ihrem Habitus zwangsläufig — in Varianten — den geänderten Bedingungen angepaßt haben, gibt es einige wenige Moose, die ausschließlich in Wasser, submers, gedeihen, auf dem Trockenen aber auf die Dauer nicht bestehen können.

Zu diesen eigentlichen „Wassermoosen" (Hydrophyten) gehören das verhältnismäßig seltene Achtgabelzahnmoos *Octodiceras julianum,* einige Arten der Gattung *Cinclidotus* oder Gitterzahnmoos (von gr. cinclidotos=Gitter) und das Quellenmoos *Fontinalis* (von fons=Quelle).

Diese untergetaucht lebenden Moose haben eine optimale Wasserversorgung. Einrichtungen vieler Laubmoose auf dem Trockenen, die Wasserversorgung sicherzustellen, können fehlen. Die allen Moosen eigentümliche Fähigkeit, mit der ganzen Oberfläche Wasser aufnehmen zu können, ist unter Wasser naturgegeben. Ein Trockenfallen des Wasserlaufes, auch ein periodisch bedingtes, wird von diesen Wassermoosen nicht *(Octodiceras)* oder nur vorübergehend *(Cinclidotus, Fontinalis)* vertragen. Sie wachsen daher vorwiegend unter der Mittelwassergrenze.

Wasser kann in Bächen und Flüssen unterschiedlich schnell fließen. Die jeweilige Geschwindigkeit stellt auch unterschiedliche Aufgaben, denen die anatomischen Einrichtungen der Moospflanze gerecht werden müssen. Während in stehenden Gewässern Pflanzen frei schwimmen können, an der Oberfläche oder untergetaucht, müssen sie sich in der strömenden Flut an Gegenständen im Wasser fest verankern, damit sie nicht weggeschwemmt werden. Dazu dienen die Rhizoide, eine Art von Wurzeln. Stärke und Zahl wird von der Kraft des strömenden Wassers bestimmt und erreicht bei Moosen an Wasserfällen und Stauwehren eine solche Haltekraft, daß man die Moose mit der Hand kaum losreißen kann. In den dicht verfilzten Rhizoiden von *Octodiceras* wachsen übrigens regelmäßig verschiedene Algen, vor allem die zierlich verzweigte Alge *Cladophora glomerata,* die sich so ebenfalls vor dem Weggeschwemmtwerden schützt.

In der starken Strömung kann sich meist nur *Octodiceras* halten, ein dunkel- bis schwarzgrünes, etwa 3—5 cm langes Moos, das nicht sehr häufig ist und dessen Stengel den starken Zugkräften gewachsen sind. Sie wirken in ihrer mechanischen Konsistenz fast wie Draht. Entgegen den rippenlosen, flach ausgebreiteten Blättern vieler Wassermoose haben die Blätter von *Octodiceras* aber starke Blattrippen, die ihnen eine größere Festigkeit verleihen. Dazu tragen die Blätter eine teilweise Verdoppelung der Blattlamina, mit der alle Blätter, vor allem die der Sproßspitze, auf einander reiten und so den jüngeren Blättern einen erhöhten Schutz gewähren (Bild 1). Trotzdem sieht man an den in der starken Strömung des herabstürzenden Wassers flutenden Stengeln des Mooses, daß deren Blätter oft stark zerrissen sind, und manchmal nur noch die Blattrippen übrig blieben, die dem drahtigen Stengel ansitzen. Die jüngeren Blätter der Sproßspitze sind dagegen noch einigermaßen intakt. In den ursprünglichen Blattachseln bilden sich Brutknospen, deren fest geschlossener Blattschopf zwar auch schon die zerreißende Wirkung des Wassers zeigt, die sich aber nach kurzem Wachstum von der Mutterpflanze loslösen und fortschwimmen.

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

Vorher haben sich an ihrer Basis schon Rhizoide gebildet, mit denen sich die Jungpflanzen (Bild 2) an geeigneter Stelle wieder festklammern können. Diese vegetative Vermehrung sorgt für die Erhaltung der Art. *Octodiceras* meidet kalkhaltiges Wasser.

Bei *Cinclidotus* haben die Blätter ebenfalls Blattrippen, die besonders stark sind. Von dieser Familie kommen drei Arten in fließendem Wasser vor, nämlich *Cinclidotus fontinaloides,* bis 10 cm lang, dunkeloliv bis schwärzlich, *Cinclidotus nigricans* (früher *riparius*), bis 8 cm lang und *Cinclidotus aquaticus* mit sichelförmigen, einseitswendigen Blättern, bis 12 cm lang. Im Süden gibt es noch eine vierte Art, *Cinclidotus danubicus.* Die Blattränder aller Arten sind gegen Einreißen durch einen mehrschichtigen Saum verstärkt (Bild 3). Trotzdem findet man auch hier oft an den älteren Stengelteilen nur noch Reste von Blättern oder Blattrippen. *Cinclidotus* liebt mehr die Mittelwasserzone im Gegensatz zu *Octodiceras,* das in jedem Fall unter der Niedrigwasserlinie bleibt. *Cinclidotus* kann vorübergehend auch in der Spritzwasserzone überleben. Es bevorzugt kalkhaltige Gewässer.

In langsam fließenden Gräben, Bächen und Flüssen wedeln in der Strömung oft langgestreckte, bis zu einem halben Meter große, dunkel- bis gelbgrüne Stengel des Quellmooses *Fontinalis antipyretica.* Die schlaffen Stengel sind reich verzweigt. Die Zweige legen sich in dem fließenden Wasser parallel dem Hauptsproß, von dem sie sich nicht unterscheiden. Die Blätter haben keine Rippe, gewinnen aber dadurch an Steife und Widerstandskraft, daß sie scharf kielig gefaltet sind und sich gegenseitig dachziegelig decken (Bild 4). Sie stehen in drei Reihen am Stengel, der somit ein dreikantiges Profil (Bild 5) erhält, eine Stromlinienform, die auch stärker strömendes

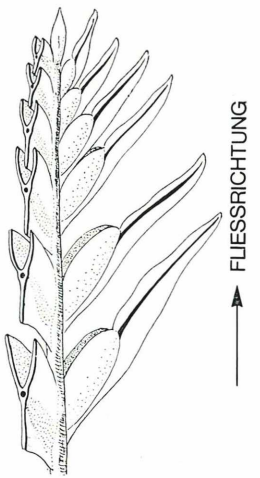


Bild 1: Reitende Blätter von *Octodiceras.* Schemazeichnung.

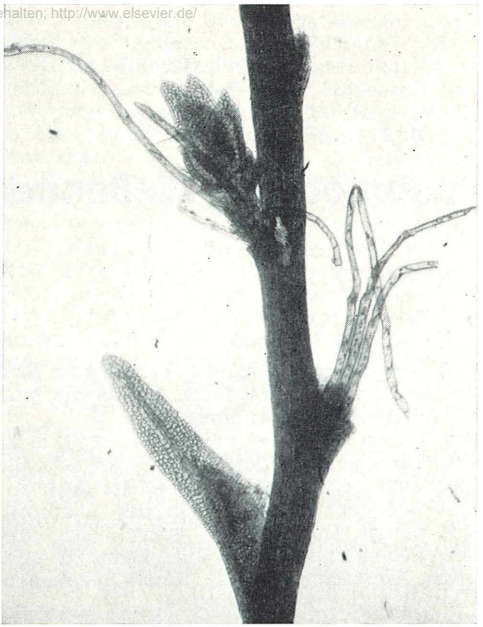


Bild 2: Entblätterter Stengel von *Octodiceras* mit Brutknospe und Rhizoiden in den alten Blattachseln, sowie Jungpflanzen.

Wasser leicht vorbeistreichen läßt. Dabei legen sich die Blätter dem Stengel dicht an, während sie in ruhigerem Wasser mit ihm einen mehr oder weniger großen Winkel bilden. So kann man aus der Blattstellung bereits auf die Strömungsgeschwindigkeit schließen.

Das Moos kommt sowohl in kalkärmerem als auch in kalkreicherem Wasser vor. Vegetativ vermehrt es sich durch fortgeschwemmte, abgerissene Sproßteile, die irgendwo hängenbleiben und sich mit am Stengel sprossenden braunen Rhizoiden neu verwurzeln.

Fontinalis verträgt ebenso wie *Cinclidotus* vorübergehendes Trockenfallen der Wasserläufe, vorausgesetzt, daß Spritzwasser den Pflanzen genug Feuchtigkeit verschafft, damit die embryonalen Teile überleben können.

Zu einem überwiegenden Teil geschieht die Vermehrung bei den Wassermoosen also vegetativ und man findet daher die Moose meistens steril!

Geschlechtsorgane, die männlichen Antheridien und die weiblichen Archegonien, werden zwar oft angelegt, auch Sporenkapseln sind bekannt (Bild 6). Aber die in fließendem Wasser gegebenen Bedingungen sind für die zur geschlechtlichen Fortpflanzung notwendige Vereinigung von Spermatozoiden und Eizellen äußerst ungünstig. Besonders gilt das für die diözischen Moose *Cinclidotus* und *Fontinalis,* bei denen

männliche und weibliche Pflanzen voneinander getrennt wachsen. Die Spermatozoiden werden vom Wasser weggeschwemmt, ebenso die in den Archegonien sich bildenden Anlockstoffe. So ist die Bildung von Sporenkapseln unter natürlichen Bedingungen äußerst selten bis auf *Cinclidotus* (Bild 7), das häufig in der Spritzwasserzone wächst. Bei *Octodiceras* haben wir zwar ein monözisches Moos vor uns, bei dem Antheridien- und Archegonienstände oft eng nebeneinander in ein- und derselben Blattachsel stehen. In strömendem Wasser kommt es trotzdem selten zur Vereinigung mit nachfolgender Entwicklung einer Sporenkapsel. Eher schon in Brunnentrögen, ohne Fließgeschwindigkeit, in denen *Octodiceras* meist konkurrenzlos auch häufig wächst.

Bei *Cinclidotus* und *Fontinalis* sowie anderen dem Wasserleben angepaßten Moosen hat man vielfach davon gesprochen, daß ein zeitweiliges Trockenfallen der Wasserläufe notwendig wäre für die Ausbildung von Sporenkapseln. Nach genauen Untersuchungen und Versuchen hält Elßmann aber das Stadium *vor* dem Trockenfallen für die günstigste Zeit. Eine Reihe von Bedingungen sind zu erfüllen. Zunächst muß das Wasser stehen oder wenigstens nur schwach fließen. Beide Geschlechter müssen auf engstem Raum beieinander wachsen. Je kleiner das Wasserbett ist und je niedriger das Wasser steht, was dem Trockenfallen sehr nahe kommt, desto eher besteht Aussicht, daß die Spermatozoiden die Eizellen finden. Diese optimalen Bedingungen sind aber an natürlichen Standorten selten gegeben. z. B. in engen, niedrigen Wassergräben, in denen *Fontinalis* oft in dichten Büscheln wächst.

Ist aber erst einmal eine Vereinigung erfolgt, kann der Embryo auch unter Wasser weiterwachsen. Bei *Fontinalis* ist es sogar zur Sporenreife gekommen. Bei *Octodiceras* findet sich eine Sporenkapselentwicklung am ehesten an natürlichen Standorten in

Bild 3: Blattquerschnitt von *Cinclidotus aquaticus* mit verstärktem Blattsaum.

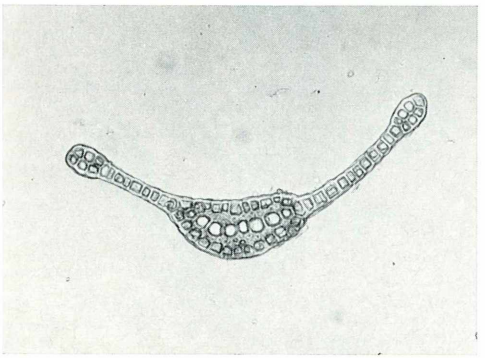


Bild 4: Dreizeilige Blattanordnung bei *Fontinalis*, Schemazeichnung.

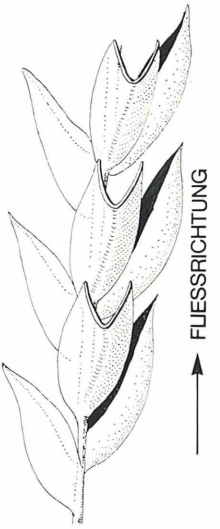
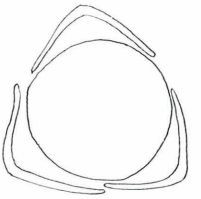


Bild 5: Schematischer Querschnitt durch die *Sproßspitze von Fontinalis.*



Brunnentrögen, bei *Cinclidotus* wohl in der Spritzwasserzone.

Das Ausreifen der Kapseln und das Ausstreuen der Sporen allerdings wird meist verhindert, wenn die Moose wieder unter Wasser geraten.

Elßmann stellte bei seinen Überprüfungen fest, daß die Kapseln oft gar keine oder nur sehr wenige Sporen enthielten. Vor allem aber öffnet sich der Deckel der Kapsel unter Wasser nicht, höchstens durch mechanische Beeinflussung von außen. Der eigentliche Öffnungsmechanismus wird ja erst beim Eintrocknen der Kapsel in Gang gesetzt. Die bei gereiften Kapseln gefundenen Sporen waren keimfähig (Elßmann). Sie gehen aber bei längerem Verbleiben unter Wasser, eingeschlossen in der Kapsel, zugrunde. Die Sporogone lösen sich ab, schwimmen fort oder fallen in ruhigerem Wasser zu Boden. Dort kommen aus der Haube, von deren Innenseite sprossend, Protonemafäden hervor, an denen — vegetativ — neue Moospflanzen entstehen (Protonema = Vorkeim).

Interessant ist, daß in der Ausbildung des Peristoms an der Kapselmündung sowohl bei *Fontinalis* (Bild 8) als auch bei *Cinclidotus* die Peristomzähne gitterartige Strukturen zeigen. Kommt die geöffnete Kapsel unter Wasser, bleiben in den Gitteröffnungen Luftblasen hängen, wodurch ein Naßwerden der Sporen verhindert wird: Eine Einrichtung, die in der Praxis wohl kaum einmal in Funktion treten wird.

Bei *Octodiceras* ist das Peristom reduziert. Bei *Cinclidotus* erleiden schon die Geschlechtsorgane Wachstumshemmungen, die auf äußere Einwirkungen zurückzuführen sind, und die sie degenerieren lassen. Durch die reichlich vorhandene Feuchtigkeit bietet das Wachstum unter Wasser vegetativ

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten



Bild 6: Sporenkapsel mit Deckel von *Fontinalis*. Die Kapsel hat nur eine sehr kurze Seta und scheint daher in der Blattknospe zu sitzen.

alle Vorteile. Die von der Pflanze zur Ausbildung von Geschlechtsorganen bereitgestellten Nährstoffe werden zugunsten der vegetativen Entwicklung abgezogen und geben den Moosen sozusagen das Signal, zur Erhaltung der Art die geschlechtliche Fortpflanzung einzuleiten. Man kann das ja auch bei höheren Pflanzen beobachten, wenn z. B. im Herbst nach einer Trockenheit Obstbäume und Kastanien zum zweiten Mal blühen. Auch der Gärtner zaubert durch unnatürliche Tricks schon zu Weihnachten blühenden Flieder hervor.

Ein Kapitel soll aber noch erwähnt werden. Wie im Aufsatz über das Pflasterritzenmoos *Bryum argenteum* (Mikrokosmos Heft 8, August 1975) die Luftverschmutzung als Auslesefaktor für den Artenreichtum der Moose in Industriegebieten besprochen wurde, geben die heute immer mehr beklagten Verschmutzungen unserer Gewässer auch für die Wassermoose sich ständig verschlechternde Lebensbedingungen, die häufiger schon zur Ausrottung geführt haben. Die Auswahl noch lebensfähiger Arten zeigt dem Kundigen den Grad der Verschmutzung an.

Octodiceras kann von den hier besprochenen Moosen noch am besten gewisse Verschmutzungen ertragen. Neumayr fand das Moos z. B. lebend an einer stark verschmutzten Stelle unter einer dicken Schlammschicht vor, während andere Moose hier nicht mehr vorkamen.

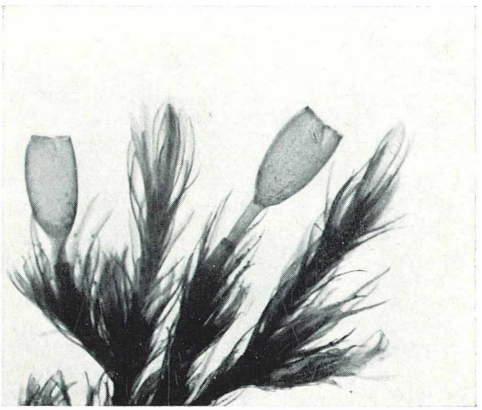
Neuerdings hat Frahm (1975) „Toxitoleranzversuche an Wassermoosen" vorgenommen, um den Verschmutzungsgrad des Niederrheins zwischen Düsseldorf und Wesel „nach chemisch-physikalischen, auch biologischen Kriterien" festzustellen. Er unterschied drei Zonen: eine polysaprobe (=totalverschmutzte) Zone, in der keine Moose mehr wachsen konnten und zwei verschieden stark mäßig verschmutzte Zonen (mesosaprob), in denen u. a. auch *Cinclidotus* noch zu finden war. Eine oligosaprobe Zone, also eine solche mit geringerem Verschmutzungsgrad, in der auch noch *Fontinalis* gedeihen konnte, fand er im Rhein nicht, nur noch in einigen entsprechend reinen Nebenbächen.

Andere Einflüsse des Menschen verändern ebenso die Zusammensetzung oder überhaupt die Existenzmöglichkeit der Wassermoose: Flußregulierungen, Uferverbauungen und Aufstauen von Wasser.

Näher auf die Ökologie einzugehen, würde in diesem Zusammenhang zu weit führen. Erwähnt sei aber doch, daß entsprechend der Emersions- und der Submersions-Resistenz, also der Fähigkeit, vorübergehendes Austrocknen oder Daueraufenthalt unter Wasser zu ertragen, sich voneinander abgrenzende Zonen bilden, in denen die Moose leben. Die Grenzen solcher Vegetationsstreifen zeigen wohl Übergänge, doch kann man stets eine Zone unterhalb der Niedrigwassergrenze feststellen, eine solche um die Mittelwassergrenze herum und schließlich eine Zone, die von Spritzwasser befeuchtet wird und höchstens bei Hochwasser unter den Wasserspiegel gerät.

Untergrundbeschaffenheit wie kalkfreie oder kalkhaltige Gesteine, der Einfluß der Durchschnittstemperatur durch die Höhenlage des Gewässers und unterschiedliche

Bild 7: *Cinclidotus aquaticus* mit entleerten, alten Sporenkapseln, deren Peristom schon abgefallen ist.



Wasserturbulenz sind weitere Kriterien für Vorkommen und Auswahl von Wassermoosen. Als Beispiel hierfür verschafft die starke Kraft des Wassers an Wehren und Wasserfällen *Octodiceras* einen Vorteil vor anderen Moosarten, die ihrerseits in ruhigerem Gewässer *Octodiceras* verdrängen und in tieferes Wasser ausweichen lassen.

Literaturhinweise:

1. *Van den Berghen, C.:* Contribution à l'étude des Groupements végétaux II. Les Groupements végétaux aquatiques. Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique Tome LXXXV, Fasc. II, Gembloux 1953
2. *Elßmann, E.:* Studien über wasserbewohnende Laubmoose. Hedwigia, 64. Band, Dresden 1923
3. *Frahm, J. P.:* Toxitoleranzversuche an Wassermoosen. Gesamthochschule Duisburg, Fachbereich Biologie Gewässer und Abwässer 57/58 Krefeld 1975
4. *Grebe:* Zur Biologie und Geographie der Laubmoose. Wassermoose. Hedwigia Band LIX, 1917
5. *Hörmann, H.:* Beitrag zu Cinclidotus danubicus, Schiff. Baumg. Revue Bryologique et Lichénologique N.S. Tome 33, Fasc. 3—4, Paris 1964/65
6. *Hörmann, H.:* Gittermoose. Mikrokosmos 65, H. 3, 1976
7. *v. Hübschmann, A.:* Einige hygro- und hydrophile Moosgesellschaften Norddeutschlands. Mitt. d. flor. soz. Arbeitsgem. N.F.4 1954
8. *Koch, W.:* Über einige Wassermoosgesellschaften der Linth Inst. f. spez. Botanik d. Eidgen. Techn. Hochschule Zürich Ber. Schweiz. Bot. Ges. 46 1936
9. *Koppe, F.:* Die Wassermoose Westfalens. Archiv f. Hydrobiologie, Bd. XLI, Heft 1/2, Stuttgart 1945
10. *Neumayr, L.:* Octodiceras Julianum in der Oberpfalz. Mitt. d. Naturw. Arbeitskr. Kempten/Allg. 19. Jahrg., Folge 1975
11. *Philippi, G.:* Einige Moosgesellschaften des Südschwarzwaldes und der angrenzenden Rheinebene. Beitr. z. naturkdl. Forschung in SW-Deutschland XV, Karlsruhe 1956
12. *Philippi, G.:* Die Wassermoosflora am Hochrhein zwischen Reckingen und Waldshut. Veröff. d. Landesst. f. Naturschutz und Landschaftspflege Baden-Wttbg. 27/28 Ludwigsburg 1961
13. *Philippi, G.:* Die Moosgesellschaften der Wutachschlucht Mitt. Bad. Landesver. Naturkde. u. Naturschutz NF 8/4 Freiburg/Br. 1965

Verfasser: Dr. Kurt von der Dunk, Schenkstraße 136, 8520 Erlangen und Dr. Klaus von der Dunk, Ringstraße 25, 8521 Spardorf.

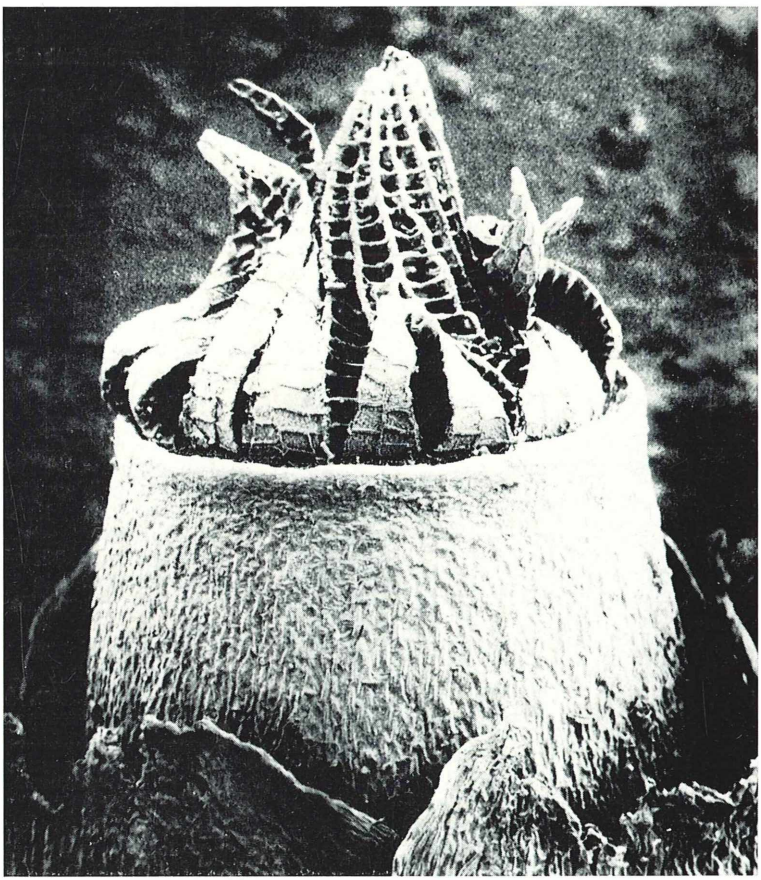


Bild 8: REM-Aufnahme des doppelten Peristoms von *Fontinalis antipyretica*. Das Innenperistom zeigt deutlich die Gitterstruktur. Gesamtlänge des dargestellten Ausschnittes etwa 2 mm. Für die Möglichkeit, diese mit Lichtmikroskop nicht aufnehmbare Darstellung zeigen zu können, danken wir den Herren Professor Dr. Becker und Dr. Blick vom Pathologischen Institut der Universität Erlangen.

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

Reifeteilungen der Spermatocyten beim Strudelwurm Mesostoma

Aufgabe der Meiose ist es, im Verlauf der Keimzellen- oder Gametenentwicklung die Chromosomenzahl zu reduzieren. Gamet nennt man eine Zelle, die der geschlechtlichen Fortpflanzung dient (gr. gamein=heiraten). Im Normalfall setzt sich der Prozeß der Meiose aus zwei Kernteilungen zusammen, die zeitlich aufeinander folgen. I. Erste Kern- oder erste Reifeteilung: In ihr erfolgt die Trennung der homologen Chromosomen, die sich in der ersten meiotischen Prophase gepaart haben. Es entstehen damit aus einem diploiden Zellkern zwei haploide Kerne.
II. Zweite Kern- oder zweite Reifeteilung: In diesem der ersten Teilung nachfolgenden Schritt werden die Chromatiden jedes Chromosoms voneinander getrennt.
Das Ergebnis dieser zwei Teilungen ist die Herstellung von vier haploiden Kernen aus ursprünglich einem diploiden Kern. In der Keimbahn männlicher tierischer Vielzeller (Metazoa) entstehen durch den Prozeß der Meiose haploide Spermatiden oder Gonen aus diploiden Spermatocyten. Diese ihrerseits entwickeln sich aus Spermatogonien (Muttersamenzellen). Die Spermatiden werden dann im Verlauf eines Umgestaltungsprozesses (Spermiogenese oder Spermiohistogenese) zu befruchtungsfähigen Spermien (Samenzellen).
Die weiblichen Gonen werden als Eizelle oder einfach als Ei bezeichnet. Während die Samenzellen vielfach frei beweglich sind, haben die größeren Eizellen meist kein aktives Bewegungsvermögen.
Hier nun soll die Meiose der Spermatocyten anhand der Präparation von Hodenzellen des Strudelwurms *Meostoma ehrenbergii* genauer betrachtet werden.

Material und Methode

Zur Systematik, Beschaffung, Zucht und Präparation möchte ich auf Mikrokosmos **60**, H. 4, 113—116, 1971, verweisen.

Ergebnisse und Beobachtungen

Eine Übersicht von Zellen und Chromosomen aus dem Hodengewebe von *M. ehrenbergii* zeigt Bild 1.
Bei dieser Abbildung kann man erkennen, daß drei Arten von Zellen mit deutlich sichtbaren Chromosomen auftreten:

1. Zellen mit Chromosomen, die meist I- bis V-förmig und relativ klein sind und im Gesamtchromosomensatz 10 Chromosomen zeigen *(Z I)*.
2. Zellen mit Chromosomen, die z. T. wesentlich größer sind als die Chromosomen der Z I-Zellen. Zum Teil haben diese Chromosomen das Aussehen eines senkrecht gestellten Z oder eines lang gedehnten I. Die Gesamtzahl der Chromosomen dieser Zellen *(Z II)* scheint 7 zu sein.
3. Zellen mit Chromosomen, die etwa in der Größenordnung der Chromosomen aus Z I-Zellen liegen, jedoch sind pro Zelle nur 5 Chromosomen feststellbar *(Z III)*.

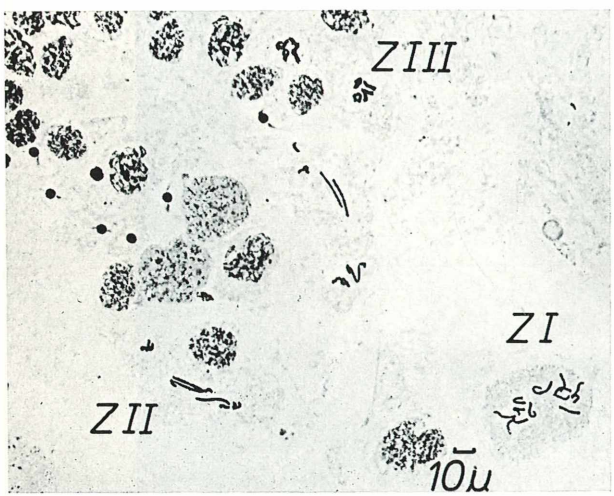


Bild 1: Quetschpräparat-Übersicht von Hodengewebe des Strudelwurms *Mesostoma ehrenbergii*. *Z I:* Zelle (Spermatogonium) mit mitotischen Metaphasechromosomen; *Z II:* Zelle (Spermatocyte I-Ordnung) mit Metaphase I-Chromosomen; Z III: Zelle (Spermatocyte II-Ordnung) mit Metaphase II-Chromosomen.

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

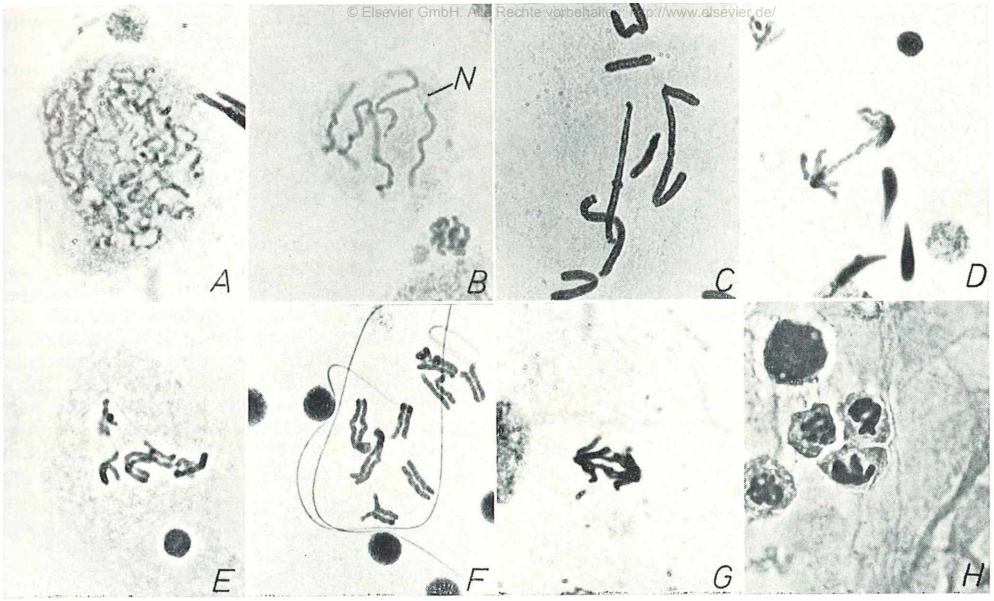


Bild 2: Meiosestadien der Spermatocyten von *Mesostoma ehrenbergii* 1. Reifeteilung *(A—D)*. *A/B* Prophase I, *C* Prometaphase I-Metaphase I, *D* Anaphase I. 2. Reifeteilung *(E—H)*. *E* Prometaphase II, *F* Metaphase II, *G* Anaphase II, *H* Telophase II. Vergr. ca. 700 : 1.

Bei diesen drei Kategorien von Zellen handelt es sich bei Z I um Metaphasezellen der Mitose mit diploidem Chromosomensatz ($2n=10$), bei Z II um eine Metaphase I-Zelle der 1. Reifeteilung der Meiose, bei Z III um eine Metaphase II-Zelle der 2. Reifeteilung.

Ganz allgemein kann der Prozeß der Meiose [1] bei Pflanzen und Tieren folgendermaßen beschrieben werden:

Von der Mitose kommend durchlaufen die Zellen der Keimbahn zunächst eine Interphase [2]. Das bedeutet, daß der durch die vorangegangene mitotische Teilung halbierte Chromosomensatz durch Reduplikation [3] wieder vervollständigt wird, so daß die zunächst haploiden Zellen wieder diploid sind. Es folgt also der Mitose der G_1-Abschnitt, der S-Abschnitt und der G_2-Abschnitt der Interphase. Danach treten die Zellen in die 1. Reifeteilung der Meiose ein.

Erste meiotische Reifeteilung

Bild 2 A—D zeigt die morphologische Ausprägung der Zellen und Chromosomen während des Verlaufes der 1. Reifeteilung in den Spermatocyten von *M. ehrenbergii*.

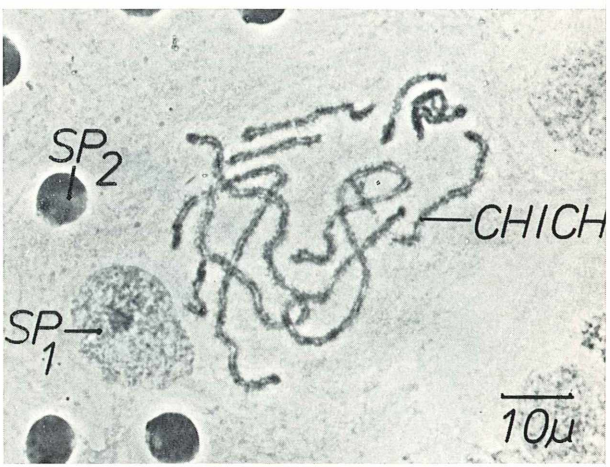
Die meiotische Prophase I unterscheidet sich fundamental von der mitotischen Prophase und wird in fünf aufeinanderfolgende Abschnitte eingeteilt:

1. Leptotän: Die Chromosomen erscheinen als lange, despiralisierte noch ungepaarte Stränge. In vielen Fällen ist eine Polarisation der Chromosomenenden in Richtung auf das Centrosom [4] hin festzustellen.

Ohne scharfe Grenze zum Leptotän folgt der nächste Abschnitt der meiotischen Prophase I:

2. Zygotän: In diesem Abschnitt vollzieht sich die Paarung der homologen Chromosomen. Diese als Syndese bezeichnete Paarung kann an mehreren Stellen der homologen Partnerchromosomen gleichzeitig beginnen und läuft von diesen Stellen aus

Bild 3: Pachytän der meiotischen Prophase I der Spermatocyten der Feldheuschrecke *Chorthippus parallelus*. *CH/CH* Gepaarte homologe Chromosomen, SP_1 Spermatide, SP_2 Spermatide vor der Umbildung zum Spermium.



© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

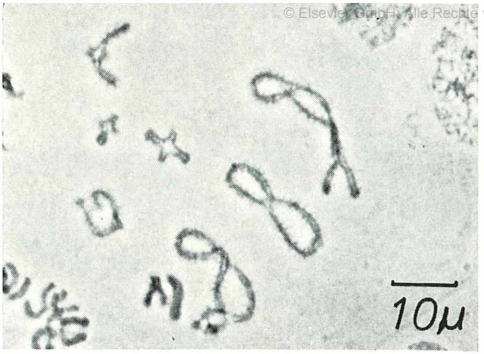
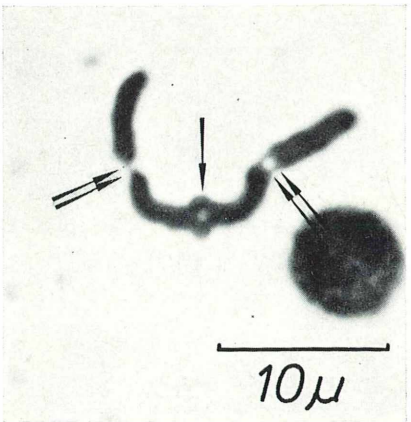


Bild 4: Diplotän der meiotischen Prophase I der Spermatocyten der Feldheuschrecke *Chorthippus parallelus*.

entlang den Chromosomenpartnern. Genau genommen müssen in diesem Stadium gepaarte und ungepaarte Chromosomenabschnitte gefunden werden. Mit Sicherheit kann dies bisher nur bei pflanzlichen Meiosen festgestellt werden. Der genaue Zeitpunkt der Homologenpaarung ist noch weitgehend ein umstrittenes Problem. So zeigt Moens (1964) nach Untersuchungen bei der Tomate (*Lycopersicon esculentum*), daß es möglicherweise ein derartiges Stadium an dieser Stelle der Prophase I nicht gibt, sondern daß die Paarung schon vor diesem Zeitpunkt erfolgt. Untersuchungen an der Lilie (*Lilium longiflorum* „Croft") durch Walters (1969) hingegen ergaben, daß die Paarung der homologen Chromosomen gegen Ende des Zygotän — Anfang Pachytän stattfindet. Andererseits ist bei den sehr gut untersuchten Meiosen der Feldheuschrecken (*Chorthippus parallelus* und *Chorthippus brunneus*) von John und Lewis (1965, 1975) ein Zygotän nicht mit absoluter Sicherheit identifizierbar.

Bild 5: Terminale Kontaktstelle bei Bivalent 1 (Pfeil) in der Metaphase I der ersten Reifeteilung der Spermatocyten von *M. ehrenbergii*. Doppelpfeil=Kinetochorregionen.



Der Abschnitt der dem Zygotän folgt, wird Pachytän genannt.

3. Pachytän: Wenn die Paarung der homologen Chromosomen abgeschlossen ist, beginnt dieser Abschnitt. Die homologen Chromosomen sind ihrer ganzen Länge nach gepaart, was in Bild 3 bei Pachytänchromosomen aus Spermatocyten der Feldheuschrecke *Chorthippus parallelus* gut erkennbar ist.

Im Normalfall besteht das „Pachytänchromosom" aus zwei eng gepaarten Chromosomen. Dieses als Bivalent bezeichnete Chromosom besteht demnach aus vier Chromatiden. Durch diese Bivalentbildung wird die Anzahl der Einzelchromosomen morphologisch halbiert, so daß der Chromosomenzahl nach eine haploide Zelle vorliegt. Dem genetischen Gehalt nach, also dem Gehalt an DNA (Desoxyribonukleinsäure), ist diese Zelle jedoch noch immer

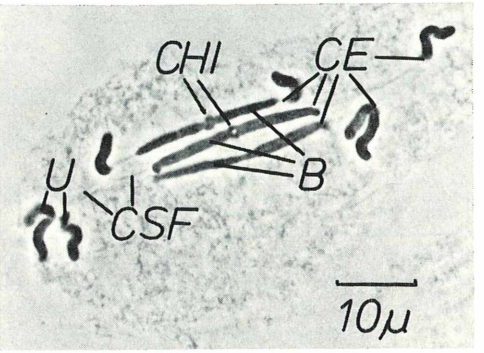


Bild 6: Metaphase I-Stadium der Spermatocyten von *M. ehrenbergii*. *B* Bivalente, *CE* Kinetochor, *CHI* Chiasmata, *CSF* Chromosomenspindelfasern, *U* Univalent.

diploid. Während die Anzahl der morphologisch sichtbaren Chromosomenkörper mit dem Symbol n gekennzeichnet wird, wird die DNA-Quantität in diesen Zellen mit 4 C angegeben.

Die Kernkörperchen oder Nucleoli (Bild 2 B, N) sind noch deutlich zu erkennen. Sie liegen noch am Nucleolusorganisator des oder der Chromosomen. Der Zusammenhang zwischen Nukleolenbildung und Nukleolenbildungsorten an Chromosomen wurde an solchen Pachytänchromosomen entdeckt.

4. Diplotän: Hier beginnt die enge Paarung sich zu lockern und die homologen Chromosomen werden nur noch an einzelnen Stellen zusammengehalten. Diese Stellen werden als Chiasma (gr. chiasma=Überkreuzung) bezeichnet. Das Chiasma ist demnach eine Konfiguration der gepaarten homologen Chromosomen oder Bivalente der Prophase I. Es stellt das Ergebnis eines Austauschprozesses zwischen Nicht-Schwester-Chromatiden eines Bivalents dar. An den Austauschstellen müssen nach dieser Vorstellung die beteiligten Chromatiden

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

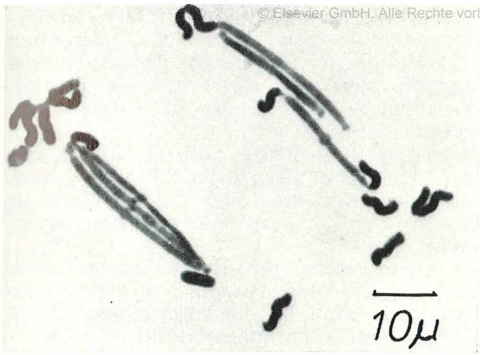


Bild 7: Verteilung der Univalente in der Metaphase I der Spermatocyten I. Ordnung von *M. ehrenbergii.*

brechen, mit einem homologen Chromatidsegment ausgetauscht werden und sekundär wieder verheilen.

Das morphologische Bild der Bivalente ist dabei abhängig von der Anzahl an Chiasmata. Bild 4 vermittelt einen Eindruck vom Aussehen solcher Diplotänchromosomen.

Ein Bivalent zeigt demnach kreuzförmige Konstellation bei nur einem Chiasma, schleifenartig ist es bei zwei oder mehreren Chiasmen. Modifiziert wird Lage und Anzahl der Chiasmen durch den Vorgang der Terminalisation. Darunter versteht man, daß Chiasmen, die in Chromosomenmitte liegen, im Verlauf des Diplotän an die Chromosomenenden verlagert, also terminalisiert werden.

Bei manchen Organismen, so auch bei *M. ehrenbergii,* treten bevorzugt endständige Chiasma auf. Bei zwei der Bivalente von *Mesostoma* treten regelmäßig solche endständigen Kontaktstellen auf (Bild 5).

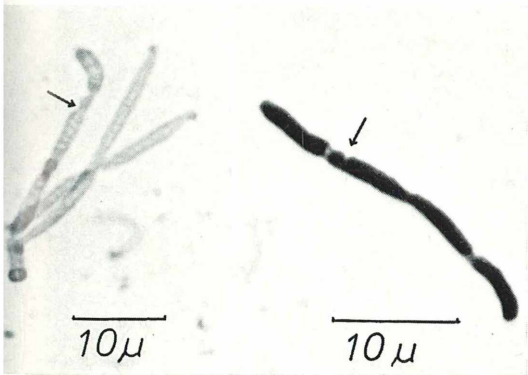
Der letzte Abschnitt der meiotischen Prophase ist dann erreicht, wenn die Zellen die Diakinese durchlaufen haben.

5. Diakinese: In diesem Abschnitt der Prophase I verschwindet der Nucleolus bzw. die Nucleoli. Die gepaarten Chromosomen liegen gleichmäßig verteilt in den Zellen. Wie aus Bild 2 zu ersehen ist, entspricht der Ablauf der meiotischen Prophase I der Spermatocyten von *M. ehrenbergii* nicht der Norm. Die frühen Stadien Leptotän und Zygotän sind nicht identifizierbar. Einem seltenen Glücksfall kommt es gleich, wenn in einem Präparat das Pachytän zu erkennen ist, das Diplotän und eine Diakinese scheinen völlig zu fehlen.

Im weiteren Verlauf der Meiose wird jetzt die Kernhülle aufgelöst und es erfolgt die Ausbildung des Spindelapparates. Die Zellen treten in die eigentliche Bewegungsphase der 1. Reifeteilung ein.

Prometaphase I/Metaphase I. Die auf die Prophase folgenden Stadien der Prometaphase I und der Metaphase I sind bei *M.*

Bild 8: Sekundäre Einschnürung (SAT-Stelle, Pfeil) bei Bivalent 1 von *M. chrenbergii.*



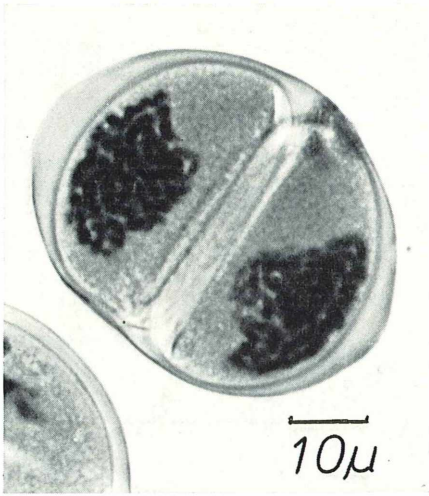


Bild 9: Interkinese der Pollenmutterzellen aus den Antheren von *Lilium tigrinum.*

ehrenbergii von besonderem Interesse (Bild 2 C). Die Besonderheit dieser Stadien liegt darin, daß nur 6 der 10 Chromosomen des diploiden Satzes „gepaart" vorliegen bzw. noch miteinander verbunden sind. Aber auch diese 6 Chromosomen hängen nur terminal zusammen. So treten die Chromosomen 1, 3 und 4 als langgestreckte Bivalente auf. Die übrigen Chromosomen 2 und 5 liegen in diesem Stadium stets als ungepaarte Univalente [5] vor. Der Grund dafür ist mit aller Wahrscheinlichkeit in einer vorzeitigen Auflösung des Paarungsverbandes durch fehlende Chiasmenbildung zu suchen. Es besteht auch die Möglichkeit, daß sich diese homologen Chromosomen überhaupt nicht paaren. So finden sich bei *M. ehrenbergii* Spermatocyten in der Metaphase I immer 3 terminal miteinander verbundene Bivalente und 4 Univalente. Die Anordnung der Bivalentkinetochore er-

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

folgt parallel zur Spindelachse. Dabei sind die Univalenten bereits in der Prometaphase I den Spindelpolen angenähert (Bild 6).

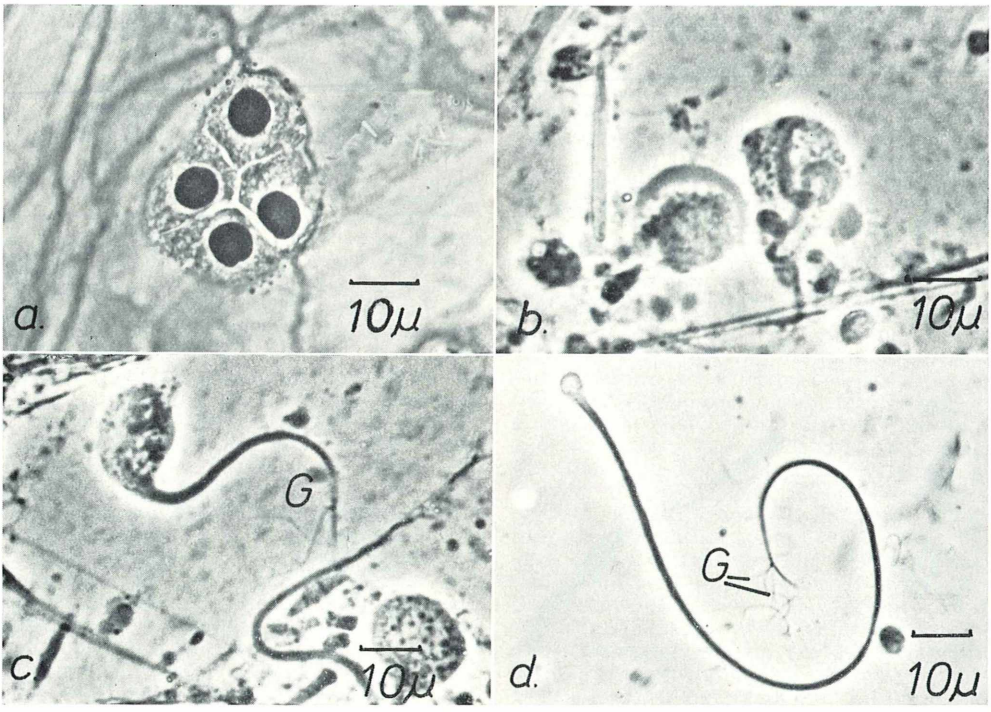
Die Verteilung der Univalenten auf die Pole kann sehr variabel sein (Bild 7). Bei diesem Beispiel sind drei Univalente an einem Pol, während nur ein Univalent am gegenüberliegenden Pol zu finden ist. Die gestreckte Lage der terminal verbundenen Bivalente wird durch Zugkräfte hervorgerufen, die die Kinetochore der Bivalenten in Richtung Pole bewegen. Dies ist besonders deutlich an Bivalent 1 zu erkennen. Dieses besteht aus zwei mediokinetischen Chromosomen [6] (Bild 2 C, 5—7, 11). Bei diesem Bivalent besteht nur an einem Arm eine terminale Verbindung zwischen den Homologen. Dies gilt auch für die beiden anderen Bivalente. Bei Bivalent 1 wird einer der Chromosomenarme jedes Paarungspartners durch die Prometaphase I-Metaphase I-Streckung regelrecht gedehnt. Die freien Chromosomenarme erscheinen hingegen dicker und kürzer.

Die beiden anderen Bivalente sind aus jeweils zwei telokinetischen Chromosomen [7] zusammengesetzt. Das bedeutet, das Kinetochor liegt subterminal am Chromosomenkörper. Dadurch ist nur ein knöpfchenartiger zweiter Chromosomenarm zu erkennen. Auch bei diesen beiden Bivalenten ist eine terminale Verbindung am kinetochorfernen Armende zu erkennen. Bei Bivalent 3 ist die Verbindung der Homologenarme in diesem Stadium nur noch als endständige Verklebung zu bezeichnen. Bei Bivalent 4 dagegen zeigt sich durch die Verdickung der Verbindungsstelle das für ein Chiasma typische Bild.

Es ist leicht einsichtig, daß die Kräfte, die die Streckung der Bivalente bewirken, auch die Univalente den Polen bereits in diesem Stadium weitgehend angenähert haben.

An diesen gestreckten Bivalenten sind noch weitere Strukturmerkmale von Chromosomen zu erkennen. Wie Bild 8 zeigt, liegt bei Bivalent 1 an einer Stelle in Kinetochornähe eines der Homologen eine sekundäre Einschnürung des Chromosomenkörpers. Diese sekundären Einschnürungen sind neben der Länge der Metaphasechromosomen und der Kinetochorlage (=primäre Einschnürung) ein weiteres Charakteristikum für ein Chromosom. Es haben jedoch nicht alle Chromosomen eine sekundäre Einschnürung. Diese Stellen werden nach Heitz (1931) als SAT-Stellen [8] bezeichnet und markieren den Nukleolenbildungsort. Bei Bivalent 1 ist die Lage der sekundären Einschnürung konstant, zusätzlich können weitere Einschnürungen auftreten.

Bild 10: Stadien der Spermiogenese bei *M. ehrenbergii*, Phasenkontrast. *a* Vier haploide Spermatiden, *b—c* Auswachsungsphasen, *d* Spermium mit zwei seitlich aus dem Schwanzschaft tretenden Geißeln (*G*).



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

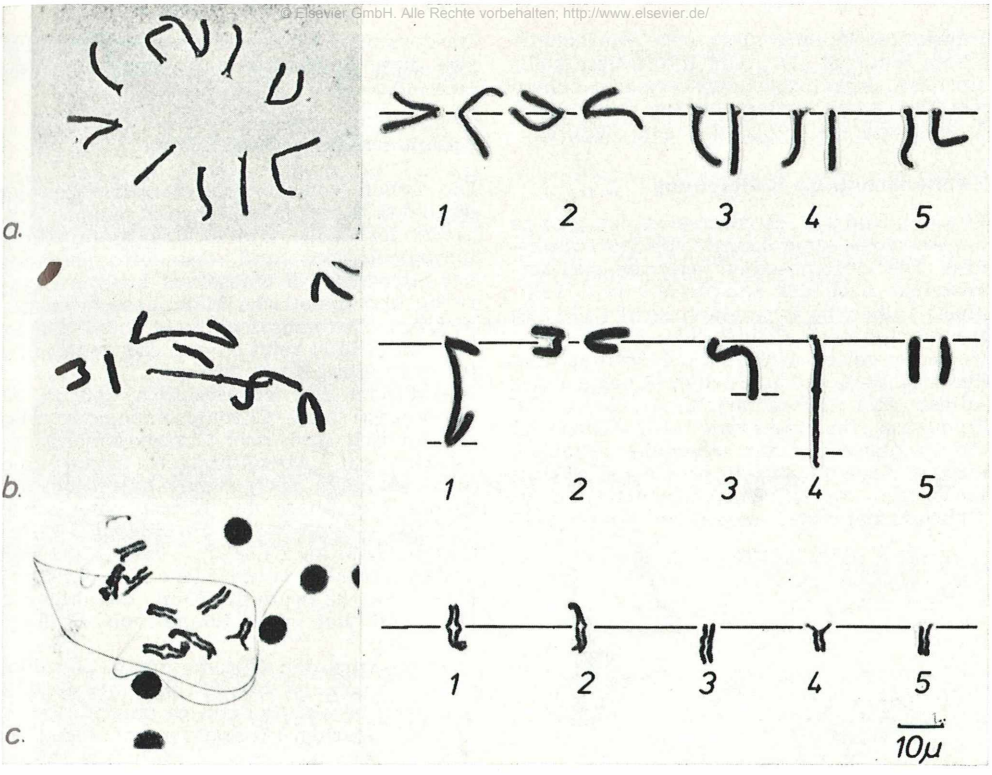


Bild 11: Vergleich der Karyogramme der Metaphase-Chromosomen von *M. ehrenbergii*. *a* Mitotische Metaphase, *b* Metaphase I, *c* Metaphase II.

Zur Prometaphase I — Metaphase I der Spermatocyten I. Ordnung von *M. ehrenbergii* läßt sich somit folgendes festhalten:

1. Die Bivalente und Univalente sind maximal kontrahiert und als Individuen gut erkennbar.
2. Es findet eine prometaphasische Streckung der Bivalente statt. Durch die Streckungskräfte werden die Univalente und die Kinetochorregionen der Bivalente bereits zu diesem Zeitpunkt der Meiose den Zellpolen angenähert.
3. Die Bivalente und die Univalente sind in Richtung der Spindellängsachse ausgerichtet.
4. Eine konstant auftretende sekundäre Einschnürung (SAT-Stelle) tritt bei Bivalent 1 in der unmittelbaren Nachbarschaft eines der beiden Kinetochore auf.
5. Nur 3 der 5 Chromosomenpaare zeigen eine Paarung. Diese ist jedoch nur für die terminalen Chromosomenabschnitte mit Sicherheit feststellbar.

Im Anschluß an diese Phase findet die Trennung der homologen Chromosomen statt.

Anaphase I. (Bild 2 D). Offensichtlich verläuft die Anaphase I sehr rasch, denn in den Präparaten kann nur selten dieses Stadium gefunden werden. Dieser rasche Ablauf ist durch die weitgehende Annäherung der Kinetochore an die Spindelpole verständlich.

Bei den Eukaryonten [9] liegen in jeder Zelle sowohl Chromosomen von der väterlichen als auch von der mütterlichen Seite vor. In der Anaphase I werden diese Chromosomen zufallsgemäß auf die beiden sich neu bildenden Zellen verteilt. Jedes neu gebildete Genom besteht also aus Chromosomen beider elterlichen Genome.

Bei *M. ehrenbergii* findet die Verteilung der Univalente schon weitgehend während der Prometaphase I statt. Für die gestreckten Bivalente genügt eine Lösung der terminalen Verbindungen und eine Kontraktion der Chromosomenarme sowie ein relativ kurzer Transport der Chromosomen durch die chromosomalen Spindelfasern, um die Anaphase I durchzuführen.

Bei normalem Verlauf einer Meiose folgt der Anaphase I die Telophase I und ein Stadium, das als Interkinese bezeichnet wird. In diesem Stadium bilden die Chromosomen einen losen Knäuel, der von einer Kernmembran umschlossen wird. Zwischen den haploiden Zellen bildet sich eine Zellwand bzw. Zellhaut aus. Besonders gut ist das Interkinesestadium bei der Lilie ausgeprägt (Bild 9).

Im Gegensatz zur Interphase findet in der

Interkinese keine Neusynthese von genetischem Material statt. Die Interkinese stellt eine Art „Ruhepause" zwischen den beiden meiotischen Reifeteilungen dar. Aus diesem Stadium heraus erfolgt die neue Teilung.

Zweite meiotische Reifeteilung

Wie aus Bild 2 E—H zu ersehen ist, gibt es bei *M. ehrenbergii* keine typische Interkinese. Die Chromosomen scheinen sich unmittelbar nach der Anaphase I und Telophase I über die Prometaphase II (Bild 2 E) zur Metaphase II (Bild 2 F) zu formieren. Normalerweise verläuft die 2. Reifeteilung der Meiose genau nach dem Schema einer Mitose: Pro-, Prometa-, Meta-, Ana- und Telophase. Im Unterschied zur Mitose ist die Prophase II ganz allgemein erheblich kürzer. Nucleoli sind in den Kernen nicht vorhanden und die Chromosomen sind lediglich in haploider Anzahl vorhanden. Fer-

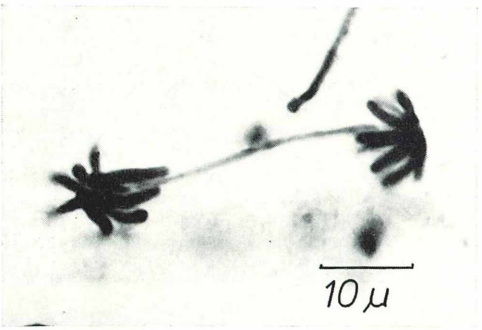


Bild 12: Verklebung zwischen zwei mitotischen Anaphasechromatiden bei *M. ehrenbergii*.

ner ist die Zusammensetzung des Genoms vollständig anders als zu Beginn der 1. Reifeteilung. Dies ist dadurch bedingt, daß zum einen Austauschvorgänge zwischen Nicht-Schwester-Chromatiden während der Chiasmenbildung der Prophase I stattgefunden haben, zum anderen in der Anaphase I die elterlichen Chromosomen auf die beiden neu entstandenen Tochterzellen zufallsgemäß verteilt wurden, was einer Durchmischung des Genoms gleichkommt. Es werden also nicht nur Schwesterchromatiden voneinander getrennt, wie dies bei einer typischen Mitose der Fall ist.
Als Ergebnis der Meiose sind nach zwei Reifeteilungen vier haploide Zellen (n) entstanden. Dabei trennt die 1. Reifeteilung homologe Chromosomen nach deren Paarung, die 2. Reifeteilung Chromatiden. Die neuentstandenen vier Kerne werden durch eine doppelte Cytokinese (Zellteilung) auf vier haploide Zellen verteilt (Bild 10 a). Diese vier haploiden Zellen werden allgemein als Gameten oder Gonen bezeichnet, im vorliegenden Fall werden sie Spermatiden genannt.

Im Verlauf einer Spermiogenese entwickeln sich diese Spermatiden zu Spermien (Bild 10 b—d).

Zusammenfassung und Schluß

Die Zellen von *M. ehrenbergii* zeigen im diploiden Satz 2 n = 10 Chromosomen. Aufgrund der Größe, Kinetochorlage am Chromosomenkörper und des DNA-Gehaltes der einzelnen Chromosomen können mitotische und meiotische Metaphasechromosomen bzw. Chromosomenpaare homologisiert werden. Bild 11 zeigt eine solche Zuordnung in Form eines Karyogrammes.
Aus diesem Bild ist ersichtlich, daß bei *M. ehrenbergii* zwei Chromosomenpaare mediokinetisch sind, drei Chromosomenpaare telokinetisch. Abweichungen davon sind nicht zu finden. Das größte Chromosom hat in der Metaphase der Mitose eine Länge von 19,62 µm ± 3,15 µm, das kleinste Chromosom 10,31 µm ± 1,64 µm. Das größte Bivalent der Metaphase I hat eine Gesamtlänge von 32,18 µm ± 3,55 µm, das kleinste Univalent hat eine Länge von 16,72 µm ± 0,99 µm.
Die Tendenz der Chromosomen, terminal zu verkleben, ist bei *M. ehrenbergii* sehr hoch und besonders deutlich an mitotischen und meiotischen Anaphasen zu erkennen (Bild 12). An einzelnen Anaphasen konnte eine Dehnung einzelner Chromatiden von 70 µm gemessen werden.
Bei Meiosen sind besonders zwei Phänomene von Interesse:
1. Die prophasische Paarung der homologen Chromosomen,
2. Die Chiasmenbildung.

Über beide Fragenkreise besteht noch keine endgültige Klarheit. Besonders der Zeitpunkt der Chromosomenpaarung, sowie der auslösende Mechanismus für eine Meiose sind offene Probleme. Auch die Einflüsse, die zu einem Stückaustausch führen, sind noch weitgehend unbekannt.

Literaturhinweise:

1. *DuPraw, J.:* Cell and Molecular Biology. Acad. Press London, 1969.
2. *Göltenboth, F.:* Chromosomenmorphologie. Mikrokosmos **60**, H. 4, 1971.
3. *Göltenboth, F.:* Chromosomenmorphologie. Mikrokosmos **61**, H. 4, 1972.
4. *Göltenboth, F.:* Experimentelle Chromosomenuntersuchungen. Quelle und Meyer, Heidelberg, 1975.
5. *Grundmann, E.:* Allgemeine Cytologie. Thieme Verlag, Stuttgart, 1964.
6. *John, B., Lewis, K. R.:* Chromosome Hierarchy. Oxford Univ. Press, London, 1975.
7. *Lewin, B.:* Gene expression Vol. 2. Wiley Son., London, 1974.
8. *Moens, P. B.:* A new interpretation of meiotic prophase in Lycopersicon esculentum (Tomato). Chromosoma **15**, 231—242, 1964.
9. *Walters, M. S.:* Evidence of the time of chromosome pairing from the preleptotene spiral stage in Lilium longiflorum „Croft". Chromosoma **29**, 375—418, 1970.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

Erläuterungen:

1 Meiose: Reifeteilung, bei der die somatische, diploide Chromosomenzahl eines Organismus auf die Hälfte reduziert wird.
2 Interphase: Der Teil des Zellzyklus während dem Stoffwechselvorgänge und Synthese stattfindet.
3 Reduplikation: Vorgang, bei dem sich die DNA einer Zelle identisch verdoppelt.
4 Centrosom: Eine Region in der Zelle von tierischen Organismen in der Nähe des Interphasekerns gelegen.
5 Univalent: Einzelnes, ungepaartes Chromosom in der 1. meiotischen Reifeteilung.
6 Mediokinetisches Chromosom: Chromosom mit einer Kinetochorlage in der Mitte oder außerhalb der Mitte des Chromosomenkörpers.
7 Telokinetisches Chromosom: Chromosom mit terminaler oder subterminaler Kinetochorlage.
8 SAT-Stelle: Sekundäre Einschnürungsstelle am Chromosomenkörper (Sine Acido Thymonucleinico).
9 Eukaryonten: Organismen mit echtem Zellkern (Nucleus).

Verfasser: Dr. F. Göltenboth, c/o Universitas Kristen dan IKIP Satya Wacana. Department of Biology and Agriculture, Salatiga/Central Java, Jl. Diponegro 54—58, Indonesien.

Lotar Büll

Bildung der Fortpflanzungszellen bei der Grünalge Cladophora

Die Gattung *Cladophora* umfaßt mehr als 150 beschriebene Arten: in Europa 27 marine und 11 Süßwasserarten [1]. Ihre Bestimmung ist nicht allzu schwierig, denn die Cladophora-„Watten" fühlen sich „rauh" an im Gegensatz zu den „schleimigen Watten" der Zygnemaceae [2], der Jochalgen. Die *Cladophora*-Arten bestehen aus verzweigten Fadenbüscheln, die in fließenden Gewässern auf festem Substrat mit einer rhizoidartigen Zelle festsitzen. Aufgrund ihrer Häufigkeit können sie leicht für mikroskopische Übungen beschafft werden.

Bekanntlich hängt die Bildung der Fortpflanzungszellen von ungünstigen Außenbedingungen (z. B. mangelhaftes Nahrungsangebot) ab [3]. Diese ungünstigen Bedingungen lassen sich künstlich hervorrufen, indem man eine relativ große Menge der *Cladophora*-Algen für einige Tage (3—6 Tage) nach dem Einsammeln in einem Kulturgefäß am Fenster stehen läßt. In unserem Fall besaßen die Thallusspitzen beim Einsammeln aus der Pleichach (Bach in Unterfranken, der in Würzburg in den Main mündet) noch keine Fortpflanzungszellen. Nach einigen Tagen stellten sich unzählige Fortpflanzungszellen ein, die zum Teil schon entleert waren und zu einem weiteren Teil während der Beobachtung unter dem Deckglas ihre Fortpflanzungsprodukte freigaben [4]. Die abgebildeten Fotografien wurden nacheinander gemacht [5]. Der zeitliche Abstand zwischen den einzelnen Aufnahmen ist durch das Spannen des Fotoapparates (VX 500) und ein kurzes Nachstellen der Optik gegeben. Die Fortpflanzungsprodukte — ob es sich um Zoosporen oder Gameten handelt, läßt sich morphologisch nicht ausmachen — fließen kontinuierlich zur seitlichen Öffnung [6]. Durch die Poren werden die Gameten bzw. Sporen einzeln herausgequetscht. Sie nehmen dabei eine längliche Form an, wie auf Bild 3 (Vergrößerung 280×) zu sehen ist [7].

Cladophora hat einen isomorphen Generationswechsel [8]. Das haploide Stadium ist heterothallisch, d. h. jede der gleichgestalteten (+)- und (−)-Pflanzen des Gametophyten erzeugt morphologisch gleiche (+)- und (−)-Gameten. Die Kopulation findet nur zwischen konträren Gameten statt. Aus der Zygote entsteht eine diploide Sporophytenpflanze, die dem Gametophyten gleicht. Der Sporophyt erzeugt in Zoosporangien (sie gleichen den Gametangien) unter Meiosis zweigeißelige Gonozoosporen. Dabei erfolgt die Geschlechtsbestimmung, so daß 50% (+)- und 50% (−)-Zoosporen entstehen, aus denen wieder haploide Pflanzen hervorgehen [9]. Die Geißeln können mit einer 280fachen Vergrößerung nicht beobachtet werden [10]. *Cladophora* hat zur Entstehung der modernen Zytologie beigetragen [11]. Auch heute noch ist sie ein dankbares Präparat mikroskopischer Übungen.

Erläuterungen:

[1] Hock, C. van Den, Revision of the European species of Cladophora, Leiden 1963

[2] Vgl. Esser, K., Kryptogamen — Praktikum und Lehrbuch, Berlin 1976 S. 149

[3] Vgl. Esser, K. a. a. O. S. 149

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten

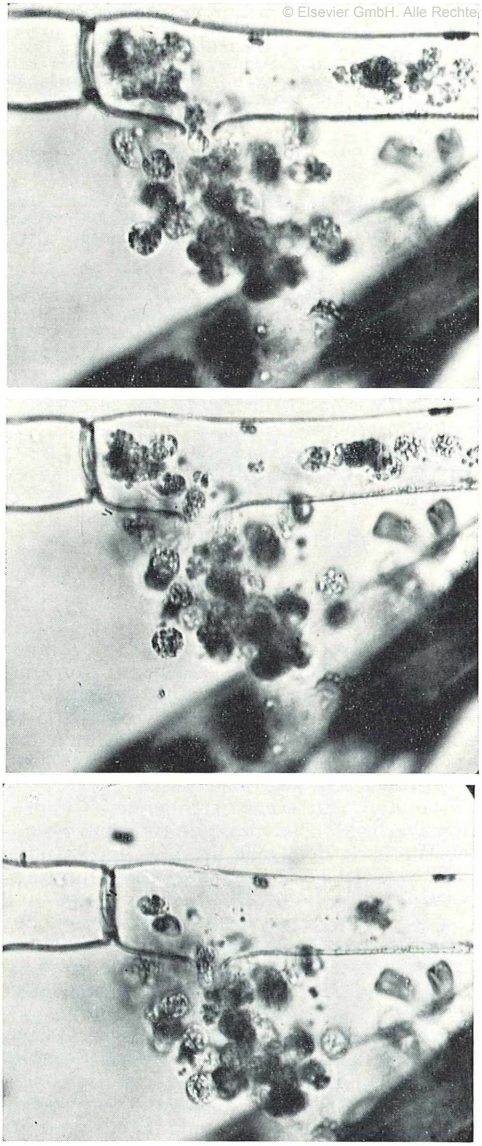


Bild 1—3: Die Grünalge *Cladophora* entläßt ihre Fortpflanzungsprodukte. 280 : 1.

[4] Sporangien und Gametangien werden nicht nur an der Thallusspitze ausgebildet; vgl. Esser, K., a. a. O. S. 152 Abb. 68 d oder Reinhold, Th., Cladophora refracta Aresch, in: Hedwigia, Organ für Kryptogamenkunde, Dresden 1890, 29. Bd. S. 357 Nr. 272

Bild 4: Generationswechsel von *Cladophora*, schematisch. *G* Gametophyt (Plus- und Minus-Pflanze), aus den Gametangien einerseits Plus- und andererseits Minus-Gameten entlassend. *S* Sporophyt, der aus einer durch Gametenkopulation entstandenen Zygote hervorgeht und selbst Zoosporen bildet. *R!* Reduktionsteilung. Haploidgametophytische Phase schwach, diploid-sporophytische Phase stark umrandet (nach Troll).

[5] Die Aufnahmen wurden mit Blitzlicht fotografiert. Im folgenden sei kurz die vom Verfasser bei der Anfertigung der Fotografien verwandte Blitzeinrichtung beschrieben, die vielleicht im schulischen Bereich zum Nachbau anregen kann. Die von den großen optischen Firmen angebotenen Blitzlichteinrichtungen sind bekanntlich sehr teuer. Als Lampenkörper wurde die Monla-Leitz-Mikroskopierlampe mit einer Niedervoltbirne als Pilotlicht benutzt. Mit dieser Lampe läßt sich bequem das Köhlersche Beleuchtungsprinzip einstellen. Die Lampe enthält gegenüber dem zylindrischen Lichtschacht eine längliche, schlitzförmige Öffnung zur Kühlung. Nach innen ist diese Öffnung durch ein an vier Ecken vernietetes Blech zugedeckt, um das Austreten des Lichtes zu verhindern. Dieses Blech läßt sich bequem entfernen; die Öffnung ist nun auf und man kann durch sie hindurchblitzen. Als Blitzgerät wurde der Elektronen-Blitz Royal mit der Leitzahl 22 (m) bei 18 DIN Color/SW, Blitzdauer 1/1000 sec., Leuchtwinkel 60°, Farbtemperatur 5600 ° Kelvin verwandt. Man muß nun noch den Blitzlichtapparat in die optische Achse zentrieren. Leuchtblende, Kollektor, Pilotlampe — diese drei Vorrichtungen befinden sich an der Monla-Leitz-Lampe — und der Elektronenblitzapparat müssen durch eine Achse verlaufen.

[6] Vgl. Fott, B., Algenkunde, Jena 1971 S. 362

[7] Die Aufnahmen wurden mit einem Schulmikroskop gemacht: Huygens-Okular 7×, achromatisches Objektiv 40× N.A. 0,65, Hellfeldkondensor DIN 2linsig N.A.1,2 mit Irisblende, beweglich

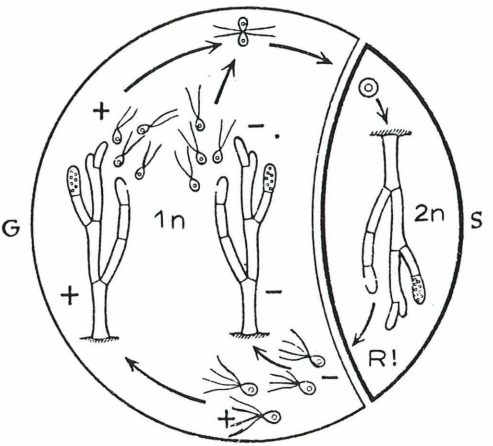
[8] Vgl. die Zeichnung, abgeändert nach Troll, W., Allgemeine Botanik, Stuttgart 1959 S. 813 Abb. 641

[9] Vgl. Round, F. E., Biologie der Algen, Stuttgart 1968 S. 32

[10] Eine Zeichnung der Schwärmspore enthalten ältere Auflagen des „Strasburgers" z. B. E. Strasburger's Lehrbuch der Botanik für Hochschulen, 18. Aufl. Jena 1931 S. 327 Fig. 347 b

[11] Vgl. Kaussmann, B., Pflanzenanatomie, Jena 1963 S. 565

Verfasser: Studienrat Dr. Lotar Büll, Egbert-Gymnasium, 8711 Münsterschwarzach 40.



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

Eric Grave

Pantoffeltier im Interferenzkontrast

Versuche, mit den verschiedensten Beleuchtungsverfahren mikroskopisch immer mehr zu sehen, sind so alt wie das Mikroskop selbst. Clifford Dobell, der bekannte Biograph Leeuwenhoeks, hält es für wahrscheinlich, daß bereits Leeuwenhoek Dunkelfeldbeleuchtung angewendet hat. Anderenfalls ist es schwer zu erklären, schreibt Dobell, daß er Bakterien und Protozoen so detailliert darstellen konnte.

Spätere Forscher haben versucht, durch Schaffung von Farbkontrasten, nicht nur mit chemischen sondern auch mit optischen Mitteln, das mikroskopische Bild zu verbessern.

Der erste Versuch optischer Färbungen geht auf das Jahr 1828 zurück, als William Nicol mit den nach ihm benannten Prismen zu experimentieren begann. Seine Arbeiten führten zur Entwicklung des Polarisationsmikroskops.

Nach 1892 fand die Reinberg-Beleuchtung, die bekanntlich eine Abwandlung der Dunkelfeldbeleuchtung ist, eine weite Verbreitung und Beliebtheit. Sie bietet zwar prächtige, farbenfreudige Bilder, aber nicht mehr Information als mit Dunkelfeld erhältlich ist. Mehr als ein halbes Jahrhundert mußte verstreichen, bevor mit Nomarskis differentiellem Interferenzmikroskop eine grundsätzlich neue Technik optischer Färbung entwickelt wurde. Dieses Instrument ist gewiß ein epochemachender Fortschritt. Der dreidimensionale Effekt dieser optischen Vorrichtung ermöglicht es, Oberflächenstrukturen zu sehen. Diese Möglichkeit ist aber meiner Erfahrung nach am besten mit Schwarzweiß-Einstellung auszuwerten. Die Farben, die durch Adjustierung des Analysators erzielt werden können, bewirken m.E. keine Verbesserung des Kontrastes oder der Auflösung. Auch hier ist der Effekt ein „kosmetischer".

Die einzige wissenschaftlich wertvolle Methode optischer Färbung ist bisher mit dem Interferenzmikroskop nach Jamin-Lebedeff erreicht worden. Das Umschlagbild eines lebenden *Paramecium caudatum* ist mit einem solchen Instrument gemacht. Die nachfolgenden strukturellen Einzelheiten sind in dieser Mikrofotografie sichtbar:

Das Cytoplasma erscheint gelb, das Cytostom (Mundöffnung) braun, die beiden kontraktilen Vakuolen sind weiß. Zahlreiche Nahrungsvakuolen erscheinen grün, die einverleibten Hefezellen hellgrün. Die Wimperbasen sind als winzige braune Punkte zu sehen. Der Großkern ist braun, der ihm anliegende Kleinkern violett.

Das Jamin-Lebedeff-Interferenzmikroskop basiert auf einem verfeinerten Phasenkontrast-System. Im gewöhnlichen Phasenkontrast wird die Retardierung der Lichtwellen, die das Licht erfährt, wenn es Zelleinschlüsse verschiedener Brechungsindices passiert (die unser Auge nicht wahrnehmen kann) verstärkt und in Helligkeitsunterschiede übersetzt. Im Jamin-Lebedeff-System wird das Licht in zwei Bündel geteilt. Ein Bündel wird durch das Objekt geleitet und erfährt eine Retardierung, das zweite Bündel geht nicht durch das Objekt und wird nicht beeinträchtigt. Wenn beide Bündel wieder vereinigt werden, interferieren sie und ergeben einen Phasenkontrast, der bei Anwendung polarisierten Lichtes auch in Farbunterschieden ausgedrückt werden kann.

Eine komplette Jamin-Lebedeff-Ausrüstung ist von der Firma Carl Zeiss, Oberkochen entwickelt worden. Drei Objektive sind verfügbar: 10/0.22, 40/0.65 und 100/1.0 Öl. Jedes Objektiv benötigt einen besonders abgestimmten Kondensor. Ferner braucht man einen Zwischentubus mit Analysator sowie ein Polarisationsfilter und ein Hilfsmikroskop für die Adjustierung der Apparatur.

Das Jamin-Lebedeff-Instrument ist nur für einzelne Zellen verwendbar, nicht für Gewebe. Das System bringt es mit sich, daß in einiger Entfernung des Hauptbildes ein verschwommenes „Nebenbild" entsteht. Die Nebenbilder zahlloser nebeneinanderliegender Zellen machen natürlich eine Beobachtung unmöglich.

Verfasser: Eric V. Grave, 651 West 171th Street, New York 10032, N.Y. USA.

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

Karl Lustig

Die Lyraorgane der Spinnen

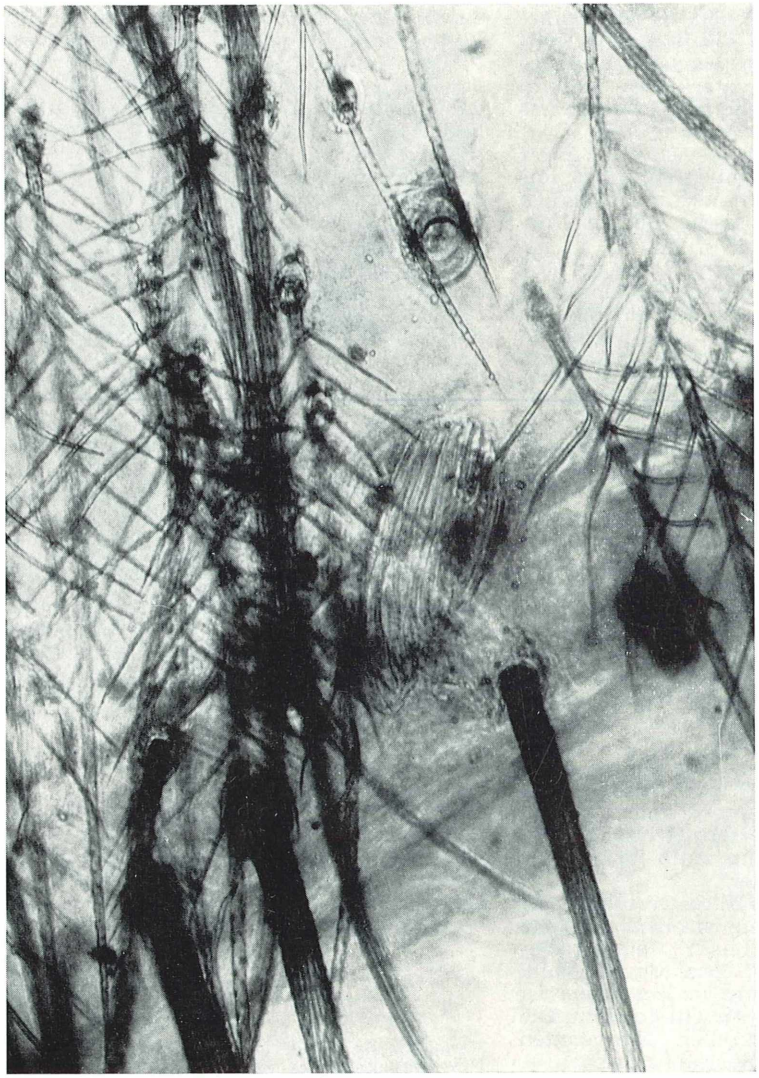
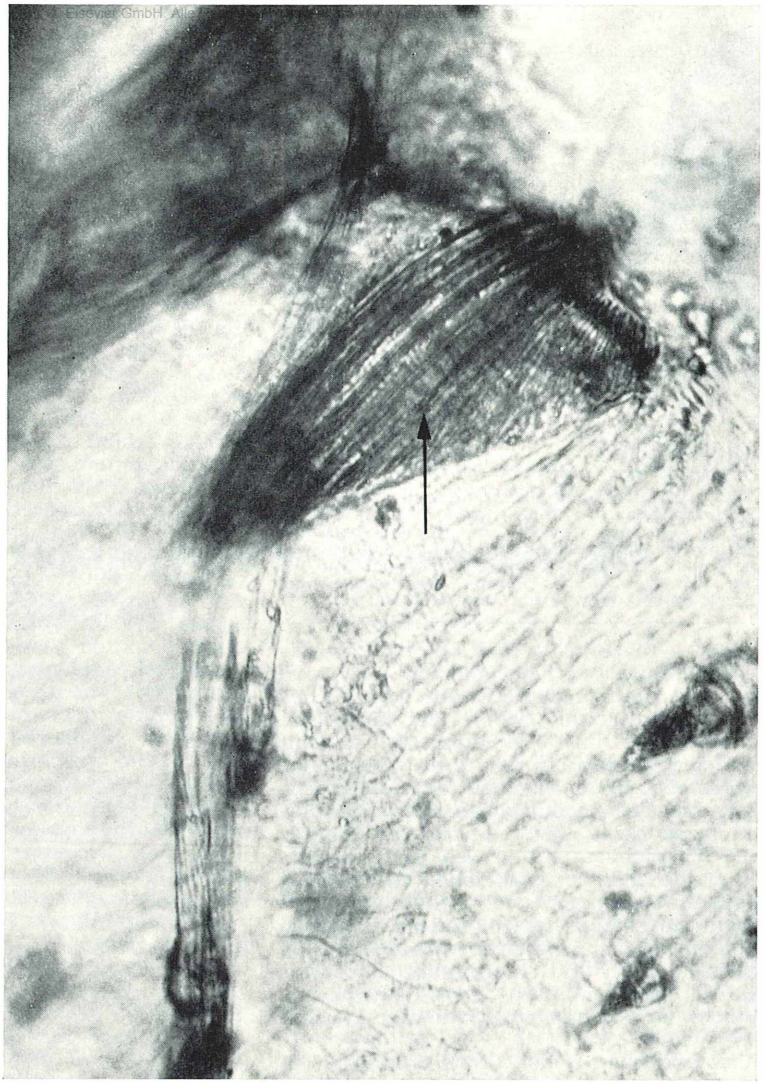


Bild 1 a und Bild 1 b: Je ein unterschiedlich geformtes, aus ca. 12 bis 25 Spalten zusammengesetztes Lyraorgan eines Laufbeines der Hauswinkelspinne *(a)* und der Kreuzspinne *(b)*. Lage des Organs: Hinterfläche des äußeren Endes der Tibia. Die Spalten liegen zwischen den cuticularen Lippen. In der Mitte von *1 b* (Pfeil) eine Dendritenendstelle. Lichtmikroskopische Vergrößerung 600 : 1; fotografisch nachvergrößert. Aufnahme Verfasser.

1 a

© Elsevier GmbH. Alle



1 b

Wer einmal eine größere Spinne, etwa die Hauswinkelspinne oder eine Kreuzspinne, längere Zeit auf ihr Verhalten gegenüber Erschütterungen im Terrarium beobachtet hat, wird u. a. bemerkt haben, daß dieses Tier auf Vibrationsreize äußerst rasch reagiert.

Die Frage liegt nahe: mit welchem Sinnesorgan empfängt die Spinne solche Vibrationsreize?

Mit hoher Wahrscheinlichkeit sind es die Lyraorgane, die bei der Hauswinkelspinne oder der Kreuzspinne an den Laufbeinen lichtmikroskopisch bei 300- bis 600facher Vergrößerung gut auffindbar sind, an denen man Details jedoch nicht ganz leicht erkennen kann. Sie wurden bereits von Gaubert 1890 und Vogel (1923) beschrieben. Zur Untersuchung schneidet man einer abgetöteten Spinne möglichst nahe am Körper ein Bein ab und bringt es bei Zimmertemperatur für 24 bis 40 Stunden in etwa 10%ige Kalilauge (nicht länger, um ein Aufquellen zu vermeiden), danach wird gründlich in Wasser ausgewaschen und unter dem Deckglas ein Quetschpräparat hergestellt.

Die Lyraorgane als zusammengesetzte Spaltorgane liegen fast immer in Gelenknähe; neben ihnen besitzen die Spinnen noch einfache Spaltorgane, die hier außer Betracht bleiben sollen.

Ihre äußere Gestalt zeigt etwa die Form des alten griechischen Musikinstrumentes

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

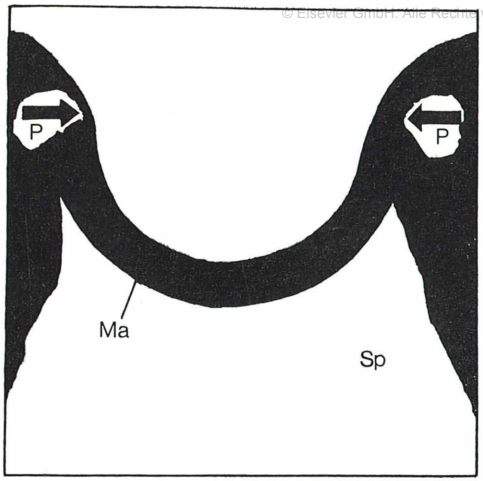


Bild 2: Schema eines elektronenmikroskopischen Querschnittes (Originalvergrößerung 44 000fach) durch den Spalt. *Ma* die den Spalt bedeckende Membran, *Sp* Spalt, *P* mit Pfeilen soll die zunehmende Biegung der Deckmembran *Ma* bei der Kompression des Spaltes veranschaulichen. Stark schematisch vereinfacht nach Barth.

einer Lyra (Bild 1 a und 1 b) mit zahlreichen unmittelbar nebeneinander liegenden Spalten, deren meist schwach bogenförmiger Verlauf leicht variiert. Bei Durchlicht, noch besser im Phasenkontrast, erkennt man gelegentlich in der Mitte eines Spaltes oder mehr nach einem der beiden Enden zu gelegen eine kleine ovale Erweiterung; sie zeigt die Stelle, wo der Dendrit der Sinneszelle an die den Spalt bedekkende Membran herantritt. Als Ganzes sind die Lyraorgane von einem Cuticularwall umgeben, liegen einzeln oder zu Gruppen zusammengefaßt im Außenskelett, wobei Gestalt und Anordnung der cuticularen Hilfsstrukturen den Receptor zu einem sehr leicht verformbaren Gebilde machen.

Verständliche Bilder von Querschnitten durch den Spalt erhält man nur mittels elektronenoptischer Beobachtung. Da dem Amateur im allgemeinen kein Elektronenmikroskop zur Verfügung steht, sollen schematische Zeichnungen die Schnittbilder ersetzen (Bild 2). Aus ihnen ist zu ersehen, daß die nur 0,25 µm dicke Deckmembran an der Oberfläche der äußersten Cuticularschicht der Spaltenränder ansetzt und dachrinnenartig nach unten durchgebogen ist. Als Hilfskonstruktion dient der sog. Koppelungszylinder (Bild 3), in dem der längere der beiden Dendriten, der nach allen bisher vorliegenden experimentellen Ergebnissen für die Reizaufnahme der wichtigste ist, endigt. Er liegt in einer zylinderförmigen Vertiefung, deren Lumen das Dendritenende birgt, welches bei Druck gereizt wird.

Die Länge der verschiedenen Spalten kann in weiten Grenzen variieren, ebenso wie auch ihre Zahl. Die Richtung der Spaltlängsachsen ist zwar ein wenig unterschiedlich, aber immer optimal, und die Wölbung der Deckmembran nimmt innerhalb eines Lyraorganes mit der Spaltlänge zu. Schließlich sei darauf hingewiesen, daß diese Sinnesorgane mit zunehmendem Alter bzw. zunehmender Größe der Spinne wachsen.

Bei allen Belastungsarten der Laufgelenke: Druck, Zug, Biegung und Torsion wird die Deckmembran des Spaltes passiv mitbewegt, und zwar verstärkt sich die Wölbung der Deckmembran bei Kompression, sie wird flacher bei Dilatation (Dehnung), wobei stets die Kraft senkrecht zur Längsrichtung der Spalten ansetzt. Die Empfindlichkeit dieses Sinnesorganes auf Vibration der Unterlage erhöht sich mit der Zunahme der Spaltlänge und mit der Ausrichtung der Spaltlängsachse zur angreifenden Druckrichtung; je größer letzterer ist, um so größer wird die Wölbung der Deckmembran und zugleich die Annäherung des Dendritenbereiches an den Koppelungszylinder.

Am leichtesten auffindbar sind die Lyraorgane an den Laufbeinen der Spinnen; sie liegen auf den Vorder- und Hinterflächen (vom Betrachter einer von oben beobachteten Spinne aus gesehen) in der Nähe der Drehpunkte der entsprechenden Gelenke und sind annähernd symmetrisch gegenüberliegend angeordnet.

Die Lyraorgane sind also (wahrscheinlich neben Einzelspaltorganen) eine bedeutungsvolle Informationsquelle für die Wahrnehmung von Erschütterung der Unterlage für die Spinne; und die im Metatarsus gelegenen zusammengesetzten Spaltorgane stellen einen empfindlichen Vibrationsreceptor dar.

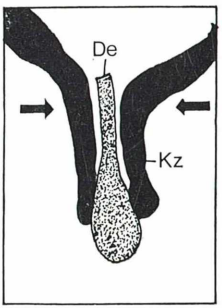


Bild 3: Schema eines elektronenoptischen Querschnittes (Originalvergrößerung 26 400fach) des Kopplungszylinders *Kz*, der am Reiztransport beteiligt ist und das Dendritenende *De* aufnimmt. Die Pfeile veranschaulichen den Verlauf des Biegemomentes, das letztlich zur einachsigen Kompression des Dendritenendes führt.
Stark schematisch vereinfacht nach Barth.

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

Literaturhinweise:

1. *Barth, F. G.:* Der sensorische Apparat der Spaltsinnesorgane (Cupiennius salei KEYS. Araneae). Z. Zellforsch. **112**, 212—246 (1971).
2. *Barth, F. G.:* Bauprinzipien und adäquater Reiz bei einem Mechanoreceptor, in Verh. Deutsch. Zool. Ges. **66**, 25—30 (1972).
3. *Barth, F. G.:* persönliche Mitteilung.
4. *Barth, F. G.:* Die Physiologie der Spaltsinnesorgane. I. Modellversuche zur Rolle des cuticularen Spaltes beim Reiztransport. J. comp. Physiol. **78**, 315—336 (1972).
5. *Barth, F. G.:* Die Physiologie der Spaltsinnesorgane. II. Funktionelle Morphologie eines Mechanoreceptors. J. comp. Physiol. **81**, 159 bis 186 (1972 b).
6. *Barth, F. G.*, und *W. Libera*: Ein Atlas der Spaltsinnesorgane von Cupiennius salei KEY. Chelicerata (Araneae). Z. Morph. Tiere **68**, 343—369 (1970 b).
7. *Liesenfeld, F. J.:* Über Leistung und Sitz des Erschütterungssinnes von Netzspinnen. Biol. Zbl. **80**, 465—475 (1961).
8. *Vogel, H.:* Über die Spaltsinnesorgane der Radnetzspinnen. Jena. Z. Naturwiss. **59**, 171—208 (1923).
9. *Walcott, C.*, and *W. G. van der Kloot:* The physiology of the spider vibration receptor. J. exp. Zool. **141**, 191—244 (1959).

Winke fürs Labor

Hans Opitz

Moderne Textilfarbstoffe in mikroskopischen Farbfixiergemischen

Versuche mit neuen Kombinationen

Seit einem Jahrhundert spielen in der Mikroskopie immer wieder dieselben Farbstoffe eine Rolle. Damals bestanden die Textilien aus Baumwolle, Leinen, Wolle und Seide. Deshalb sprach man von Baumwoll- und Wollfarbstoffen. Man könnte sie auch Zellulose- bzw. Eiweißfarbstoffe nennen. Um die Jahrhundertwende gelang die Herstellung der ersten künstlichen Fasern. Da sie aus Zellulose bestanden, war das Färben kein Problem. Erst die Azetatfäden, ein Ester der Zellulose mit Essigsäure, erforderten neue Farbstoffe. Seit den dreißiger Jahren wurden neue synthetische Fasern und Fäden mit ganz anderem chemischen Aufbau und daher neuartigen Eigenschaften geschaffen. Nun mußten neue Farbstoffe gefunden werden. Da die Polyamidfasern endständige Aminogruppen enthalten und damit den natürlichen Eiweißfasern ähneln, konnte man für sie den Wollfarbstoffen ähnliche Farbstoffe nehmen. Die Polyacrylfasern werden mit basischen Farbstoffen gefärbt.

Bei einigen Färbemethoden spielt die chemische Bindung zwischen Farbstoff und Faser eine Rolle. Das führt zu Überlegungen, ob man das Zellulosemolekül mit Farbstoffen so verbinden kann wie die Zellulose mit Essigsäure. Das Ergebnis waren die Reaktivfarbstoffe. Da man die OH-Gruppen der Zellulose nicht nur esterartig verknüpfen kann, sondern auch ätherartig, gibt es viele verschiedenartige Farbstoffe. Eignen sich nun moderne Textilfarbstoffe für die Untersuchung mikroskopischer Objekte? Es liegen genügend Literaturhinweise vor (1). Der Verfasser machte Versuche mit einer größeren Anzahl von Farbstoffen aus verschiedenen Gruppen. Dabei interessierte die Frage: Gibt es geeignete Farbfixierungen, um schnell Protozoen finden und erkennen zu können, z. B. bei der Untersuchung von Erdproben oder Proben aus Sümpfen usw.?

Für die Versuche wurden folgende Farbstoffe genommen:

Basacrylrot FL (BASF), Cibalanorange RL (Ciba-Geigy), Diamantchromreinblau B (Bayer), Hostalanblau FL (Hoechst), Maxillonbrillantscharlach 2 G (Ciba-Geigy), Methylgrün (Merck), Ortolanrot G (BASF), Phloxin (Chroma Ges.), Reactofilblau 2 RLD (Ciba-Geigy), Reactofiltürkisblau GL (Ciba-Geigy), Reactonrubin S-BRL (Ciba-Geigy), Remazolrot B (Hoechst), Remazolschwarz B (Hoechst), Supracenviolett 3 B (Bayer).

Da jeder Farbstoff wasserlöslich ist und die meisten alkohollöslich sind, wurden zwei Versuchsreihen durchgeführt: 1. Lösung in Wasser: Benutzt wurde eine Natriumazetat-Essigsäure-Pufferlösung mit dem pH 6, der 10% neutraler Formaldehyd

©Ges. zur Förderung d. Erforschung von Insektenwanderungen e.V. München, download unter www.zobodat.at

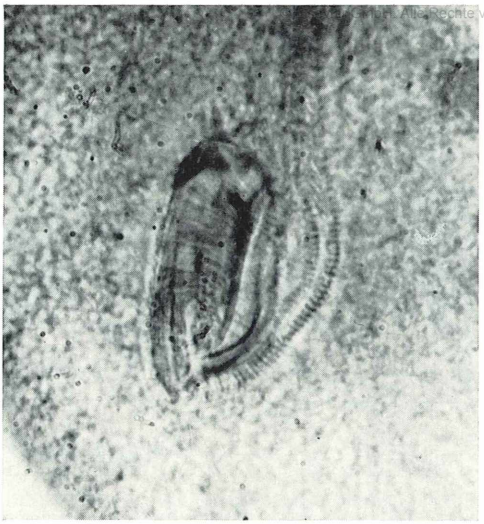


Bild 1: Cytostom („Zellmund") des Wimpertieres *Frontonia*. Färbung: Reactofilblau 2 RLD-Basacrylrot.

bzw. 3% neutraler Glutaraldehyd zugefügt wurde. Die Lösungen wurden später dadurch vereinfacht, daß zu Natriumazetatlösung aus der Vorratsflasche die sauren Aldehyde zugefügt wurden und der pH — falls nötig — durch Essigsäure korrigiert wurde (Indikatorpapier). Im Text werden diese Lösungen mit „pH" abgekürzt.

2. Lösung in 50% Alkohol, dem 10% Formaldehyd bzw. 3% Glutaraldehyd zugefügt wurden. Im Text abgekürzt „AF" bzw. „AG".

Da für die Färbungen nicht viel Farblösung gebraucht wird, genügt es, von jedem Farbstoff 0,05 g in 10 ml zu lösen und dann die Mischungen herzustellen. Eine preiswerte Hornschalenwaage für 20 g Belastung genügt für das Abwiegen der Farbstoffe. Die Essigsäure läßt sich leicht abmessen. Mit Hilfe einer Meßpipette wurde festgestellt, daß 55 Tropfen gleich 1 ml sind. Etwa 20 Tropfen Wasser sind 1 ml. Diese Genauigkeit genügt.

Zu dem zu untersuchenden Tropfen wird nur wenig Farbstofflösung zugesetzt. Aus einer farblosen Plastikflasche schneide man sich etwa 3 mm breite und 5 cm lange Streifen und klebe als Handgriff ein Stück Kork an. In die Farblösung eingetaucht, bleibt die nötige Menge Lösung haften.

Es wurde besonderer Wert auf die Haltbarkeit der Lösung gelegt, denn der Liebhabermikroskopiker kann nicht dauernd frische Lösungen herstellen. Da nur wenig Farbstoff nötig ist, kann man sie auch auf Reisen mitnehmen, sofern man unterwegs Studien betreiben will.

Kerne werden im allgemeinen mit basischen Farbstoffen gefärbt — besser nennt man sie kationische Farbstoffe. Man unterscheidet verschiedene Gruppen. Zu den Triphenylmethanfarbstoffen gehören Methylgrün und Kristallviolett. Die Acrylfasern können mit ihnen gefärbt werden, doch sind die Färbungen nicht echt. Man entwickelte aus den „klassischen" neue, die aber nicht Kerne färben. Nach vielen Versuchen wurde als Partner des viel verwendeten Kernfarbstoffes Methylgrün das Basacrylrot als geeignet gefunden. Von beiden werden 0,5%ige Lösungen in AG hergestellt und Grün : Rot im Verhältnis 2 : 1 gemischt, dann wird 1% Essigsäure hinzugefügt. Die Lösung färbt schnell und hält sich mindestens 2 Jahre. Auch die pH-Lösung (hier pH 5) ist gut. Die grün gefärbten Kerne heben sich deutlich von dem rot gefärbten Plasma ab.

Die Maxillonfarbstoffe können, da sie etwas anders aufgebaut sind als die anderen kationischen Farbstoffe, mit Direktfarbstoffen gemischt werden, ohne daß sich die Farbstoffe binden oder ausfällen (2). Es wurden auch Versuche mit diesen Farbstoffen gemacht. Das Maxillonblau RL verwendete D. F. Almeida (3) zum Färben von Tumoren in 0,05%igen Lösungen vom pH 4,1. Es eignet sich zum Nachweis von sauren Mukopolysacchariden bes. auch Chondroitinschwefelsäure. Hierbei hatte die Lösung den pH 5.

Die sog. sauren Farbstoffe, ursprünglich nur für die natürlichen Polyamidfasern Wolle und Seide bestimmt, können auch für geschaffene Fasern verwendet werden. Die Farbstoffe verbinden sich mit den NH_2- bzw. OH-Gruppen der Wolle.

Die Metallkomplexfarbstoffe enthalten Chrom- bzw. Kupferatome, an denen ein oder zwei Farbstoffmoleküle von gleichem oder verschiedenem Aufbau gebunden sind. Es gibt viele Kombinationen. Hier werden nur die Anwendungsmöglichkeiten von

Bild 2: Kleinkern (Mikronucleus) des Wimpertieres *Bursaria* in Teilung. Färbung: Remazolschwarz-Orange G.



© Elsevier Gesellschaft ... vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Cibalanorange und Ortolanrot besprochen. Die Farbstoffe lösen sich gut in Alkohol und färben im schwach sauren Gebiet (pH 5—6).

Typische Wollfarbstoffe sind die Chromfarbstoffe. Entweder chromiert man die Wolle in schwach essigsaurem Kaliumbichromatbad vor, nach oder während des Färbens. Es wurden daher Versuche mit Farbstofflösungen in Verbindung mit Fixierlösungen nach Müller, Helly und Regaud durchgeführt. Eine vereinfachte Methode ist: 0,05 g Diamantchromreinblau werden in 10 ml 50%igem Alkohol gelöst und Aldehyd zugefügt. Der Aldehyd dient nicht nur zum Fixieren, er verhindert auch die Oxidation des Farbstoffes. Diese Lösung wird mit der doppelten Menge einer 0,5%igen Lösung von Reactonrubin in Wasser (+3% Glutaraldehyd) gemischt. Von der Farbstoffmischung wird sehr wenig dem zu untersuchenden Wassertropfen zugefügt. Nun gibt man eine Spur einer 2%igen Kaliumbichromatlösung hinzu. Die Färbung dauert 30—60 min. Die Kerne werden rot, Cilien, Trichocysten und Teile des Plasmas blau. Die Oberflächenstruktur von *Paramecium* wird ebenfalls gefärbt. Eine Kombination mit Maxillonscharlach ist auch möglich. Die Farbstoffe müssen nacheinander zugefügt werden. Mischungen sind nicht lange haltbar. Eine haltbare Mischung ist Diamantchromreinblau-Remazolrot in AG.

Ein guter Kernfarbstoff ist auch das anionische Supracenviolett, das alkoholunlöslich ist. Man stellt eine gesättigte wäßrige Lösung her, gibt Aldehyd und 3% Essigsäure hinzu. Zur Lösung gibt man den siebenten Teil einer Lösung von 0,5% Cibalanorange oder Ortolanrot in 50% AF hinzu. Die Lösung ist etwa 2 Jahre haltbar. Kerne werden violett, Plasma, Cilien, Trichocysten orange bzw. rot.

Die Reaktivfarbstoffe enthalten im allgemeinen eine endständige Sulfosäuregruppe. Sie können also mit Zellulose Ester bilden. Diese Bindung erfolgt beim Färben der Baumwolle im pH-Bereich zwischen 7 und 10. Arbeitet man indessen im sauren Bereich, können sich auch Eiweißstoffe mit dem Farbstoff verbinden. Die Bindungen sind sehr stabil.

Neben der Esterbindung ist noch eine ätherartige Bindung möglich. Die Farbstoffe dieser Gruppe färben Kerne sehr gut, nur dauert die Färbung oft mehrere Stunden, daher wurde von einer Besprechung abgesehen. Durch Abänderung der aktiven Gruppen ist eine große Variationsmöglichkeit vorhanden. Von den vielen Farbstoffen werden hier nur einige benutzt:

Reactonrubin, Reactofiltürkis und das kupferhaltige Reactofilblau 2 RLD, das bei pH 4—6 eine hohe Stabilität besitzt. Remazolrot, Remazolschwarz und Hostalanblau enthalten die Vinylsulfongruppe. Sie verhalten sich daher anders als viele andere Reaktivfarbstoffe (4).

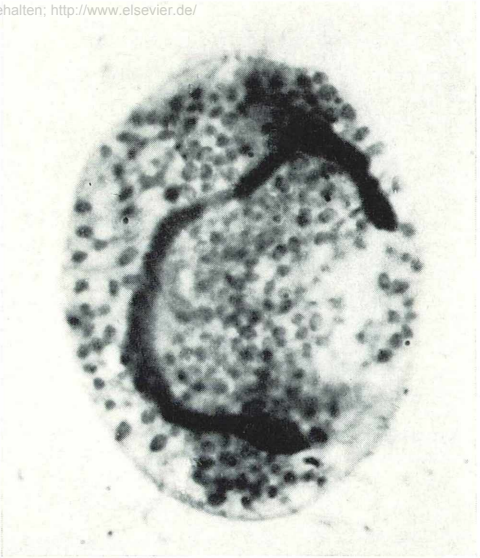


Bild 3: Wimpertier *Euplotes*. Färbung Remazolschwarz-Cibalanorange.

Remacol färbt Wolle in Gegenwart von Natriumazetat. Der Farbstoff ist widerstandsfähig gegenüber organischen Lösungsmitteln. Das Vinylsulfon verbindet sich mit der Aminosäure bzw. den Amino- und Thiolgruppen der Wolle. Versuche mit guten Ergebnissen machte T. N. Salthouse (5) mit Remazolfarbstoffen bes. mit Remazolschwarz B. Schnitte von Haut, Niere, Herz, Aorta, Magen, Zwölffingerdarm und Gehirn von gesunden Laborratten und Hunden wurden in gepuffertem Formalin und Heidenhains Susa fixiert. Dann wurden die Schnitte mit in Natriumveronal-Natriumazetatpuffer gelöstem Remazolschwarz gefärbt. Die Schnitte wurden gewaschen, entwässert und eingebettet. Die Remazolfarbstoffe wurden wie die Färbungen nach van Gieson, Masson oder mit Azan eingesetzt. Die Remazolfärbungen funktionierten ähnlich den gebräuchlichen Kollagenfärbungen mit Säurefuchsin, Anilinblau und Fast Green. Die Färbung ist selektiv und genau. Bei pH 7 werden die Kerne nur schwach gefärbt, gut ist pH 5. Die Färbungen sind nach Susa besser als nach der Formolfixierung. Es wurden auch Versuche mit Lösungen von Remazolschwarz in Pikrinsäurelösung durchgeführt. Färbung und Kontrast waren gut. Nach eigenen Versuchen sind auch Farbfixiermischungen von Pikrinsäure mit anderen Reaktivfarbstoffen möglich z. B. mit Levafix (Bayer), Reactonrubin, Reactofiltürkis und Hostalan.

Vor dem Lösen müssen Remazole alkalisch

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

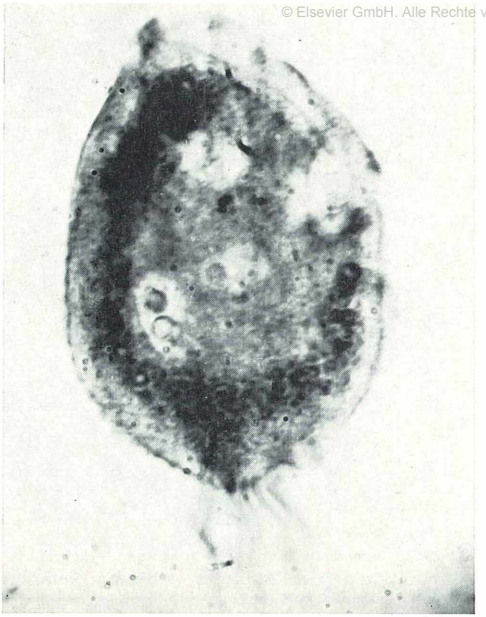


Bild 4: Wimpertier *Euplotes*. Färbung Reactofiltürkisblau-Phloxin.

(Natriumphosphat) vorbehandelt werden, da sich das Vinylsulfon nicht im sauren Gebiet bildet. Addition erfolgt im sauren Gebiet. Bei den hier gemachten Versuchen stellte sich heraus, daß eine Vorbehandlung nicht nötig ist. So wurde der Farbstoff direkt in AG bzw. pH gelöst. Übrigens schreibt auch Salthouse in seiner Arbeit nichts von einer Vorbehandlung des Farbstoffes.

Als Gegenfärbung zum Remazolschwarz eignen sich alkoholische Lösungen von Cibalanorange oder Ortolanrot, von denen man 1/9 der Remazolschwarzlösung hinzufügt, dazu kommt 1% Essigsäure. Kerne, Trichocysten und Protrichocysten werden schwarz, Plasma und Cilien orange bzw. rot (Bilder 2 und 3).

Das Hostalan muß vorbehandelt werden. Zuerst wird der Farbstoff in abs. Alkohol gelöst, um ihn von den Stellsalzen zu befreien, die zum Färben der Stoffe nötig sind. Nach dem Filtrieren wird eingedampft und zwei Minuten in Wasser gekocht.

Das Hostalan ist ein sehr guter Farbstoff für Cilien, Trichocysten und, allein angewandt, für Kerne. Man kann das Hostalan, in AG gelöst, mit Remazolrotlösung in AG im Verhältnis 1 : 8+1% Essigsäure mischen. Interessant ist auch eine Kombination mit dem in Alkohol unlöslichen Reactonrubin in pH. Diese Lösung hält sich nicht so lange wie alkoholische Lösung, die mindestens zwei Jahre haltbar ist.

Schon wenige Minuten nach Zugabe der Farblösung sind die ausgestoßenen Trichocysten gefärbt. Der Kern wird dunkelrot und das Plasma hellrot. Da sich das Blau gut vom Rot abhebt, wird auch die Untersuchung des Cytostoms erleichtert. Ist das Mischungsverhältnis ungünstig, etwa 1 : 4, wird das Rot, bes. das Remazolrot, nach einigen Stunden verdrängt.

Reaktivfarbstoffe, die Baumwolle färben, können mit sauren und basischen Farbstoffen kombiniert werden, um die Kontraste zu erhöhen. Sie sind in Wasser und Alkohol löslich. Von beiden Möglichkeiten wurde Gebrauch gemacht.

Die Lösungen von Reactofiltürkis und Phloxin in pH werden im Verhältnis 12 : 1 gemischt, dann werden 2% Essigsäure hinzugefügt. Wimpern und Trichocysten werden türkis gefärbt, nach einigen Stunden wird der Kern blau (Bild 4).

Reactofilblau 2 RLD kann ebenfalls mit Phloxinlösung gemischt werden. Interessanter ist aber eine Färbung zusammen mit Basacrylrot. Kern, Basalkörper, Cilien werden blau, das Plasma rot. Auf 5 Teile Blau nimmt man einen Teil Rot. Für manche Objekte ist ein größerer Blauanteil günstiger. Die AG-Lösung färbt schneller als die pH-Lösung (Bild 1).

Die Fixierfarbmischungen sind nicht gleichwertig. Wenn man sich schnell über Zahl und Form der Kerne orientieren will, nimmt man am besten Methylgrün-Basacrylrot. Geißeln, Wimpern, Trichocysten lassen sich schnell mit Hostalanblau-Remazolrot färben. Für Kern- und Plasmastudien eignen sich Remazolschwarz und Reactofilblau besonders gut. Die Färbung dauert hierbei länger. Die Fixierfärbungen kann man auch bei der Untersuchung von freilebenden Flagellaten und Rhizopoden verwenden. Trypanosomen lassen sich schlecht färben. Pflanzliche Objekte und Bakterien nehmen die Farbstoffe ebenfalls auf.

Um die Präparate eine Zeitlang aufheben zu können, wurden Einbettungsversuche u. a. mit Polyvinylpyrrolidon (Fluka AG) gemacht. Die sauren Farbstoffe werden gelöst, die basischen bleiben erhalten. Sehr gut geeignet ist das Karion (Merck), das aber nur in geringen Mengen zugesetzt werden darf, um Schrumpfungen zu vermeiden. Die Präparate sind monatelang bis zu einem Jahr (nach bisherigen Erfahrungen) haltbar.

Literaturhinweise:

1. *Bedrick, A. E.:* Stain Techn. 39 (1964) 33 u. 43 (1968) 321.
2. Mitteilung Geigy. Melliand Textilberichte 49 (1968) 110 s. auch 51 (1970) 600.
3. *Almeida, D. F.:* Stain Techn. 35 (1960) 129.
4. *Reinert, G.:* Melliand Text. 49 (1968) 1313.
5. *Salthouse, T. N.:* Stain Techn. 46 (1971) 254.

Verfasser: H. Opitz, Neukoppel 23 b, 2000 Hamburg 62.

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

Klaus Dietrich

Ein günstiges Objekt zur Demonstration phototropischer Reaktionen:

Der Schimmelpilz Phycomyces blakesleeanus

Neben den bekannten phototropischen Reaktionen des auf Pferdemist wachsenden *Pilobolus* eignen sich auch die Sporangienträger der *Phycomyces*-Arten wegen ihrer erstaunlichen Lichtempfindlichkeit für reizphysiologische Untersuchungen.
Außer *Phycomyces blakesleeanus* sind drei weitere *Phycomyces*-Arten bekannt: *Phycomyces microsporus, Phycomyces nitens* und *Phycomyces splendens.*
Die zur Familie der Mucoraceen (Köpfenschimmel) gehörende Gattung *Phycomyces,* hat folgende Merkmale: Das Substratmyzel ist reich verzweigt und gelblich gefärbt. Junge, ein bis zwei Tage alte Kulturen bilden kurze, etwa 1 mm hohe, unverzweigte Lufttriebe ohne Sporenanlagen. Nach zwei Tagen erscheinen die langen, metallisch blaugrün schillernden Langtriebe, die an der Spitze das kugelförmige Sporangium tragen — die Sporangienträger. Die unreifen Sporen sind kugelrund und werden mit der Reifung länglich-rund (ellipsoidisch). Die unseptierte Traghyphe schließt mit einer Membranhaut — der Kolumella — die sich in das Sporangium hineinwölbt, ab.
Die Arten *P. blakesleeanus, P. microsporus, P. nitens* und *P. splendens* unterscheiden sich in der Größe und Farbe der Sporangienträger, der Sporangien, der Sporen und der Form der Kolumella.
Zur Bestimmung kann folgende tabellarische Übersicht der wichtigsten Artmerkmale dienen:

Phycomyces blakesleeanus
Sporangienträger steil aufrecht, 200—300 mm hoch, blau-schwarz-grünlich.
Sporangium schwarz, 900—1000 µm groß.
Sporen rötlich-braun, im Mittel 8,3 bis 12,9 µm.
Kolumella kugelig bis verkehrt eiförmig.

Phycomyces microsporus
Sporangienträger steil aufrecht 30—50 mm hoch, metallisch-grün.
Sporangien erst gelb, später schwarz, 500 µm groß.
Sporen gelblich, im Mittel 8 µm.
Kolumella leicht gewölbt.

Phycomyces nitens
Sporangienträger steil aufrecht 150—200 mm hoch, grau-schwarz.
Sporangien schwarz, 500—600 µm groß.
Sporen gelblich, im Mittel 11,2—26 µm.
Kolumella zylindrisch, in der Mitte eingeschnürt.

Phycomyces splendens
Sporangienträger steil aufrecht, 200—300 mm hoch, blau-blaugrün.
Sporangien erst goldgelb, später grau-bläulichweiß, 1000 µm groß.
Sporen gelblich, 22—30 µm.
Kolumella oval birnenförmig.

Wegen des relativ häufigen Vorkommens der Gattung *Phycomyces* ist es einfach, sie aufzufinden. Auf Grund ihrer saprophytischen Lebensweise sucht man sie am besten auf organischen Abfällen. So wurden sie von mir schon einigemale auf Pferdemist, Kaninchenmist und Abfällen einer Ölmühle beobachtet.
Zur Gewinnung der Sporen für Pilzkulturen entnimmt man einige Sporangienträger von ihrem natürlichen Substrat, bringt sie in ein Reagenzglas mit einigen ml Aqua dest. und schüttelt kräftig. Dabei platzen die Sporangien auf und die Sporen gehen in Suspension. Zeigt die Sporensuspension eine leichte Trübung, dann sind genügend Sporen darin enthalten, um sie zum Beimpfen der Kultursubstrate zu verwenden. Das Reagenzglas verschließt man mit einem Wattestopfen, damit die Impfsuspension nicht durch Sporen anderer Pilze aus der Luft kontaminiert wird. Bei Aufbewahrung im Kühlschrank bei $+4^\circ$ C halten sich die Sporen monatelang keimfähig.
Zur Kultur eignen sich wegen der heterotroph saprophytischen Ernährungsweise der Pilze vor allem organische Substrate

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

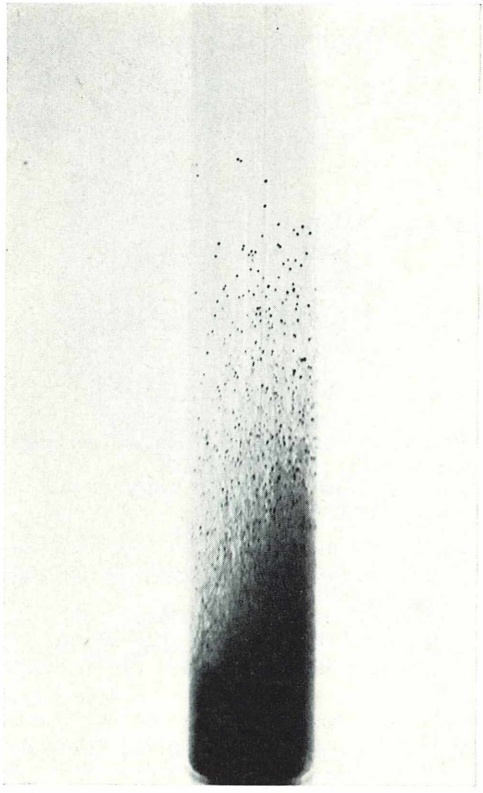


Bild 1: Geradliniges Wachstum der unbelichteten Sporangienträger einer Brotkultur von *Phycomyces blakesleeanus* im Reagenzglas.

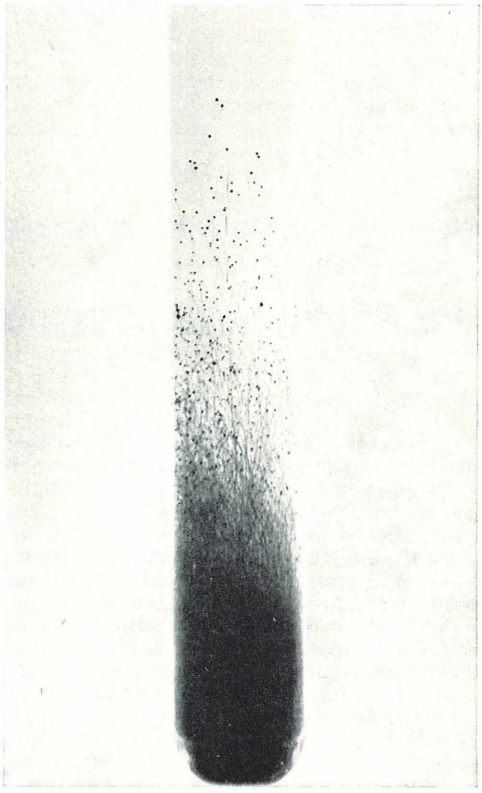


Bild 2: Schwache Krümmung der Sporangienträger nach kurzer (1minütiger) Belichtung mit einer 15 W Reuterlampe aus einer Entfernung von 30 cm und einer Latenzzeit von 5 Stunden.

wie Malzextrakt und andere Pflanzendekokte. Günstige Keimungs- und Wachstumsbedingungen finden die Sporen auch auf Schwarzbrot.

Die Kulturgefäße und Kultursubstrate sollten vor der Beimpfung sterilisiert werden, um die Verseuchung mit Sporen anderer Pilze zu verhindern. Wenn kein Autoklav zur Verfügung steht, läßt sich auch ein normaler Dampftopf (Schnellkochtopf), wie er im Haushalt verwendet wird, für diese Zwecke einsetzen.

Die Kulturgefäße werden vor dem Sterilisieren mit dem Kulturmedium, z. B. 3—5 g Brotkrume gefüllt. Anschließend werden Kulturgefäß und Kultursubstrat im Autoklaven etwa 20 Minuten lang behandelt. Bei Verwendung eines Dampftopfes sollte man die Behandlungszeit verdoppeln.

Nach dem Abkühlen des Kultursubstrates können die Sporen überimpft werden. Dies geschieht am besten mit der in der Bakteriologie üblichen Impföse. Die Sporen werden vorsichtig auf das Keimsubstrat gebracht, und das Kulturgefäß sofort mit einem Wattestopfen, bzw. Deckel verschlossen.

Im Kulturmedium findet die Spore die geeignete Umgebung und keimt aus. Nach etwa einem Tag hat sich ein vielfach verästeltes Myzel gebildet. Nach zwei Tagen erscheinen die schlanken Sporangienträger.

Diese Sporangienträger zeigen ein außerordentlich empfindliches Verhalten gegenüber Licht. So soll bereits die Absorption eines Lichtquantes genügen, eine Reaktion hervorzurufen.

Für reizphysiologische Versuche versieht man die Kulturröhrchen mit einem Papiermantel aus lichtundurchlässigem, schwarzem Fotopapier, oder man stellt die Kulturen in einen lichtdichten Kasten. Nach drei Tagen haben die Sporangienträger eine Länge von 3—5 cm und können dann für die verschiedensten phototropischen Untersuchungen herangezogen werden. Für die hier wiedergegebenen Untersuchungen wurde ein Wildstamm von *Phycomyces blakesleeanus* verwendet, der aus frischer Buchenwalderde isoliert wurde.

Sporangienträger von *Ph. blakesleeanus* aus im Dunkeln herangezogenen Kulturen zeigen ein nicht so starkes Längenwachstum, wachsen aber dafür senkrecht nach

oben. Setzt man Kulturen von oben einfallendem Licht aus, werden die Sporangienträger zwar insgesamt etwas größer — bis 8 cm — zeigen aber nicht mehr das schöne geradlinige Wachstum. Für phototropische Versuche verwendet man am besten im Dunkeln herangezogene Brotkulturen. Als phototropische Reaktion kann man dann sehr leicht die gerade beginnende Krümmung der Sporangienträger erkennen. In einer Versuchsreihe kann man mit fünf im Dunkeln gewachsenen Brotkulturen, die man einzeln verschieden lang der gleichen Lichtquelle aussetzt, das Reizmengengesetz untersuchen. Dabei zeigt sich, daß die Sporangienträger um so stärker gekrümmt sind, je länger sie insgesamt exponiert waren. Bei quantitativer Bestimmung der Lichtintensität mit Hilfe eines Luxmeters kann in einer ähnlichen Versuchsreihe die Grenzintensität der Lichtreizung bestimmt werden, oberhalb derer eine Reaktion der Sporangienträger nicht mehr erfolgt. Die untere Grenzintensität ist dann erreicht, wenn selbst nach beliebig lang ausgedehnter Beleuchtung keine Reaktion eintritt. Nach Versuchen von Bernhard zeigen die Sporangienträger von *Ph. blakesleeanus* bei Lichtintensitäten unter 0,000 003 MK selbst bei längerer Expositionsdauer keine phototropischen Reaktionen mehr. Dieses Versuchsergebnis deutet darauf hin, daß in diesem Grenzbereich der Lichtintensität das Reizmengengesetz für *Ph. blakesleeanus* nicht mehr gilt.

In einem weiteren Versuch läßt sich die Abhängigkeit der phototropischen Reaktion der Sporangienträger bei verschiedenen Lichtintensitäten aber gleicher Expositionsdauer untersuchen.

Fünf im Dunkeln herangezogene Brotkulturen werden einzeln steigender Lichtintensität bei gleicher Belichtungszeit ausgesetzt. Aus der Krümmung der Sporangienträger kann man erkennen, daß die phototropische Reaktion intensitätsabhängig ist, d. h. mit zunehmender Lichtintensität ist die Krümmung der Sporangienträger stärker.

Mit gefiltertem Licht kann man die spektrale Empfindlichkeit der Sporangienträger untersuchen. Dazu bringt man verschiedene Filter in den Strahlengang zwischen Lampe und Testkulturen. Als Filter eignen sich Fotofilter oder farbige Acrylglasscheibchen,

Bild 3: Stärkere Krümmung der Sporangienträger nach einer Belichtungszeit von 4 Minuten mit einer 15 W Reuterlampe aus einer Entfernung von 30 cm und einer Latenzzeit von 5 Stunden.

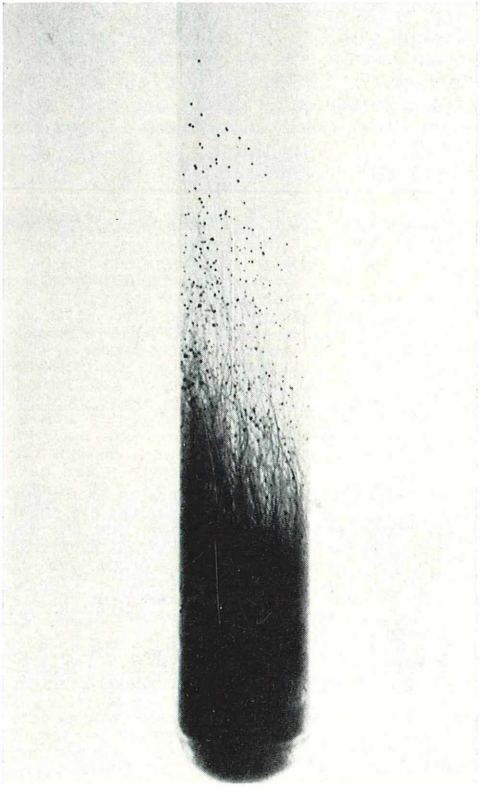
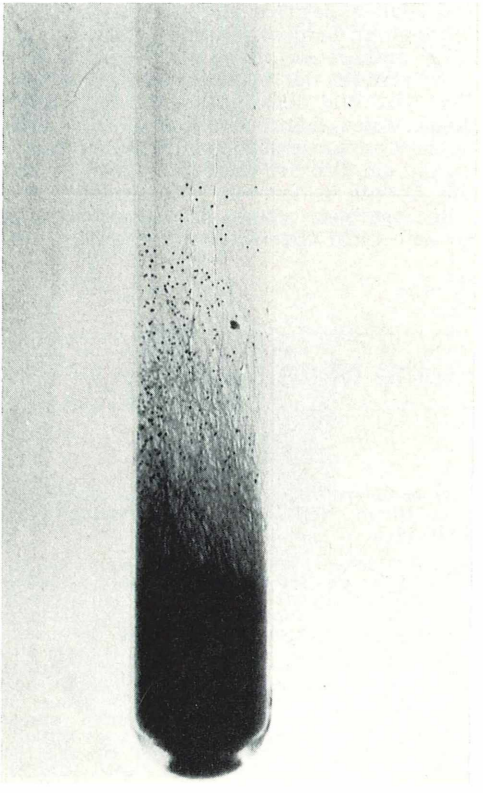


Bild 4: Starke Krümmung der Sporangienträger nach einer Belichtungszeit von 10 Minuten mit einer 15 W Reuterlampe aus einer Entfernung von 30 cm und einer Latenzzeit von 5 Stunden.



wie sie z. B. von der Firma Röhm & Haas, Darmstadt, als Farbmusterproben hergestellt werden. Zu diesen Filterscheibchen erhält man auch von der Herstellungsfirma ein Diagramm der spektralen Durchlässigkeit.

In einem Versuch kann man die phototropische Reaktion der Sporangienträger in Abhängigkeit von der spektralen Zusammensetzung des Lichtes untersuchen.

Fünf im Dunkeln herangezogene Brotkulturen werden einzeln rot-, orange-, gelb-, grün- und blaugefiltertem Licht ausgesetzt. Aus der Krümmung der Sporangienträger läßt sich sehr leicht ablesen, daß die Wirksamkeit der Strahlung mit zunehmender Wellenlänge abnimmt. Die größte reizphysiologische Wirksamkeit hat das blau-violette Licht. Aber auch der rote Teil des Spektrums hat Einfluß auf das phototropische Verhalten der Sporangienträger.

Bei allen reizphysiologischen Versuchen beruht die phototropische Reaktion der Sporangienträger auf Wachstumsbewegungen. Bei im Dunkeln herangezogenen Kulturen ist das geradlinige Wachstum als negative geotropische Reaktion zu erklären. Bei allen anderen Versuchen spielen offensichtlich Lichtwachstumsreaktionen (Wechsel zwischen Licht und Dunkelperiode) und positiver Phototropismus die entscheidende Rolle. Diese positive phototropische Reaktion kommt dadurch zustande, daß das einseitig einfallende Licht an den zylindrischen Wänden der Sporangienträger gebrochen wird und deswegen in der dem Licht abgewandten Hälfte einen etwa 25% größeren Weg zurücklegen muß. Daher kann, obwohl ein Teil der eingedrungenen Strahlung bereits in der dem Licht zugekehrten Seite absorbiert wurde, die Absorption auf der dem Licht abgewandten Seite doch insgesamt stärker sein als in jener. So kann die durch Strahlungsabsorption eingeleitete Wachstumsbeschleunigung auf der Rückseite der Sporangienträger größer werden als auf der Vorderseite.

Die phototropische Reaktion beginnt bei den *Phycomyces*-Sporangienträgern nach einer kurzen Latenzzeit, die der Lichtwachstumsreaktion entspricht. Für dieses System besteht also ein einfach durchschaubarer Zusammenhang zwischen Lichtwachstumsreaktion und phototropischer Krümmung im Sinne der Blaauwschen Theorie, der vor allen Dingen nicht durch Reizleitungsvorgänge gestört wird. Die Krümmung der Sporangienträger entsteht also durch unterschiedliches Lichtwachstum in den dem Licht zugewandten bzw. abgewandten Flanken.

Bei der Absorption der Strahlungsenergie spielen die in den Sporangienträgern nachgewiesenen gelben Farbstoffe (Karotinoide, Laktoflavine und Riboflavine) eine entscheidende Rolle.

Diese Farbstoffe könnten z. B. als Sensibilisatoren wirken, was durch die Tatsache erhärtet wird, daß ihre Absorptionsspektren mit den reizphysiologischen Wirkungsspektren übereinstimmen. Eine andere Erklärungsmöglichkeit besteht aber darin, daß die Karotinoide nur für die Herstellung eines wirkungsvollen Gefälles der Strahlungsintensität in den Sporangienträger zu sorgen hätten, um so für den von ihnen absorbierten Spektralbereich ein stärkeres Gefälle entstehen zu lassen, das einen stärkeren Unterschied der auf das Laktoflavin entfallenden Strahlung auf Licht- und Schattenseite ermöglicht.

Verfasser: Klaus Dietrich, Stedterweg 62, 6380 Bad Homburg v. d. H.

Kleine Mitteilungen

Eisen-Gallein-Färbung für elastische Fasern als Ersatz für die Verhoeffsche Hämatoxylin-Methode

Bei der Verhoeffschen Methode für elastische Fasern werden Gewebeschnitte mit einem Gemisch aus Hämatoxylin, Eisenchlorid und Jod überfärbt und anschließend mit verdünntem Eisenchlorid als Beize differenziert. Dabei halten die elastischen Fasern den Farbstoff stärker fest als alle anderen Gewebebestandteile; jedoch besteht beim Differenzieren unter optischer Kontrolle immer die Gefahr, zu stark oder zu wenig zu differenzieren, d. h. entweder werden einige oder sogar alle elastischen Fasern auch mitentfärbt, oder aber der Hintergrund ist noch so stark angefärbt, daß elastische Fasern dadurch der Beobachtung entgehen. Auch das zumeist als Gegenfärbung benutzte Pikrinsäure-Säurefuchsin-Gemisch von Van Gieson entfärbt die elastischen Fasern etwas. Demgegenüber hat das hier geschilderte Verfahren mit Gallein als Ersatz für das knappe Hämatoxylin den Vorteil, daß die Schnitte nicht unter optischer Kontrolle differenziert zu werden brauchen, und daß man viel weniger Gallein benötigt als Hämatoxylin bei der Verhoeffschen Methode.

Teile von Aorta, Bronchen, Niere, Lungen, Haut und Dünndarm von menschlichen Autopsien wurden in neutralem, 10%igem, phosphat-gepuffertem Formol fixiert und über die aufsteigende Alkoholreihe und Xylol in Paraplast eingebettet. Die mit einem Minot-Mikrotom hergestellten, 6 μm dicken Schnitte wurden auf warmem Wasser, das etwas Gelatine enthielt, gestreckt und auf Objektträgern aufgezogen. Nach Trock-

nung über Nacht bei 60 °C im Thermostaten wurden sie entparaffiniert und über die absteigende Alkoholreihe in H_2O dest. gestellt. Gefärbt wurden die Schnitte 30 Minuten in Eisengallein [Herstellung der Färbelösung: Lösung A: 1 g Gallein (C.I. Nr. 45445) wird in 20 ml Äthylenglykol gelöst, 80 ml absoluten Alkohols werden zugefügt und alles wird gut gemischt. Lösung B: 4 ml 29%iges, wäßriges Eisen-III-chlorid ($FeCl_3 \cdot 6\,H_2O$) werden mit 95 ml H_2O dest. und einem ml HCl konz. gemischt. Zum Gebrauch werden unmittelbar vor der Färbung gleiche Teile von Lösung A und Lösung B zusammengegeben, das entstandene Gemisch verfärbt sich blauschwarz.] Die Schnitte werden nun mit Wasser gut gewaschen. Mit 2-%iger, wäßriger Eisen-III-chlorid-Lösung wurde 2 Minuten differenziert und dann wieder gut mit Wasser gewaschen. Gegengefärbt wurde mit gesättigter wäßriger Pikrinsäure-Lösung, die auf einen ml Lösung je ein mg Säurefuchsin (C.I. Nr. 42685) enthielt, 1 Minute lang. Entwässert und differenziert wurde in zweimal gewechseltem, 95-%igem Alkohol. Über zweimal gewechselten absoluten Alkohol und zwei Stufen Xylol wurde in einem Kunstharz (z. B. Permount) eingeschlossen. Ergebnis: Elastische Fasern und Zellkerne waren schwarz gefärbt, kollagene Fasern rot.

Churukian, C. J. and E. A. Schenk: Iron gallein elastic method — a substitute for Verhoeff's elastic tissue stain. Stain Technol. **51**, 213—217 (1976).

Alexander Pareto

Zur Herstellung von Karmin-Essigsäure: Beruht die Mengenangabe auf einem Kommafehler?

Zur Anfärbung von Chromosomen in Pflanzenzellen verwendet man heute sehr häufig die Karmin-Essigsäurefärbung. Bei richtiger Anwendung liefert sie ebensogute Ergebnisse wie Orcein- oder Feulgenfärbung, ist aber einfacher zu handhaben. Die Karmin-Essigsäurefärbung wurde 1926 von Belling eingeführt. Sie zeichnet sich unter anderem vor allem dadurch aus, daß das Hydrolysieren direkt auf dem Objektträger über einer Spiritusflamme in der Färbelösung erfolgen kann, Wärmeschränke daher nicht benötigt werden.

Allerdings ist Karmin-Essigsäure nicht als gebrauchsfertige Lösung im Handel, sie muß aus Karmin selbst bereitet werden. Dazu wird Karmin in einem Wasser-Eisessig-Gemisch (45 : 55 oder 50 : 50 Vol.-%) 1 Stunde im Rückflußkühler gekocht, nach dem Erkalten wird das Gemisch 2mal filtriert und ist in verschlossenen Flaschen praktisch unbegrenzt haltbar.

Die Menge des erforderlichen Karmins ist in der Literatur sehr unterschiedlich angegeben. Darlington und La Cour (1947) verwenden 0,5 g Karmin je 100 ml Lösung. In der deutschsprachigen Literatur (Geitler 1940, Romeis 1948, Nultsch und Grahle 1968) wird für 100 ml Lösung 5 g Karmin verlangt. Diese Menge löst sich jedoch nicht auf, so daß vorgeschlagen wird, die Rückstände zu trocknen und erneut zu verwenden. Nach unseren eigenen Erfahrungen sind 0,5 g je 100 ml Lösung völlig ausreichend, um eine gut färbende Lösung herzustellen. Damit drängt sich der Verdacht auf, daß sich irgendwo in der Literatur ein Kommafehler eingeschlichen hat und deshalb in der deutschsprachigen Literatur die 10fache Menge Karmin verlangt wird. Wo dieser Fehler erstmalig aufgetreten ist, läßt sich jedoch nicht feststellen, da die Literaturangaben nicht ausreichend sind.

Bei einem Preis von 12—15 DM je 5 g Karmin ist es nicht nur für den Amateur wichtig zu wissen, ob man für dieses Geld 100 ml oder einen Liter Lösung herstellen kann.

Literaturhinweise:

1. *Belling, J.* 1926: The Iron-Acetocarmin method of fixing and staining chromosomes. Biol. Bull **50**/160—162
2. *Darlington, C. D.* and *L. F. La Cour* 1947: The handling of chromosomes. George Allen & Unwin Ltd. London p. 116, deutsch: D. *Krauter* 1963: Methoden der Chromsomenuntersuchung, Franckh'sche Verlagshandlung Stuttgart
3. *Geitler, L.* 1940: Schnellmethoden der Kern- und Chromosomenuntersuchung. Gebr. Borntraeger Berlin
4. *Nultsch, W.* und *A. Grahle* 1968: Mikroskopisch-Botanisches Praktikum für Anfänger. Georg Thieme, Stuttgart
5. *Romeis, B.* 1948: Mikroskopische Technik. Leibniz Verlag München

Verfasser: W. Nitzsche, 5000 Köln-Vogelsang, MPJ für Züchtungsforschung.

Kleinmagnetrührer für das Mikrolabor

Viele Substanzen, u. a. Farbstoffe, die der Mikroskopiker benötigt, lösen sich in Wasser oder Alkohol rasch und vollständig auf. Mit vielen aber hat der Mikroskopiker auch Ärger: Man muß oft stundenlang rühren, bis sich die Substanz gelöst hat.

In einem Rezept, das aus dem letzten Jahrhundert stammt, soll die bezeichnende Anweisung stehen: „Die Lösung ist bis zur Erschöpfung des Labordieners zu rühren".

Den umrührenden Labordiener ersetzt heute der Magnetrührer: Das Gefäß mit der Lösung wird auf einen verkapselten Elektromotor gestellt, in das Gefäß kommt ein kunststoffbeschichteter Magnet, der sich bei Einschalten des Gerätes dreht und damit das Umrühren besorgt.

Für die kleinen Mengen, die im Mikrolabor gewöhnlich benötigt werden (50—250 ml) lohnte sich ein Magnetrührer bisher nicht. Nun ist aber unter der Bezeichnung MINI M ein kleiner und sehr preiswerter Magnetrührer im Handel. Er hat sich in unserem Labor seit mehr als einem halben Jahr sehr bewährt. Der Kunststoffmantel des Magneten wird von keinem gebräuchlichen Lösungsmittel angegriffen; eine geringe Verfärbung beim Ansetzen von Farblösungen stört nicht.

Nach unseren Versuchen bedeutet der Magnetrührer MINI M eine nützliche Ergänzung im Gerätebestand des Mikroskopikers.

D. Krauter

Bild: Der Kleinmagnetrührer MINI M. Hersteller: Janke & Kunkel KG, IKA-Werk, Postfach 44, 7813 Staufen i. Br.



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

Kosmos Taschenatlas · Anatomie des Menschen

Kursus der makroskopischen Anatomie für Mediziner
von Prof. Dr. Milan Klima

In Ihrer Buchhandlung!

Band I : Kopf und zentrales Nervensystem, ISBN 3-440-04261-8, DM 9,80 (8,80)
Band II : Hals, Schultergürtel und Arm, ISBN 3-440-04262-6, DM 9,80 (8,80)
Band III : Rumpfwand, Beckengürtel und Bein, ISBN 3-440-04263-4, DM 9,80 (8,80)
Band IV : Brust- und Bauchhöhle, Innere Organe, ISBN 3-440-04264-2, DM 9,80 (8,80)
Band V : Register und Tabellen, ISBN 3-440-04265-0, DM 9,80 (8,80)

Die Preise in Klammern ( ) = Sonderpreis für Mitglieder des KOSMOS (Bezieher der Zeitschrift Kosmos und MIKROKOSMOS)

Bitte fordern Sie die ausführliche Informationsschrift P 309 an.

Franckh/Kosmos-Verlag, Postfach 640, D 7000 Stuttgart 1

MIKROKOSMOS

Zeitschrift für angewandte
Mikroskopie, Mikrobiologie, Mikrochemie und mikroskopische Technik

Organ der Deutschen Mikrobiologischen Gesellschaft Stuttgart, der Mikrobiologischen Vereinigung Hamburg, der Mikrobiologischen Arbeitsgemeinschaft Mannheim, der Mikrobiologischen Vereinigung München, der Mikrographischen Gesellschaft Wien, der Mikroskopischen Gesellschaft Zürich.

Inhalt

Bukatsch, Prof. Dr. F. und Prof. Dr. J. **Jung:** Einheimische Hölzer: Mikroskopische Untersuchung. 2. Nadelhölzer: Lärche und Kiefer 97

Grave, E.: 100 Jahre New York Microscopical Society 99

von der Dunk, Dr. K. und Dr. K. **von der Dunk:** Laubmoose in fließendem Wasser 101

Göltenboth, Dr. F.: Reifeteilungen der Spermatocyten beim Strudelwurm Mesostoma 106

Büll, Dr. L.: Bildung der Fortpflanzungszellen bei der Grünalge Cladophora . . . 113

Unser Umschlagbild

Grave, E.: Pantoffeltier im Interferenzkontrast 115

Zur Einführung in die Mikroskopie

Lustig, K.: Die Lyraorgane der Spinnen 116

Winke fürs Labor

Opitz, H.: Moderne Textilfarbstoffe in mikroskopischen Farbfixiergemischen. Versuche mit neuen Kombinationen 119

Biologie in der Schule

Dietrich, K.: Ein günstiges Objekt zur Demonstration phototropischer Reaktionen: Der Schimmelpilz Phycomyces blakesleeanus 123

Kleine Mitteilungen 126

Umschlagbild: Pantoffeltier im Interferenzkontrast nach Jamin-Lebedeff. Elektronenblitz, Kodachrome II Tageslichtfilm, Objektiv 40 : 1, Okular 10fach. Aufnahme Eric V. Grave.
Mit dieser Aufnahme gewann Eric V. Grave den ersten Preis im Nikon-Mikrofotografie-Wettbewerb 1976.

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

E 20877 E

MIKROKOSMOS

66. Jahrgang · Heft 5/Mai 1977

Eine Zeitschrift aus dem Kosmos-Verlag

ISSN 0026-3680 66. 1977, Nr. 5, S. 129–162

Mottenschildlaus, 4. Larvenstadium



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

MIKROKOSMOS Zeitschrift für angewandte Mikroskopie, Mikrobiologie, Mikrochemie und mikroskopische Technik

Organ der Deutschen Mikrobiologischen Gesellschaft Stuttgart, der Mikrobiologischen Vereinigung Hamburg, der Mikrobiologischen Arbeitsgemeinschaft Mannheim, der Mikrobiologischen Vereinigung München, der Mikrographischen Gesellschaft Wien, der Mikroskopischen Gesellschaft Zürich.

Inhalt

Jung, Prof. Dr. J. und Prof. Dr. F. **Bukatsch:** Einheimische Hölzer: Mikroskopische Untersuchung. 3. Ringporige Laubhölzer: Eiche, Esche, Ulme 129

Lindauer, Dr. R.: Ein Elektronenblitzgerät für Mikroaufnahmen 132

Peters, Dr. R.: Die Metamorphose der Mottenschildläuse 137

Hausmann, Dr. K.: Diatomeenschalen im elektronenmikroskopischen Bild 144

Winke fürs Labor

Göke, G.: Methoden der Fluoreszenzmikroskopie. 3. Schmalbandfluoreszenz 148

Mischor, B.: Herstellung von Dünnschliffen tierischer Hartgewebe 153

Zur Einführung in die Mikroskopie

Thaler, Prof. Dr. H.: Mikrosublimation von Farbstoffen I. 158

Kleine Mitteilungen 157, 162

Umschlagbild: 4. Larvenstadium einer Mottenschildlaus (Totalpräparat). Hier findet die Metamorphose zum ausgewachsenen Stadium, der Imago statt. Kopfpartie, Bein- und Flügelanlagen, Mycetom, Ovarien und Legeapparat der künftigen Imago (*Aleyrodes proletella*) sind schon deutlich zu erkennen. Aufnahme Prof. Dr. W. Peters.
Siehe auch den Bericht von Dr. R. Peters „Die Metamorphose der Mottenschildläuse“ auf S. 137.

Herausgeber: Dr. Dieter Krauter. Redaktion: Rainer Gerstle und Dr. Dieter Krauter, Stuttgart /
© 1977, Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart / Printed in Germany / Imprimé en Allemagne / Die in dieser Zeitschrift veröffentlichten Beiträge sind urheberrechtlich geschützt. Übersetzung, Nachdruck — auch von Abbildungen —, Vervielfältigung auf photomechanischem oder ähnlichem Wege oder im Magnettonverfahren, Vortrag, Funk- und Fernsehsendung sowie Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen — auch auszugsweise — bleiben vorbehalten. Von einzelnen Beiträgen oder Teilen von ihnen dürfen nur einzelne Exemplare für den persönlichen und sonstigen eigenen Gebrauch hergestellt werden. Jede im Bereich eines gewerblichen Unternehmens zulässig hergestellte oder benutzte Kopie dient gewerblichen Zwecken gem. § 54 (2) UrhG und verpflichtet zur Gebührenzahlung an die VG Wissenschaft GmbH, Frankfurt a. M. 1, Großer Hirschgraben 17/21, von der die einzelnen Zahlungsmodalitäten zu erfragen sind. Die Vervielfältigungsstücke sind mit einem genauen Quellenhinweis zu versehen / Verantwortlich für den Anzeigenteil: Helge Ross, Stuttgart / Druck: Konrad Triltsch, Graph. Betrieb, Würzburg / Der „Mikrokosmos“ erscheint monatlich, Bezugspreis (12 Hefte jährlich) DM 49,20 zuzügl. DM 3,80 Versand- oder Zustellgebühr, Sonderpreis für Schüler und Studenten jährlich DM 42,— zuzügl. DM 3,80 Versand- oder Zustellgebühr / Einzelhefte DM 5,40 zuzügl. Versand- oder Zustellgebühr / Das Abonnement ist jeweils, unter Einhaltung einer Frist von 6 Wochen, nur zum Jahresende kündbar.

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

Josef Jung
Franz Bukatsch

Einheimische Hölzer: Mikroskopische Untersuchung

3. Ringporige Laubhölzer: Eiche, Esche, Ulme

Holz erfüllt drei verschiedene Aufgaben: Es dient der Wasserleitung durch längsverlaufende Stränge toter Tracheiden bei Nadelhölzern bzw. durch Tracheen bei Laubhölzern. Es stützt die assimilierenden Teile eines Strauches oder einer Baumkrone; dafür sind Stränge von toten Sklerenchymfasern ausgebildet. Die dritte Aufgabe ist die Assimilatspeicherung. Sie wird ermöglicht durch längs und radial verlaufende Stränge lebender Parenchymzellen.

Das Holz unserer heimischen Laubhölzer ist vielgestaltiger aufgebaut als das der Nadelholzarten. Gefäße, Markstrahlen und Parenchym geben durch unterschiedliche Anordnung und variierenden Bau verschiedene, aber charakteristische mikroskopische Bilder. So zeichnen sich die Laubholzarten durch den Besitz offener, sich über lange Strecken hinziehender Wasserleitungsbahnen (Tracheen) aus, die auf Holzquerschnitten als Poren und auf Längsschnitten als Nadelrisse zu erkennen sind. Sie dienen der Laubholzbestimmung. So wird Holz als ringporig bezeichnet, wenn die Frühholzporen mit einem oder mehreren Kreisen großer Gefäße deutlich zu erkennen sind. Im Gegensatz zu den viel kleineren Spätholzporen sind die Frühholzporen nur durch Markstrahlen, kaum durch Fasern und Parenchym seitlich voneinander getrennt. Bei den zerstreutporigen Laubhölzern fehlt eine Frühholzporenzone. Die Gefäße sind durch leiterförmige oder spiralige Durchbrechungen bzw. Versteifungen gezeichnet. Ihre Wände weisen dem Stoffaustausch dienende Tüpfel auf.

Die Fasern dienen nahezu gänzlich der Festigung des Stammes. Sie zeigen nicht die Querschnittsunterschiede in Früh- und Spätholz wie die Tracheiden der Nadelhölzer.

Auch die Markstrahlen werden als Bestimmungsmerkmal wegen ihrer großen Unterschiede verwendet. So finden sich Hölzer mit nur einreihigen Markstrahlen und Übergänge mit bis über zwanzigreihigen. Bei „falschen" Markstrahlen sind schmale, engstehende Einzelmarkstrahlen von Fasern durchsetzt.

Das Parenchym kann einzeln zwischen Fasern verstreuten Längssträngen als Scheide um die Gefäße oder ein- bis mehrreihig bänderartig angeordnet sein.

Die peripheren Jahresringe bilden bei den meisten Holzarten den Splint (Weichholz), die älteren zentralen den Kern (Hartholz), der der Festigung dient. Kernholz ist durch Stoffeinlagerung weitgehend vor Abbau geschützt. Die funktionsuntüchtigen Gefäße im Kernholz werden bei vielen Holzarten durch aus Nachbargeweben einwachsende dünne Zellhäute, die Thyllen, verstopft.

Die verschiedenen Familien zugehörenden, ausgewählten ringporigen Laubholzarten Eiche, Esche und Ulme sind technisch und wirtschaftlich bedeutsam.

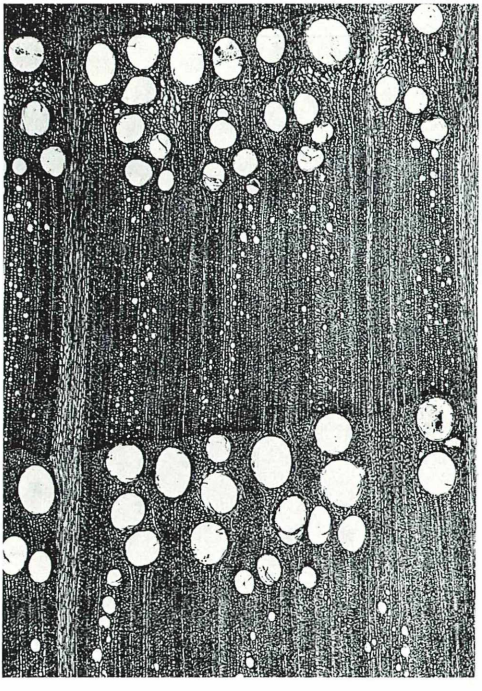


Bild 1: Stieleiche quer; gut erkennbare Jahrringe — weite Frühholzgefäße und enge Spätholzporen.

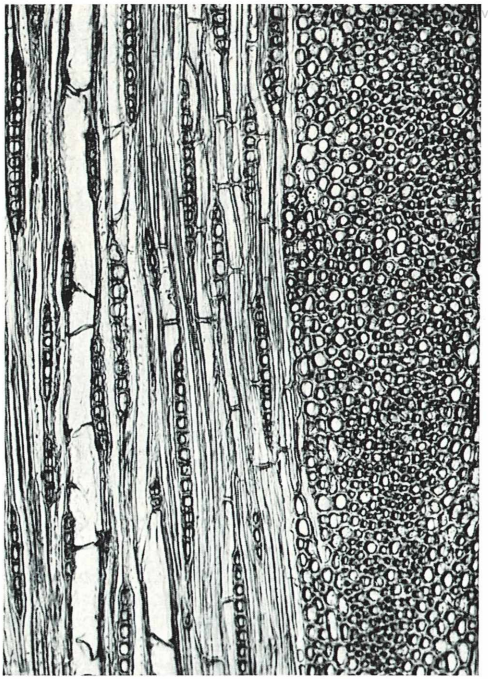
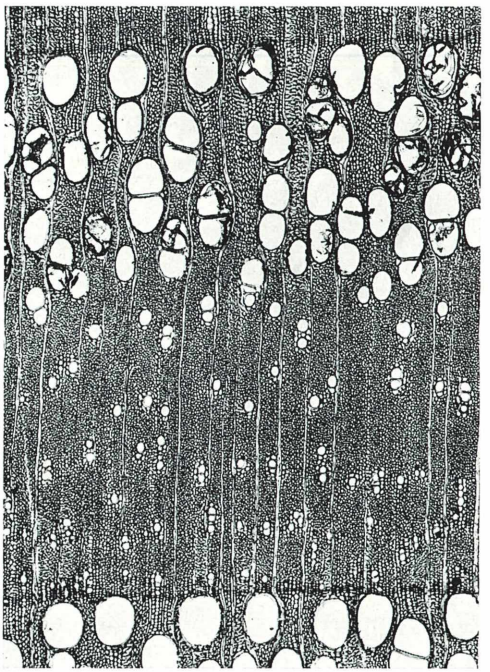


Bild 2: Stieleiche tangential mit Markstrahlen, Fasern und Parenchym.

Bild 3: Esche quer; mehrreihig angeordnete Frühholzgefäße.



Das Holz der Stieleiche *(Quercus robur)* wird verwendet als Konstruktions- und Bauholz im Hoch- und Tiefbau, für Fußböden und in der Wagnerei. Besonders langsam gewachsenes Eichenholz liefert wertvolle Furniere und hat Bedeutung für die Möbelschreinerei und Schnitzkunst.
Auch Eschenholz *(Fraxinus excelsior)* wird vielseitig verwendet für Werkzeugstiele, Sportgeräte und Wagnereiarbeiten. Daneben spielt es in der Möbelindustrie und teilweise als Furnierholz eine Rolle.
Zu ähnlichen Verwendungszwecken wird Ulmenholz *(Ulmus glabra)* gebraucht. Das Wurzelholz der Ulme ist teils in der Schnitzerei und Drechslerei begehrt.

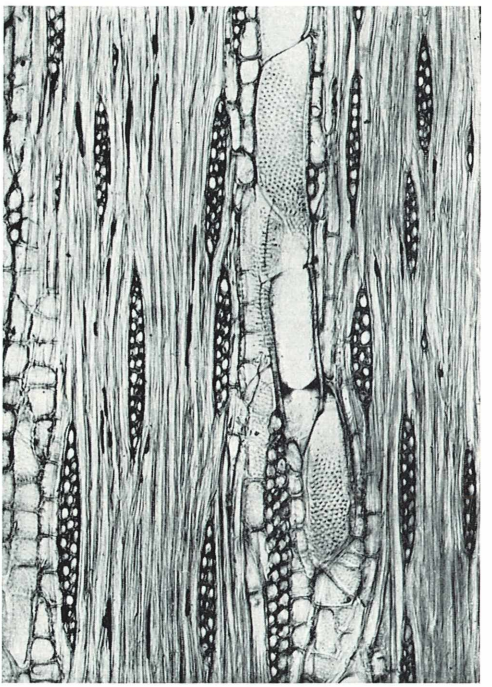


Bild 4: Esche tangential mit mehrreihigen, annähernd gleich hohen Markstrahlen.

Das mikroskopische Bild der Stieleiche zeigt große, bis 160 µm weite Frühjahrsgefäße, während die Spätholzporen bis auf 20 µm abnehmen (Bild 1). Markstrahlen werden breit (bis 20 Zellen) und schmal (nur einreihig) angelegt (Bild 2). Parenchym kommt in einreihigen, unregelmäßigen Bändern vor, während dickwandige Fasern deutlich davon unterscheidbar sind. Ihr Lumen nimmt etwa 1/3 des Zelldurchmessers ein. Thyllen kommen immer vor. Eichenholz ist ausgezeichnet durch helles Splint- und hellbraunes Kernholz. Es hat in frischem Zustand Gerbstoffgeruch.
Auch das Holz unserer heimischen Esche

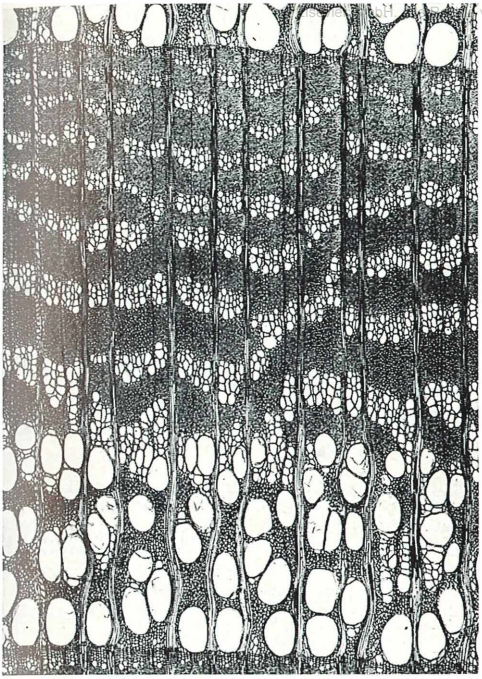


Bild 5: Bergulme quer; ovale mehrreihige Frühholzporen und bänderartig angeordnete Spätholzgefäße.

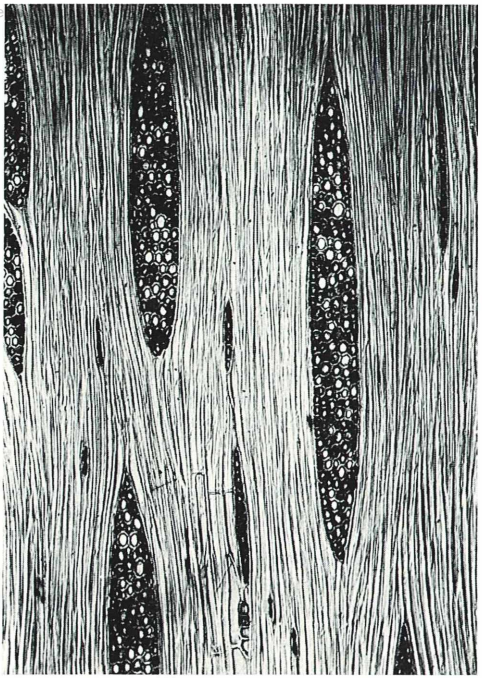


Bild 6: Bergulme tangential; scharf umrissene Markstrahlen 25—30 Zellen hoch.

Bild 7: Feldulme quer; weniger lang zusammenhängende Spätholzbänder als bei der Bergulme und nur zweireihige Frühholzporen.

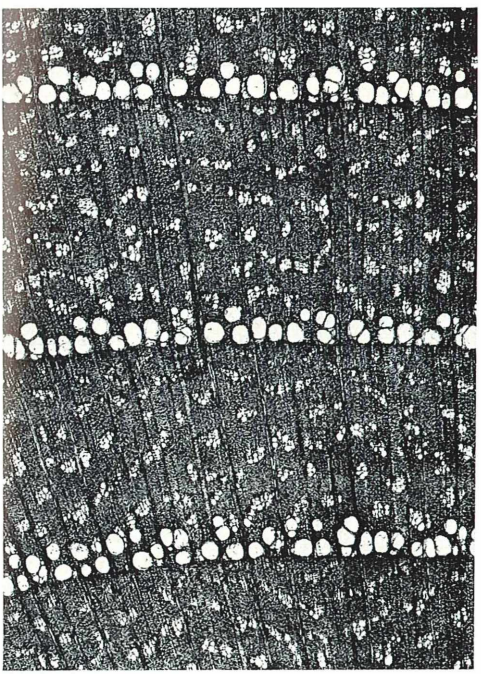
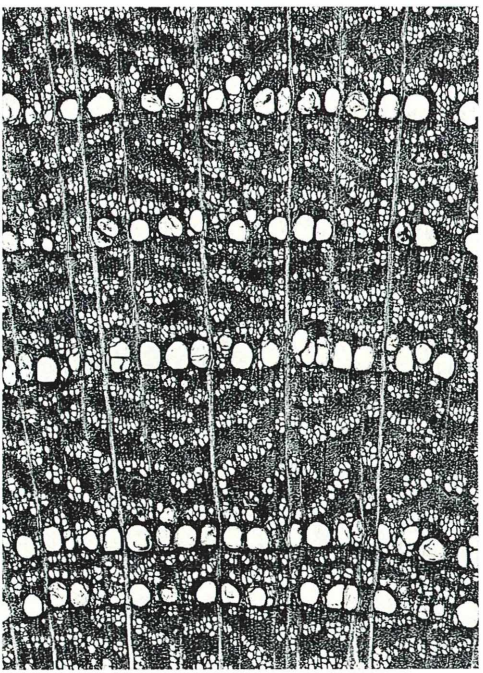


Bild 8: Flatterulme quer mit einreihigem Frühholzporenkreis.



hat bis 300 µm weite Frühholzgefäße, die in mehreren Reihen angeordnet breitzonig stehen. Die dickwandigen Spätholzgefäße sind etwa 50 µm weit (Bild 3). Parenchym findet sich besonders um die Spätholzgefäßgruppen an der Jahrringgrenze. Die Markstrahlen sind meist dreireihig und von annähernd einheitlicher Höhe (Bild 4).
Thyllen kommen bei Eschenholz nicht immer vor. Aber auch hier findet sich ein breiter, heller Splint, während Kernholz rötlichbraun gefärbt ist.
Charakteristisch angeordnet sind bei der Ulme (Bergulme) mehrreihig ovale Frühholzporen und bänderartig drei- oder vierreihige Spätholzporen (Bild 5). Es finden sich meist dünnwandige Thyllen. Jeweils zu Anfang der neuen Jahrringgrenze und zwischen den Gruppen der großen und kleinen Gefäße ist reichlich Parenchym eingestreut. Markstrahlen sind bis fünfreihig angeordnet (Bild 6) und scharf umrissen. Das Spätholz ist gelblich, Kernholz rotbraun gefärbt.
Unsere heimischen Ulmenarten, die Bergulme *(Ulmus glabra)*, Feldulme *(Ulmus carpinifolia)* und Flatterulme *(Ulmus laevis)* lassen sich holzanatomisch mühelos unterscheiden. Die Berg- und Feldulme sind sich zwar ähnlich, aber die Spätholzgefäßbänder hängen bei der Feldulme weniger lang zusammen als bei der Bergulme (Bild 7). Auch die Kernholzfärbung ist bei der Feldulme dunkler braun, während sie bei der Flatterulme ein helles Braun zeigt. Der Frühjahrsporenkreis ist bei *Ulmus laevis* nur einreihig ausgebildet (Bild 8).

Verfasser: Prof. Dr. Josef Jung, Prof. Dr. Franz Bukatsch, Universität Augsburg, Eichleitnerstr. 30, 8900 Augsburg.

Rudolf Lindauer

Ein Elektronenblitzgerät für Mikroaufnahmen

Die meisten Elektronenblitzgeräte für die Mikrofotografie sind sehr teuer, und der Selbstbau einer gut funktionierenden Elektronenblitzeinrichtung ist gar nicht so einfach. Nun hat die Firma Selzle-Labortechnik einen Mikroblitz herausgebracht, der auch für den Amateur erschwinglich ist. Unser Autor Dr. Rudolf Lindauer hat dieses preiswerte Elektronenblitzgerät für die Mikrofotografie geprüft.

Die Mikroblitzeinrichtung MB 03 der Firma Selzle-Labortechnik (8021 Taufkirchen, Edelweißstraße 46) besteht aus dem Blitzgenerator für 220 V und der Blitzröhre. Ihre Daten: Leistung 14 Ws (Wattsekunden), Leuchtzeit ca. 0,0012 Sek., Farbtemperatur ca. 5600 °K, Blitzfolge ca. 5 Sekunden. Pilotlicht 15 Watt, 220 V, Netzanschluß 220 V.
Die Blitzröhre wird in zwei verschiedenen Ausfertigungen hergestellt:
a. Die Blitzröhre ist in der Ansteckleuchte mit der Pilotlampe montiert, die an Stelle des Mikroskopspiegels eingesteckt wird. Der Einsteckstift kann je nach Mikroskopart senkrecht oder waagerecht an der Lampe befestigt werden. Er hat einen Durchmesser von 6 mm, kann aber auch in anderer Stärke geliefert werden.
b. Die Elektronen-Blitzröhre ist in einen Adapter eingebaut, der auf eine vorhandene Ansteckleuchte aufgesteckt werden kann.
Man kann den Blitz mit einer Testtaste auslösen oder in Verbindung mit dem mitgelieferten Blitzlicht-Synchronkabel durch den Auslöser des Kameraverschlusses. Der Synchronanschluß am Blitzgenerator verbindet das Blitzgerät mit der Kamera. Die Brennstrecke der Blitzröhre ist kurz, daher ist die Leistung des Gerätes relativ hoch. Die Farbtemperatur der Blitzröhre entspricht der der meisten Tageslichtfilme, so entfällt die Zwischenschaltung eines Konversionsfilters. Bei Kunstlichtfarbfilmen muß ein CR-Filter (rosa) zwischengeschaltet werden. Bei Schwarzweißaufnahmen auf panchromatischem Film ist zur Kontraststeigerung ein Grün- oder Gelbgrünfilter notwendig. Die Blitzröhre liegt beim Adapter 14 mm über dem Glaskolben der Pilotlampe, bei der Ausführung *a*) 2 mm. Eine Gebrauchsanleitung liegt jedem Gerät bei.

Anordnung im Strahlengang

Die Blitzröhre mit der aufgelegten Matt-

scheibe ist im Strahlengang zwischen Pilotlampe und dem Mikroskopkondensor angeordnet. Die Einstellung der Beleuchtung nach Köhler ist somit *nicht* möglich.

Bestimmung der Belichtungs-„Zeit"

Exakt können wir die Blitzintensität nur mit einem Elektronenblitz-Belichtungsmesser bestimmen. Steht ein solcher nicht zur Verfügung, können wir die Lichtmenge auch mit einem normalen Belichtungsmesser feststellen. Diese Bestimmung für die Aufnahmen mit dem Elektronenblitz weicht von der Methode ab, die bei der Verwendung anderer Lichtquellen gebräuchlich ist, da beim Elektronenblitz Lichtintensität und Leuchtdauer von vorneherein gegeben und feste, nicht veränderliche Größen sind. Wir messen also die Lichtmenge, die von der Pilotlampe zur Mattscheibe bzw. zum Film gelangt. Da die Blitzröhre immer im gleichen Abstand über der Pilotlampe liegt, bleibt auch das Verhältnis der von beiden abgegebenen Lichtmengen gleich. Rein empirisch suchen wir einen bestimmten Zeigerausschlag des Belichtungsmessers, bei dem die Negative optimal belichtet sind. Wir machen dazu eine Reihe Probeaufnahmen mit abgestufter Helligkeit des Gesichtsfeldes und notieren uns für jede Aufnahme den Zeigerausschlag des Belichtungsmessers (Skalenwert, Meßwert, beim Lunasix 3 die gelbe Skala). Mit dem Pilotlicht messen wir das Licht, mit dem Elektronenblitz belichten wir. Nach der Entwicklung der Filme finden wir dann die Zahl, bei der der Film in allen Details gut durchgezeichnet ist. Diese Meßwertzahl ist dann Eichwert für die Lichtmenge im ausgeleuchteten Gesichtsfeld, sie hat mit Blende und Belichtungszeit des Belichtungsmessers nichts zu tun.
Praktisch gehen wir dabei folgendermaßen vor:

Schwarzweiß-Negative

Wir setzen die Ansteckleuchte mit der Blitzröhre am Mikroskop an, die Lampe dient als Hilfsbeleuchtung zum Einstellen und zur Messung (Pilotlicht). Nach Auflegen von Mattscheibe und Grünfilter stellen wir ein Objekt mittlerer Helligkeit bei schwacher bis mittlerer Vergrößerung auf der Matt- bzw. Klarglasscheibe scharf ein, das Gesichtsfeld muß dabei gleichmäßig ausgeleuchtet sein. Dann messen wir die Lichtintensität im Gesichtsfeld, warten aber, bis der Zeiger des Belichtungsmessers zum Stillstand gekommen ist. Die angezeigte Zahl notieren wir uns. Wir beginnen die Testaufnahmen zuerst mit heller Ausleuchtung und belichten mit dem Elektronenblitz mit Mattscheibe und Grünfilter. Die weiteren vier bis fünf Testaufnahmen belichten wir je um 1—2 Meßwerte (Skalenwerte) weniger (dunkler). Von jeder Aufnahme notieren wir uns die gemessene Zahl. Mit Ausnahme der veränderten Lichtintensität darf sich an der übrigen Einstellung nichts ändern. Haben wir die Testaufnahmen entwickelt, so sehen wir, bei welcher Meßzahl das Negativ richtig gedeckt und durchgezeichnet ist. Diese Meßzahl halten wir zusammen mit der verwendeten Filmtype und ihrer DIN-Zahl fest. Bei Schwarzweißaufnahmen mit dem gleichen Film müssen wir dann nur die richtige Lichtintensität über die Pilotlampe einstellen und haben damit die richtige Belichtung. Neue Testaufnahmen sind dann erforderlich, wenn am Beleuchtungssystem etwas geändert wird oder Filter anderer Farben eingeschaltet und andere Filmtypen verwendet werden. Ändert sich nur die DIN-Zahl des Films, so können wir das entsprechend berücksichtigen.

Farbdia-Aufnahmen mit Tageslichtfilm

Wir gehen hier genauso vor wie bei

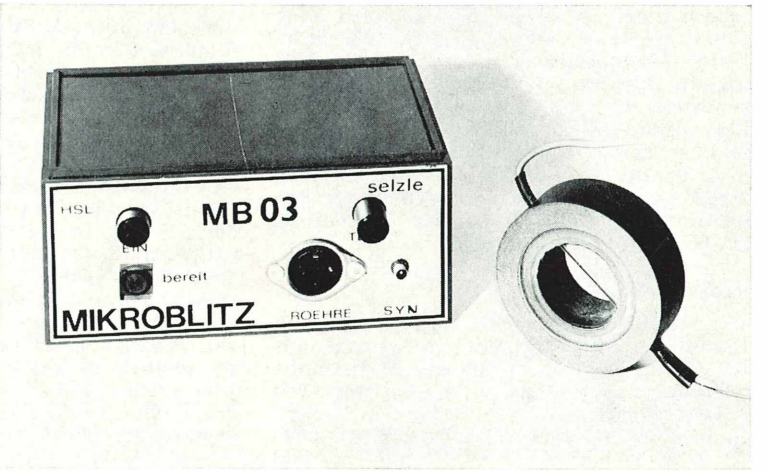


Bild 1:
Mikroblitzgerät
der Firma Selzle.

Schwarzweißaufnahmen, dürfen aber bei der Aufnahme keine Filter einschalten. Da Farbtemperatur von Film und Blitzröhre übereinstimmen, sind Konversionsfilter nicht nötig. Das Licht wird mit Pilotlicht und Mattscheibe gemessen. Zur Aufnahme mit dem Elektronenblitz können wir lediglich eine Mattscheibe ohne Eigenfärbung verwenden. Bei einer Belichtung, die länger als $^1/_{30}$ Sekunde dauert, sollte das Pilotlicht abgeschaltet werden.

Belichtungsmesser

Zum Messen des Lichtes können wir jeden hochempfindlichen Batterie-Belichtungsmesser verwenden, dessen Zeigerausschlag arretiert werden kann. Bewährt hat sich der Lunasix (Gossen, Erlangen) mit seinem kleinen Meßauge und der hohen Anfangsempfindlichkeit, besonders aber als Lunasix 3 in Verbindung mit dem Mikro-

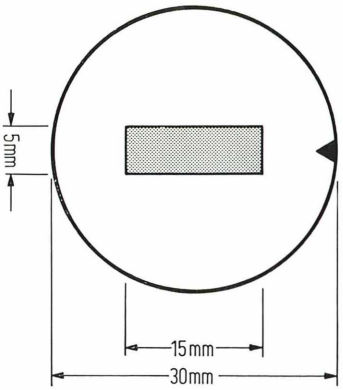


Bild 2: Abdeckung der Blitzröhre zur Dämpfung des Lichts.

vorsatz. Grün gefiltertes, monochromatisches Licht wird in richtigen Werten angezeigt, in anderen Farben gefärbtes Licht jedoch nicht. In solchen Fällen wird ohne Filter gemessen, aber mit Filter belichtet. Durch Testaufnahmen müssen wir für jede andere Filterfarbe die Meßzahl gesondert ermitteln. Wir können uns auch einen Belichtungsmesser für mikrofotografische Aufnahmen selbst bauen, wozu im Mikrokosmos bereits gute Anleitungen erschienen sind (Altmann, H.: Ein selbstgebauter Belichtungsmesser. Mikrokosmos **59**, Heft 9, 1970).

Meßstellen

Wir messen das Licht bei Verwendung von Planfilmen ohne Kamera (in selbstgebauten Geräten) in der Höhe der Mattscheibe auf einem aufgelegten Adapterbrett mit entsprechendem Ausschnitt für den Belichtungsmesser oder direkt auf der Matt- oder Klarglasscheibe. Bleibt der Kameraabstand (Okular — Filmhöhe) konstant, so können wir auch über dem Okular messen, wenn Fremdlicht sicher abgehalten wird. Bei Spiegelreflexkameras messen wir am Sucherokular oder auf der Suchermattscheibe. Einfacher ist es noch, wenn das Mikroskop mit einem Fotostutzen, kombiniert mit Schrägeinblick ausgestattet ist. Wir messen dann am Okular des Schrägeinblickes. Arbeiten wir mit dem Lunasix 3 mit Mikrovorsatz, so sind damit genaue Messungen nach Herausnahme des Okulars im Tubus und an den schon genannten Stellen möglich. Auf der Planfilm-Einstellmattscheibe lassen sich mit diesem Zusatzgerät bildwichtige Teile erfassen. Die Wahl der Meßstellen hängt von den vorhandenen Apparaten ab, bei jedem System muß aber neu ausgemessen werden.

Veränderung der Lichtintensität

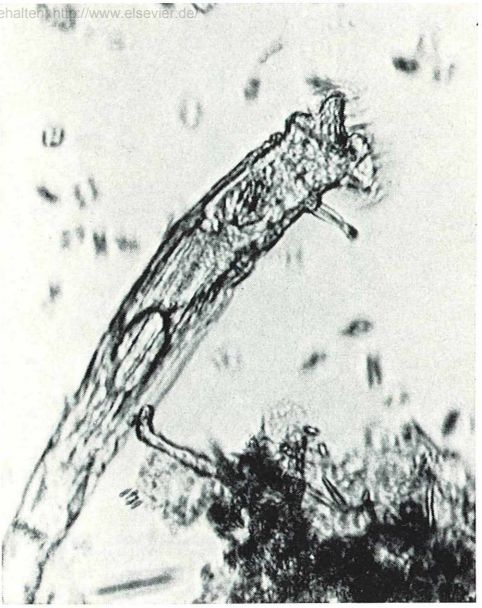
Wir können die Lichtintensität erhöhen oder vermindern. Erhöht wird die Lichtintensität durch eine schwächere Vergrößerung, durch Verkürzung des Negativabstandes (Kameralänge), durch hellere Filter oder Weglassen der Filter. Bei unbeweglichen Objekten können wir die gleiche Aufnahme auch mehrfach einzeln belichten. Gedrosselt wird die Lichtmenge bei stärkeren Vergrößerungen durch Verlängerung des Negativabstandes, Zwischenschalten von lichtdämpfenden Filtern und durch teilweises Abdecken der Blitzröhre.

Lichtdämpfende Filter

Müssen wir das Licht dämpfen, so können wir Filter einschalten. Entweder regeln wir stufenweise mit Neutral-Graufiltern oder stufenlos mit zwei gegeneinander drehbar angeordneten Polfiltern. Bei diesen Filtern ist eine Polfolie in einer Fassung angebracht und eine zweite darüber drehbar montiert. Je nach Stellung der beiden Polfilter zueinander wird Licht durchgelassen oder gesperrt, dazwischen liegen die Übergänge von hell bis dunkel. Neutral-Graufilter gibt es in verschiedenen Durchlaßstufen im Handel. Auch die Selbstherstellung ist möglich. Zur Lichtdämpfung eignen sich die durchscheinenden (nicht durchsichtigen), sehr dünnen Kunststoffolienstreifen der Hüllen, in denen Agfa-Farbdias zurückgesandt werden. Wir legen solche quadratisch (4×4 cm) zugeschnittenen Folien zwischen zwei 5 cm-Diagläser, die an zwei gegenüberliegenden Seiten mit Tesakrepp zusammengehalten werden, oder spannen sie einfach in ein glasloses Diarähmchen. Vier solcher Folien übereinander dämpfen das Licht um ca. 1 Meßwert (Lunasix). Verschieden dicht belichtete Filme können wir ebenfalls zur Lichtdämpfung benützen.

Copyright © Alle Rechte vorbehalten http://www.elsevier.de

Bild 3: Rädertier. Lebendaufnahme mit Mikroblitz MB 03.



Dazu machen wir Aufnahmen auf Dokumentenfilm gegen ein Blatt weißes Papier mit verschieden langen Belichtungszeiten und schneiden aus dem entwickelten Film Stücke für die Filter heraus. Als Vorrat stellen wir uns eine Anzahl solcher Filter verschiedener Durchlaßstufen her und vermerken am Rande die Stärke. Welchen Filtertyp wir letztlich wählen, bleibt uns überlassen.
Die Graufilter legen wir auf die Mattscheibe über die Blitzröhre. Bei Farbaufnahmen müssen Graufilter streng farbneutral, also ohne Eigenfarbe sein. Polfilter eignen sich bei Farbaufnahmen nicht zur Dämpfung des Lichtes.

Abdeckung der Blitzröhre

Wir können die Lichtintensität auch vollkommen farbneutral verringern, indem wir die Blitzröhre teilweise abdecken. Dazu schneiden wir aus einer steifen, schwarzlackierten Aluminiumfolie (Becherverschluß von Milchprodukten sauber reinigen und mit der Stahlkante eines Lineales auf einer Glasplatte glattstreichen) von der Größe der Elektronenblitz-Mattscheibe in der Mitte eine rechteckige Öffnung von 15 mm ×5 mm heraus (siehe Bild 2). Diese Scheibe legen wir so unter die Mattscheibe, daß von der Blitzröhre nur ein zentraler Teil freigegeben wird. Eine kleine Kerbe am Rande zeigt uns die Stellung an — senkrecht oder parallel zur Blitzröhre. Die Maße des rechteckigen Ausschnittes sind Anhaltswerte.
Neidl verwendet in Verbindung mit einer Kleinbild-Spiegelreflexkamera und Mikroskopadapter bei Farbaufnahmen auf Diafilm Lochblenden (zentrale, kreisrunde Ausschnitte aus schwarzlackierten, 30 mm großen runden Aluminiumblechscheiben) von folgendem Innendurchmesser: für Objektiv 40 : 1 = 11 mm, Objektiv 20 : 1 = 9 mm, Objektiv 8 : 1 = 7 mm. Bei dieser Methode müssen wir uns auf eine bestimmte DIN-Zahl festlegen. Die angegebenen Maße beziehen sich auf 15-DIN-Film von Kodak. Die Lochblenden legen wir mit einer Pinzette auf die Blitzröhre. Für andere Objektive und andere Filmtypen müssen wir uns die entsprechenden Werte selbst suchen.
Für Schwarzweißaufnahmen können wir die beschriebenen Graufilter, Polfilter oder die Abdeckung der Blitzröhre verwenden, bei Farbaufnahmen nur einwandfreie Neutral-Graufilter oder die Abdeckung der Blitzröhre. Auf keinen Fall dürfen wir durch Höher- oder Tieferstellen des Kondensors die Helligkeit des Gesichtsfeldes ändern. Auch mit der Aperturblende des Kondensors dürfen wir die Ausleuchtung des Gesichtsfeldes nicht verändern.

Mehrfachbelichtung

Bei starken Vergrößerungen, dunklen Objekten, Aufnahmen im Dunkelfeld oder mit polarisiertem Licht können die gemessenen Werte für die Belichtung nicht ausreichen, das heißt, die Messung zeigt weniger an, als zur Belichtung erforderlich wäre. Ein Ska-

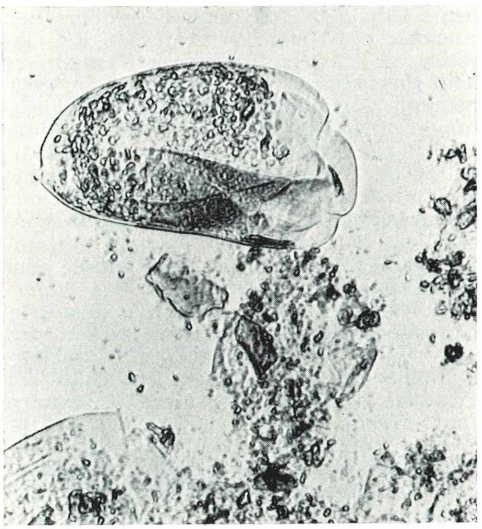


Bild 4: Wimpertier aus dem Pansen eines Rindes. Lebendaufnahme mit Mikroblitz MB 03.

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

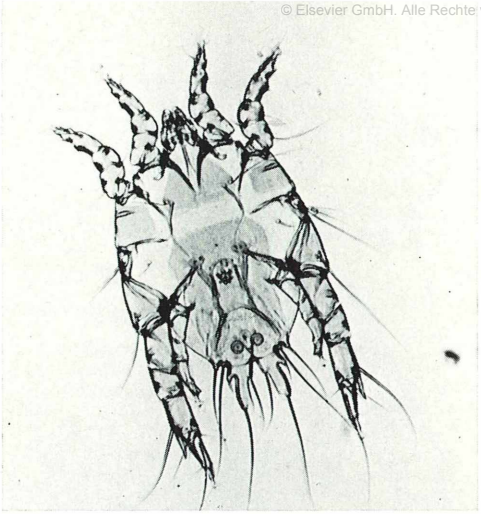


Bild 5: Federkleidmilbe vom Grünfink, Einschluß PVL, 85 : 1. Dauerpräparat. Belichtung mit Mikroblitz MB 03. Das Bild demonstriert, daß eine ausreichend gleichmäßige Ausleuchtung des Bildfeldes zu erzielen ist, obwohl das MB 03-Gerät die Verwirklichung des Köhlerschen Beleuchtungsprinzips nicht gestattet.

lenwert (Lunasix) weniger bedeutet die doppelte Belichtung, zwei Werte weniger die vierfache Belichtung. Bei unbeweglichen Objekten können wir die gleiche Aufnahme mehrfach hintereinander belichten und so die Helligkeit des Gesichtsfeldes indirekt vergrößern.

Auslösen des Blitzes

Wir können den Blitz sowohl mit der Testtaste auslösen, als auch in Verbindung mit dem Blitzlicht-Synchronkabel über den Auslöser des Kameraverschlusses. Bei Geräten, die für Planfilme ohne Kamera gebaut sind, lösen wir den Blitz mit der Testtaste aus. Damit sind auch Mehrfachbelichtungen möglich. Bei Verwendung einer Aufsatzkamera haben wir zwei Möglichkeiten der Blitzauslösung. Einmal können wir mit dem Blitzlicht-Synchronkabel den Kameraverschluß auslösen. Das Kabel wird mit dem X-Kontakt der Kamera verbunden, die Verschlußzeit ist $^1/_{30}$ Sekunde oder Einstellung auf „Blitz". Beim Zentralverschluß nehmen wir $^1/_{30}$ Sekunde. Wir können aber auch den Kameraverschluß auf „B" stellen (Drahtauslöser mit Feststellschraube) und bei offenem Verschluß die Testtaste drücken. Über diese Anordnung sind Mehrfachbelichtungen möglich. Bei Schwarzweiß-Aufnahmen stört während der Belichtung das Pilotlicht wohl kaum, bei Farbaufnahmen sollte es ausgeschaltet bleiben.

Bemerkungen

Beim Messen des Lichtes sollten wir dem Belichtungsmesser genügend Zeit lassen, bis der Zeiger den endgültigen Wert erreicht hat und stillsteht. Schwarzweißaufnahmen werden bei etwas reichlicher Belichtung kräftiger gedeckt (aber keine Überbelichtung!), Farbdia-Aufnahmen werden bei etwas knapper Belichtung kontrastreicher und in den Farben satter (aber keine Unterbelichtung!).

Zur gleichmäßigen Ausleuchtung des Gesichtsfeldes muß eine Mattscheibe eingesetzt werden.

Einen bei manchen Farbfilmen typischen Blaustich können wir durch ein UV-Filter oder ein schwaches CR-Filter mindern oder beseitigen.

Die beste Gewähr für immer gut gelingende Aufnahmen mit dem Elektronenblitz MB 03 wird man immer dann haben, wenn man sich auf die Methode genau und gründlich einarbeitet, die für die vorhandenen Geräte am zweckmäßigsten erscheinen.

Mit dem Elektronen-Blitzgerät MB 03 haben wir für Mikroaufnahmen eine helle Lichtquelle für ein gut ausgeleuchtetes Gesichtsfeld mit extrem kurzer Leuchtdauer zur Verfügung, die auch Momentaufnahmen lebender und bewegter Organismen bei stärkerer Vergrößerung gestattet. Weiter können wir bei der Verwendung dieser Lichtquelle für Farbaufnahmen Tageslichtfilm verwenden. Damit fällt die Zwischenschaltung und Berechnung von Konversionsfiltern fort. Erwähnt sei noch die geringe Größe der Apparatur und die einfache Bedienung des Gerätes.

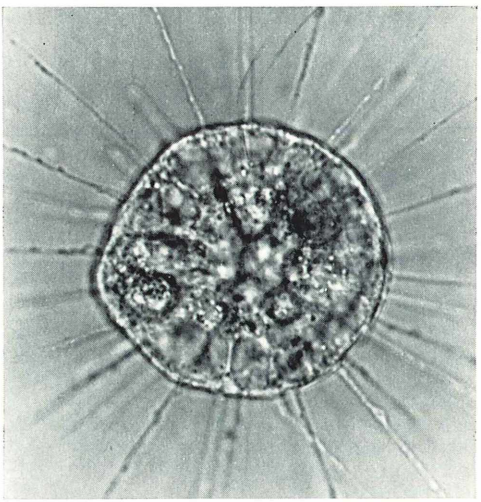


Bild 6: Sonnentier. Lebendaufnahme mit Elektronenblitz MB 03. Aufnahme Neidl.

Verfasser: Dr. Rudolf Lindauer, Schindlerstr. 6, 8430 Neumarkt.

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

Renate Peters

Die Metamorphose der Mottenschildläuse

Aus der großen Gruppe der Schnabelkerfe (Rhynchota), zu der mehr als 73 000 Arten gehören, kennt man im allgemeinen nur die Wanzen, und hiervon meist nur vom Hörensagen die Bettwanze, sowie die Blattläuse und Zikaden. Die Schildläuse und die Mottenschildläuse (Aleyrodina) sind hingegen kaum bekannt, denn es handelt sich um kleine, unscheinbare Insekten mit versteckter Lebensweise.

Die Mottenschildläuse sind bei uns nur in geringer Artenzahl vertreten: 20 Arten kommen im Freiland, 6 in Gewächshäusern vor. Insgesamt gibt es etwa 200 Arten in dieser Gruppe. Einige Arten sind wichtige Schädlinge, wie etwa Arten der Gattung *Dialeurodes* an Citrusfrüchten. Bei uns kann *Trialeurodes vaporariorum* in Gewächshäusern massenhaft auftreten und besonders an Gurken- und Tomatenkulturen schädlich werden. Daher ist diese Art auch besonders gut untersucht worden. Im übrigen sind Systematik, Verbreitung und Biologie der mitteleuropäischen Arten noch recht unbefriedigend geklärt (s. Zahradnik, 1963).

Eine weniger bekannte Art ist leicht zu beschaffen und daher für eine Untersuchung sehr geeignet. *Aleyrodes (Aleurodes) proletella* (L.) lebt auf der Unterseite der Blätter des Schöllkrauts, *Chelidonium majus,* das unter Hecken und Sträuchern vorkommt und wegen seines gelben Saftes recht bekannt ist. *Aleyrodes proletella* kommt aber auch auf Kohl *(Brassica oleracea)* vor und kann bei Massenvermehrungen in Gemüsekulturen Schaden anrichten; sorgfältige Kreuzungen haben gezeigt, daß es sich entgegen früheren Auffassungen nicht um zwei Arten, sondern nur um eine Art handelt (Stein, 1959).

Im Frühjahr, bei kühler Witterung auch noch später, trifft man bereits die Weibchen auf den jungen Wirtspflanzen bei der Eiablage an. Die ausgewachsenen Tiere sind etwa 1—1,5 mm lang und haben breite, den ganzen Körper fast verdeckende Flügel, die mit einem feinen, weißen Wachsbelag versehen sind (Bild 1). Dadurch sehen die Flügel wie mit Mehl bestäubt aus. Das Weibchen legt gelbliche, längliche, mit einem kleinen Fortsatz versehene Eier (Bild 3) so ab, daß der Fortsatz, der als Mikropyle fungiert, das Ei in der Blattepidermis verankert. Außerdem werden die in Gruppen abgelegten Eier vom Weibchen mit einem weißen Wachsbelag versehen. Bei Temperaturen unter 20 °C wird die Eiablage eingestellt.

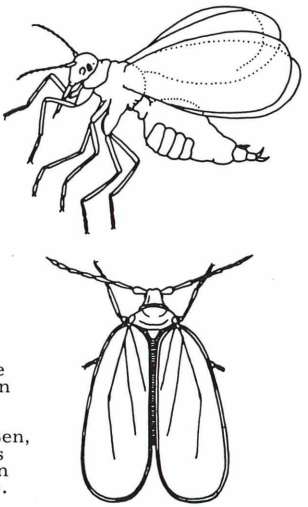


Bild 1: Erwachsene Mottenschildlaus in Seitenansicht und Aufsicht mit den auffallenden, großen, mit weißem Wachs bestäubten Flügeln (nach Obenberger).

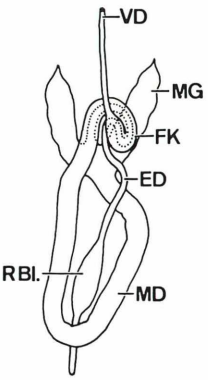


Bild 2: Der stark gewundene Darm besitzt zur Eindickung des eingesogenen Siebröhrensaftes eine komplizierte, aus Teilen von Vorder- *(VD)*, Mittel- *(MD)* und Enddarm *(ED)* gebildete sog. Filterkammer *(FK)*. *MG* Malpighische Gefäße, *RBl* Rektalblase (nach Weber).

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

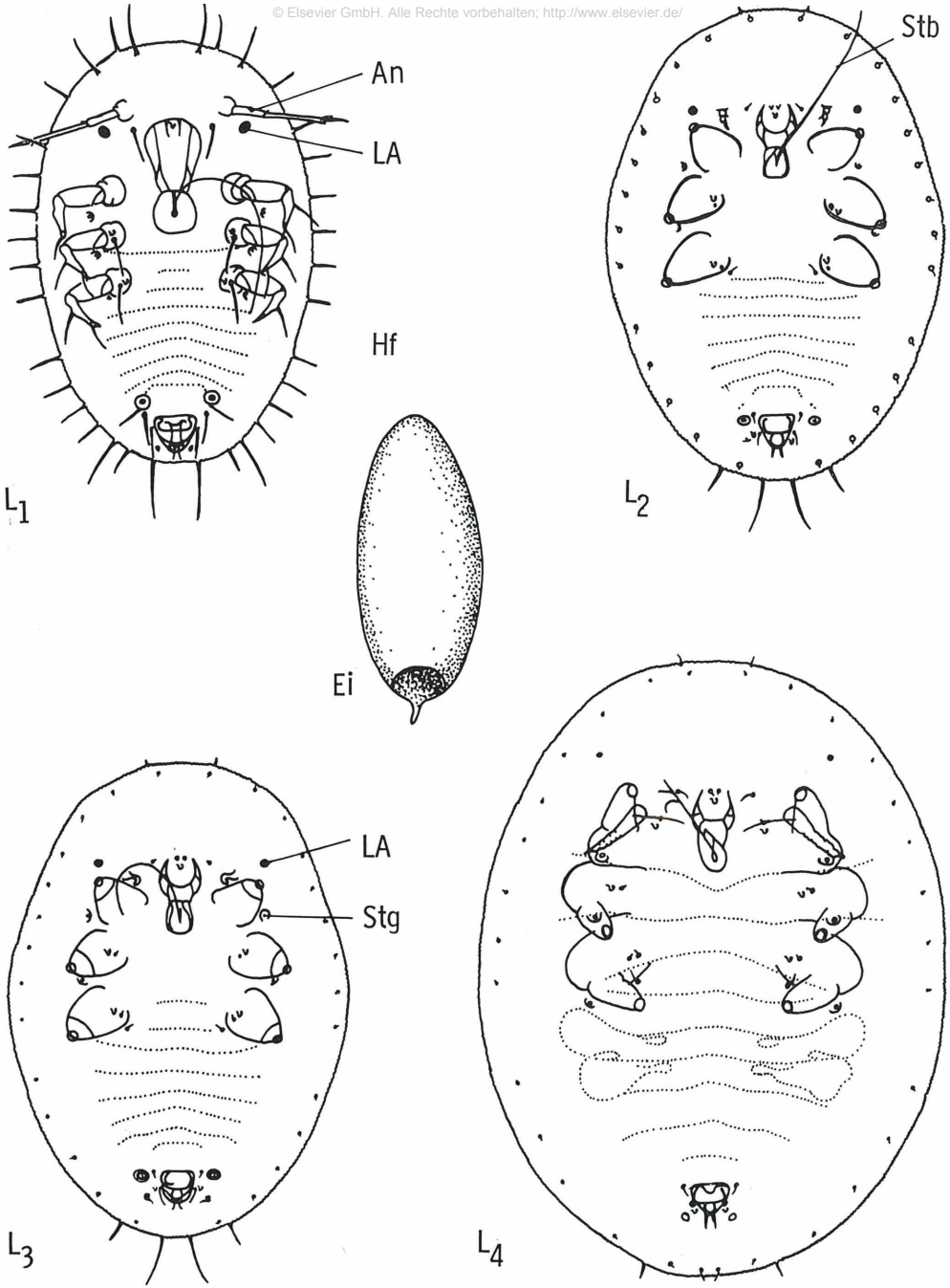


Bild 3: Ei und L_1—L_4 von *Aleyrodes proletella* (nach Stein). Ei mit spornförmigem Fortsatz und dunkel gezeichneter Symbiontenmasse. *LA* Larvenauge, *An* Antenne, *Hf* Hautfalten, die Segmentgrenzen entsprechen, *Stb* Stechborsten, *Stg* Stigma.

Im allgemeinen findet man in Populationen von *Aleyrodes proletella* sowohl Weibchen als auch Männchen; in Schweden wurde jedoch ein Verhältnis von 70% Weibchen zu

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

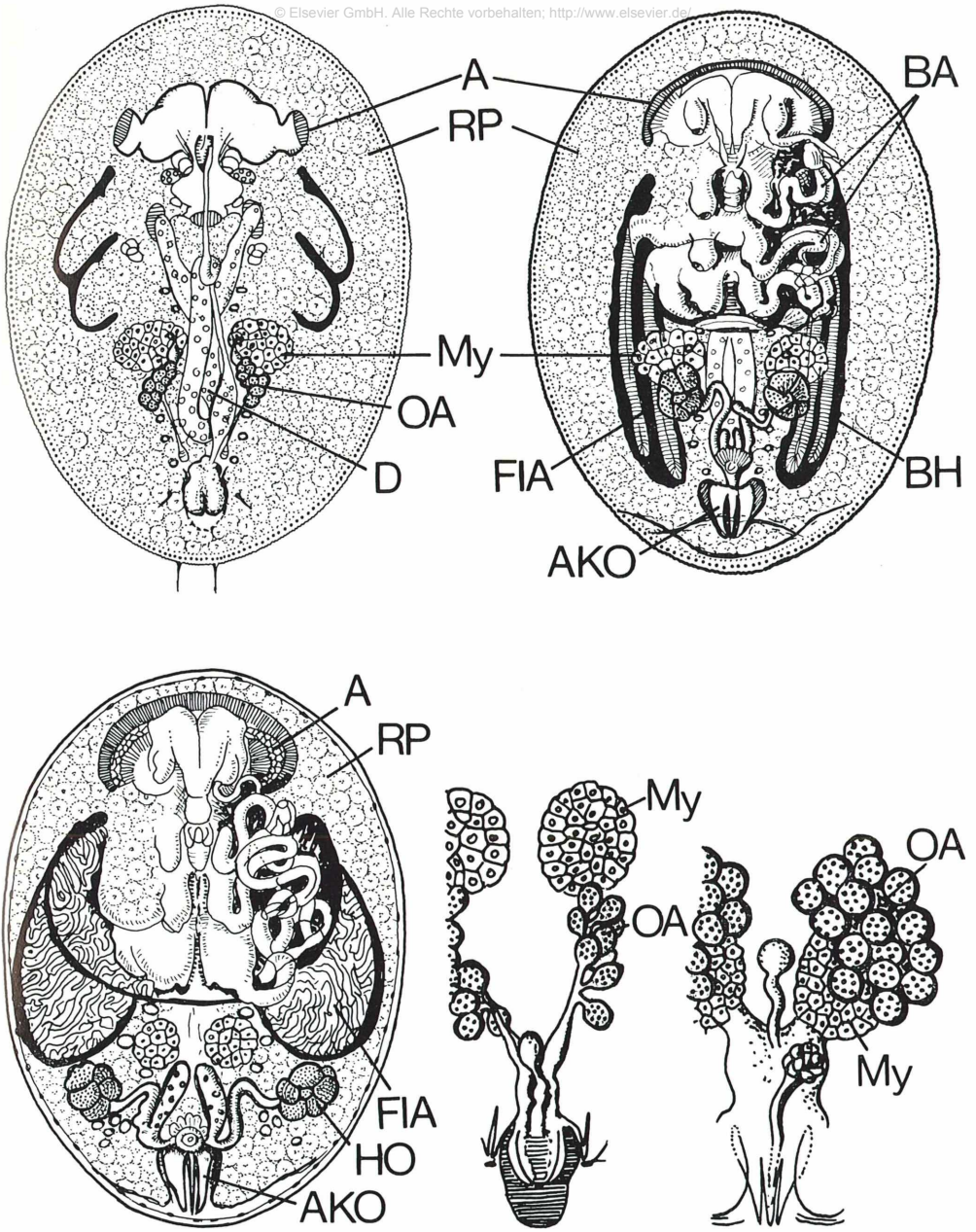


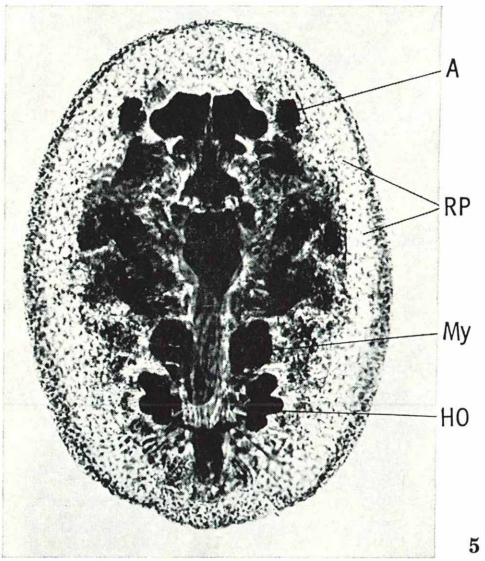
Bild 4: Die Ausbildung der inneren und äußeren Organe (a—c) der Imago und der Ovarien (d, e) während des 4. Larvenstadiums (nach Weber).

Abkürzungen in den Bildern 4—11: *A* Augenanlage, *AKO* Anlage der Kopulationsorgane, *BA* Beinanlagen, *BH* Bildungshöhlen, *D* Darm, *FlA* Flügelanlagen, *G* Gehirn, *HO* Hodenanlagen, *LA* Larvenauge, *My* Mycetom, *OA* traubenförmige Ovaranlagen, *RP* Randpolster.

30% Männchen im Freiland und in der Kultur beobachtet. Weibchen, die kopuliert haben, können befruchtete und unbefruchtete Eier ablegen. Aus den befruchteten Eiern entstehen Weibchen, aus den unbefruchteten Männchen. Unterbleibt die Kopulation aus irgendwelchen Gründen, so werden nur unbefruchtete Eier abgelegt, aus denen Männchen hervorgehen (ar-

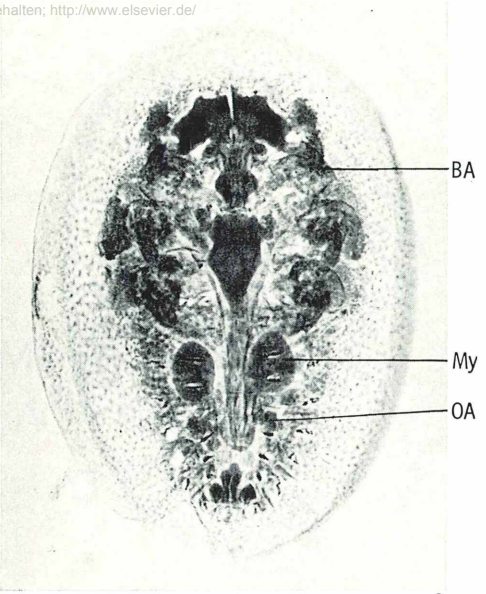
Autorenexemplar – Copyright © Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

rhenotoke Parthenogenese). Die Männchen sind haploid und besitzen 13—14 Chromosomen, während die diploiden Weibchen 26 und 28 Chromosomen haben. Die unterschiedlichen Chromosomenzahlen kommen dadurch zustande, daß z. B. im weiblichen Geschlecht vier univalente Chromosomen entweder zu zwei bivalenten Komplexen vereinigt oder gesondert auftreten können.
Bei der Gewächshausform *Trialeurodes vaporariorum* kommen zwei Rassen vor, von denen die eine zu arrhenotoker Parthenogenese fähig ist, während bei der anderen aus unbefruchteten Eiern Weibchen hervorgehen (thelytoke Parthenogenese).
Die bei uns im Freiland lebenden Aleyrodiden haben anscheinend nur 1—2 Generationen pro Jahr, während die in Gewächshäusern lebenden Arten je nach Temperatur wesentlich mehr Generationen hervor-



5

bringen. Thomsen hat *Aleyrodes proletella* im Gewächshaus gezüchtet und bei Tagestemperaturen von etwa 20—25 °C und Nachttemperaturen von 15—20 °C eine Generationsdauer von etwa einem Monat festgestellt. Im Gewächshaus wurde die Vermehrung im Winter nicht eingestellt. Im Freiland überwintern Larven, wahrscheinlich L_4, sowie erwachsene Tiere.
Aus den Eiern schlüpft eine eigenartige, schildförmig flache, ovale Larve (L_1, Bild 3). Sie hat kleine Antennen und kleine Augen. Ihre kurzen, gegliederten, vom schildförmigen Körper verdeckten Beine ermöglichen das Aufsuchen einer zum Saugen geeigneten Blattstelle. Nach einer Häutung entsteht ein seßhaftes Larvenstadium (L_2), dessen Augen vollkommen zurückgebildet sind, während Antennen und Beine zu kurzen Stummeln wurden. Das gleiche gilt für

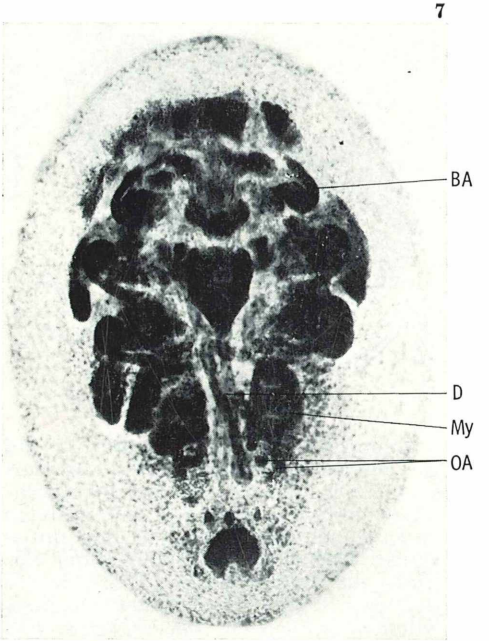


6

Bild 5: Junges 4. Larvenstadium.

Bilder 6 und 7: Zunehmende Ausbildung der Beinanlagen. Neben den auffallenden Mycetomen sind schon die Anlagen der Ovarien zu sehen.

7



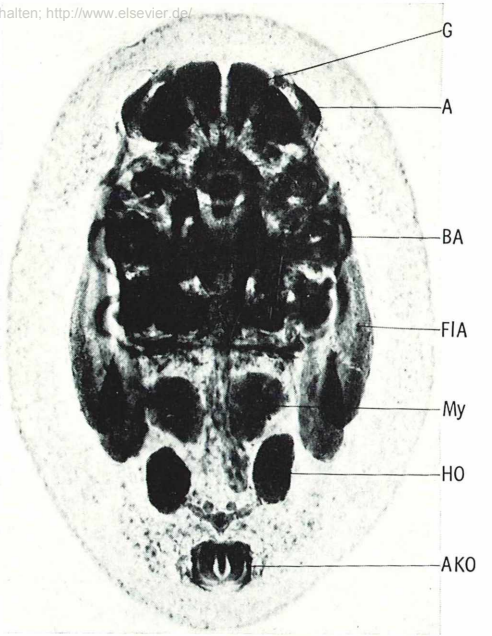
Zool. Anz. Jena (1977) 198 (1/2) 141–144 © Urban & Fischer Verlag; alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

das 3. und 4. Larvenstadium (L_3 und L_4), die allerdings nicht mehr so flach wie die ersten beiden Larvenstadien sind (Bild 3).

Das Einsammeln von Material zur Herstellung von Dauerpräparaten lohnt sich vor allem im Hochsommer bis in den Herbst hinein, wenn eine reiche Vermehrung dieser Art stattgefunden hat und alle Stadien beisammen leben. Man braucht stark befallene Blätter nur abzupinseln oder ganz in 70%igen Alkohol zu legen. Die ersten beiden Larvenstadien deckt man am besten ungefärbt in Polyvinyl-Lactophenol (Chroma, Stuttgart) oder in das Gemisch nach Berlese ein. Die 3. und 4. Larvenstadien sollte man hingegen mit Alaunkarmin färben und nach dem Färben in schwach salzsaurem Alkohol differenzieren. Die Salzsäure muß sorgsam wieder ausgewaschen werden, damit später die Färbung nicht leidet. Führt man die Objekte anschließend wie üblich durch die Alkoholreihe bis in Xylol und deckt anschließend in Caedax ein, so erhält man sehr schöne Dauerpräparate, die die allmähliche Entstehung des ausgewachsenen Stadiums zeigen. Über die Herstellung von Präparaten für systematische Zwecke, besonders von Puparien, berichtet Zahradnik.

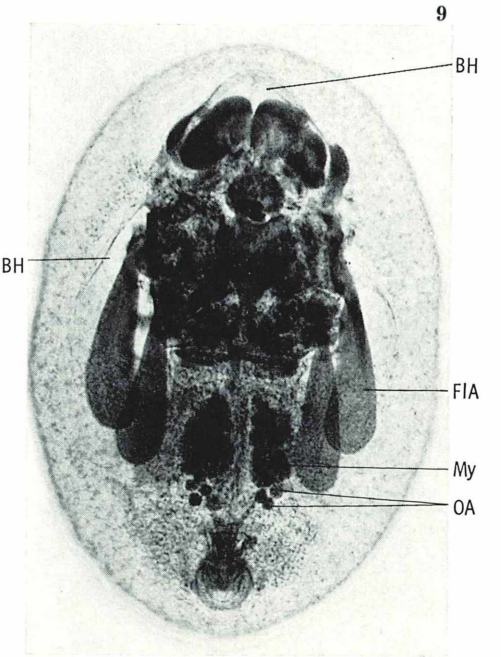
Die Larven saugen ebenso wie die geschlechtsreifen Tiere an der Unterseite der Blätter des Schöllkrauts. Mit ihren langen Stechborsten sind sie in der Lage, das Phloem, d. h. die Assimilate leitenden Gefäße der Wirtspflanze, zu erreichen. Bei den Larven werden die langen Stechborsten in Ruhestellung in Schlingen angeordnet in einer besonderen Hauttasche, der sog. Crumena, untergebracht; bei den erwachsenen Tieren sind die Stechborsten hingegen gerade. Während der Metamorphose wird der Darmkanal kaum verändert, was wohl mit der gleichartigen Ernährungsweise von Larven und Imagines zusammenhängen dürfte. Das 4. Larvenstadium nimmt zunächst noch Nahrung auf und stellt erst die Nahrungsaufnahme ein, wenn der Umbau der Mundwerkzeuge und des Kopfbereichs erfolgt. Der Darm verläuft nicht gerade, sondern weist mehrere Schlingen auf (Bild 2). Teile von Vorder-, Mittel- und Enddarm bilden eine sog. Filterkammer, in der der stark wasserhaltige Phloemsaft eingedickt wird.

Während der Metamorphose ziehen sich die Organe auf den mittleren Körperbereich zurück. In den Randpartien bleiben Fettkörperlappen und es entstehen paarige, seitliche Hohlräume, die von den Beinhüften bis zum Rücken reichen. Diese Hohlräume werden in zunehmendem Maße von den Flügelanlagen und den Beinanlagen ausgefüllt (Bilder 4—9), die schließlich stark gefaltet werden müssen, um noch Platz zu finden (Bilder 10 und 11). Am Vorderende entsteht ein unpaarer Hohlraum, in dem die



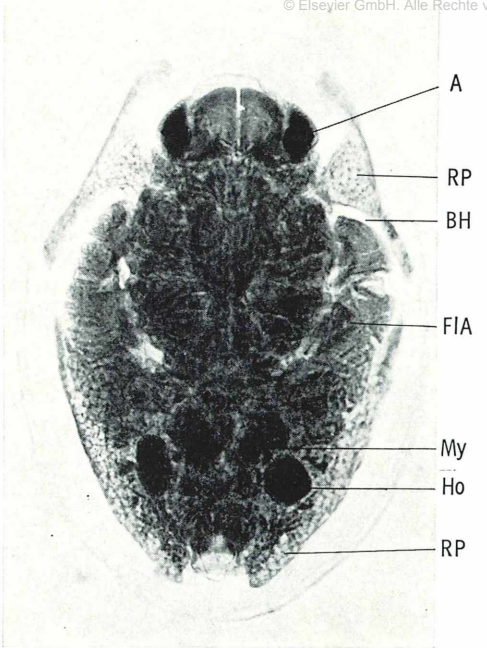
8

Bilder 8 und 9: Die Ausbildung der Augen- und Flügelanlagen ist inzwischen fortgeschritten. Bild 8 zeigt ein Tier mit Hodenanlagen, Bild 9 ein Tier mit Ovaranlagen.

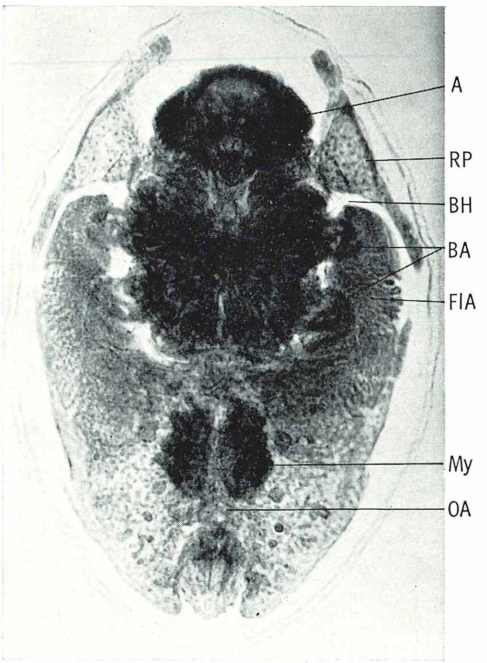


9

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten



Bilder 10 und 11: Die als charakteristisches Merkmal der Allometabolen geltenden, von Fettzellen erfüllten Randpolster *(RP)* werden zunehmend zurückgezogen und allmählich resorbiert. Die Flügelanlagen *(FlA)* sind inzwischen so weit vergrößert, daß sie nur in stark gefaltetem Zustand noch in den Bildungshöhlen *(BH)* Platz finden. Bild 10 zeigt ein männliches, Bild 11 ein weibliches Tier.



sich entwickelnden Fühler und Komplexaugen Platz finden. Je weiter sich die Körperanlagen der Imago ausdehnen, desto mehr schwindet der in den Seitenpartien befindliche mit Reservestoffen gefüllte Fettkörper. Im hinteren Körperabschnitt der 4. Larve fallen schon früh zwei größere, kräftig gefärbte Ballen auf, die sog. Mycetome. Das sind Zellgruppen, die mit symbiontischen Mikroorganismen, in diesem Falle Pilzen, gefüllt sind. Die Symbionten, die auch bei anderen Saft- und Blutsaugern lebensnotwendig sind, liefern dem Wirtstier Substanzen, die es nicht selbst synthetisieren kann, z. B. Vitamine der B-Gruppe. Von Generation zu Generation werden diese lebensnotwendigen Symbionten weitergegeben, indem das Weibchen dafür sorgt, daß sie in das Ei gelangen. Die Übertragung erfolgt bei den Aleyrodiden in einzigartiger Weise, wie Paul Buchner, der Altmeister der Symbioseforschung, schon 1918 festgestellt hat. Im weiblichen Körper werden die Mycetome, denen die traubenförmigen Ovarien eng anliegen, zur Zeit der Geschlechtsreife aufgelockert. Frei werdende

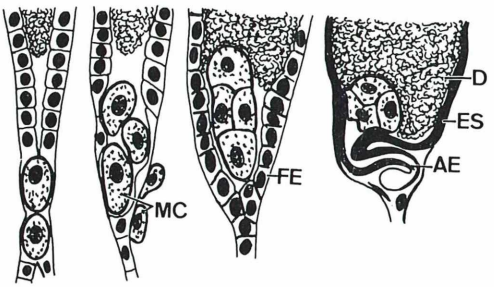


Bild 12: Mycetocyten *(MC)* enthalten Symbionten (Punktierung) und werden in den Eifollikel *(FE* Follikelepithel) aufgenommen. *D* Dotter, *ES* Eischale, *AE* Anlage des Eisporns (nach Buchner).

Mycetomzellen, die Mycetocyten, wandern an die Basis der Eiröhren und dringen nach Beginn der Dotterbildung durch das Follikelepithel an der Basis des Eies, wo sie zunächst als länglicher Klumpen liegenbleiben (Bild 12). Das fertige Ei der Aleyrodiden enthält daher neben der Eizelle noch intakte somatische Zellen der Mutter! Erst relativ spät in der Embryonalentwicklung, nach der Umrollung des Keimstreifs, werden die mütterlichen Zellen zerstört und die Symbionten von körpereigenen Zellen des Embryos aufgenommen. Das auffallende, orangefarbene Mycetom liegt zwar zur Zeit der Eiablage in der Nähe des kleinen Stielchens am hinteren Eipol. Es wandert aber während der Embryonalentwicklung bis zum entgegengesetzten Pol des Eies und von dort wieder zurück bis etwa zur Mitte. Im männlichen Geschlecht entwickeln sich neben den Mycetomen ein paar ebenfalls stark gefärbte Ballen, die Hoden (Bil-

der 8 und 10), samt den zugehörigen Ausführgängen, Anhangsdrüsen und Kopulationsorganen. Bei den künftigen Weibchen entstehen neben den Mycetomen die färberisch weniger auffallenden, traubenförmigen Ovarien (Bilder 4, 5, 7, 9, 11), samt Ausführgängen und Legeapparat.

Wenn die Organe der künftigen Imago ausgebildet sind, löst sich die Epidermis von der alten Larvenkutikula ab und scheidet eine neue Kutikula aus. Dann wird die alte Larvenkutikula an ausgedünnten Stellen des Vorderendes aufgebrochen, und das erwachsene Tier verläßt die schützende, inzwischen viel zu eng gewordene Hülle. Im Freien werden Körper, Flügel und Beine gestreckt. Aus den am Hinterende mündenden Wachsdrüsen tritt Wachs aus, das mit Hilfe der Beine auf Flügel und Körper verteilt wird.

Betrachten wir insgesamt den Ablauf der Metamorphose, so fällt auf, daß die Ausbildung der typischen Organisationsbestandteile des erwachsenen Stadiums nicht wie bei den bekannteren Hemipteren allmählich erfolgt, sondern wegen der ganz anderen Bauweise der Larve auf das unbewegliche letzte, das 4. Larvenstadium beschränkt ist. Bei keiner Insektengruppe wird die Entstehung der Flügel so lange hinausgezögert wie bei den Aleyrodiden. Das 4. Larvenstadium kann aber nicht einfach mit dem Puppenstadium der Holometabolen (Käfer, Schmetterlinge, Fliegen u. a.) verglichen werden, denn es nimmt im Gegensatz zur Puppe noch längere Zeit Nahrung auf. Man kann die Metamorphose der Aleyrodiden daher nur als Sonderform der Hemimetabolie auffassen und hat sie als Allometabolie bezeichnet. Für sie ist charakteristisch, daß die von Fettzellen gebildeten sog. Randpolster zusammengezogen bzw. verbraucht werden und damit die Entstehung von Höhlen ermöglichen, in denen die zunehmend stärker sich entwikkelnden Körperanhänge (Antennen, Flügel, Beine und Genitalapparat) Platz finden können. Da diese Metamorphose innerhalb der Kutikula des letzten Larvenstadiums stattfindet, spricht man, in Analogie zu den Verhältnissen bei den cyclorrhaphen Fliegen, von einem Puparium.

Im Spätsommer und Herbst sind bei *Aleyrodes proletella* viele Puparien von Parasiten, vor allem Schlupfwespen, befallen. Die dunkle Pigmentierung solcher Puparien ist vermutlich eine Abwehrreaktion des Wirtes.

Auf der Unterseite von Ahornblättern findet man häufig die Puparien einer anderen Aleyrodidenart, *Aleurochiton complanatus* (Baerensprung), die im Herbst ein ganz charakteristisches Aussehen durch starke Wachsabscheidungen erhalten (Bild 13). Diese Überwinterungsstadien (Latenzformen) entstehen wie Müller gezeigt hat, wenn die Tageslänge abnimmt, d. h. wenn im Freiland der Herbst beginnt.

Literaturhinweise:

1. *Buchner, P.:* Studien an intrazellulären Symbionten. II. Die Symbionten von Aleurodes, ihre Übertragung in das Ei und ihr Verhalten bei der Embryonalentwicklung. Arch. Protistenk. **39**, 34—61 (1919).
2. *Buchner, P.:* Tiere als Mikrobenzüchter. Springer, Berlin, 1960.
3. *Fulmek, L.:* Wirtsindex der Aleyrodiden- und Cocciden-Parasiten. Entom. Beih. aus Berlin-Dahlem **10**, 1—100 (1943).
4. *Müller, H. J.:* Zur Biologie und Morphologie der Saisonformen von Aleurochiton complanatus (Baerensprung 1849) (Homoptera, Aleyrodidae). Z. Morph. Ökol. Tiere **51**, 345—374 (1962).
5. *Müller, H. J.:* Über die Induktion der Diapause und der Ausbildung der Saisonformen bei Aleurochiton complanatus (Baerensprung) (Homoptera, Aleyrodidae). Z. Morph. Ökol. Tiere **51**, 575—610 (1962).
6. *Stein, E.:* Beitrag zur Morphologie und systematischen Stellung von Aleurodes proletella L. Beitr. Entom. **9**, 507—516 (1959).

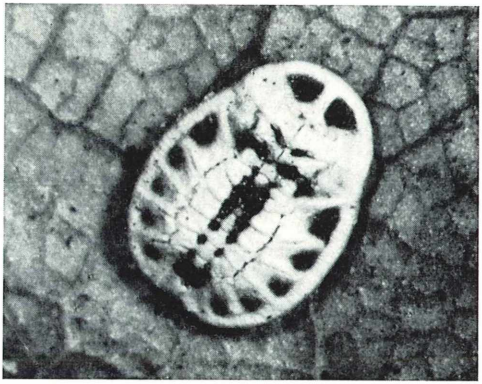


Bild 13: Überwinterungsstadium (Latenzform) von *Aleurochiton complanatus* auf der Unterseite eines Ahornblattes. Dieses Stadium ist durch starke Wachsabscheidungen auch nach dem Laubfall noch gegen Witterungseinflüsse geschützt (Aufnahme B. Hilgers).

7. *Thomsen, M.:* Studien über die Parthenogenese bei einigen Cocciden und Aleurodiden. Z. Zellforsch. **5**, 1—116 (1927).
8. *Tullgren, A.:* Beschreibung der Imago von Aleurodes proletella. Über einige Arten der Familie Aleurodidae. Ark. Zool. **3**, 1—18 (1907).
9. *Weber, H.:* Biologie der Hemipteren. Springer, Berlin 1930.
10. *Weber, H.:* Die postembryonale Entwicklung der Aleurodinen (Hemiptera-Homoptera). Ein Beitrag zur Kenntnis der Metamorphosen der Insekten. Z. Morph. Ökol. Tiere **29**, 268—305 (1935).
11. *Weber, H.:* Der Bau der Imago der Aleurodinen. Ein Beitrag zur vergleichenden Morphologie des Insektenkörpers. Zoologica (Stuttgart) **33** (89), 1—71 (1935).
12. *Weber, H.* u. *Weidner, H.:* Grundriß der Insektenkunde. 5. Aufl. Fischer, Stuttgart 1974.
13. *Zahradnik, J.:* Aleyrodina (Mottenläuse) in Brohmer-Ehrmann-Ulmer, Die Tierwelt Mitteleuropas IV. Band Lief. 3 Heft 10 d. Quelle u. Meyer, Leipzig 1963.

Verfasserin: Dr. Renate Peters, Albrecht-Dürer-Str. 45, 4006 Erkrath.

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

Diatomeenschalen im elektronenmikroskopischen Bild

Diatomeen sind bereits im Lichtmikroskop reizvolle Objekte. Sie bestechen durch die Regelmäßigkeit ihrer Form. Diese Regelmäßigkeit setzt sich bis in die kleinsten Dimensionen fort, so daß im Elektronenmikroskop noch weitere, gleichmäßig angelegte Details sichtbar werden (Bild 1).
Die Nomenklatur der Diatomeenschalenbestandteile hat sich von Zeit zu Zeit gewandelt. Nach neuestem Stand gilt folgendes (Anonymous, 1975) (Bild 2): Die ganze Schale, die Frustel, setzt sich aus Epitheca (Bild 2, *ETH*) und Hypotheca (Bild 2, *HTH*) zusammen. Epi- sowie Hypotheca wiederum bestehen aus Epi- bzw. Hypovalva (Bild 2, *EV* und *HV*) und Epi- bzw. Hypocingulum (Bild 2, *EC* und *HC*) (Cingulum = Gürtelband). Die Cingula sind in der Regel aus mehreren Bestandteilen zusammengesetzt. Beide Cingula werden zusammengenommen als Gürtel bezeichnet (Bild 2, *G*).
Die Kieselalgen lassen sich in zwei scharf voneinander getrennte Gruppen einteilen: Centrales und Pennales. Die zentrischen Formen besitzen in der Aufsicht kreisförmige bis elliptische Valven (Bild 1), wohingegen die pennaten Diatomeen lineare bis lanzettförmige Valven aufweisen.
Die Valven von *Cyclotella cryptica* sind kunstvoll strukturiert. Durch zum Zentrum hinziehende Strahlen wird die Valvenfläche in 14 Segmente aufgegliedert. Diese Seg-

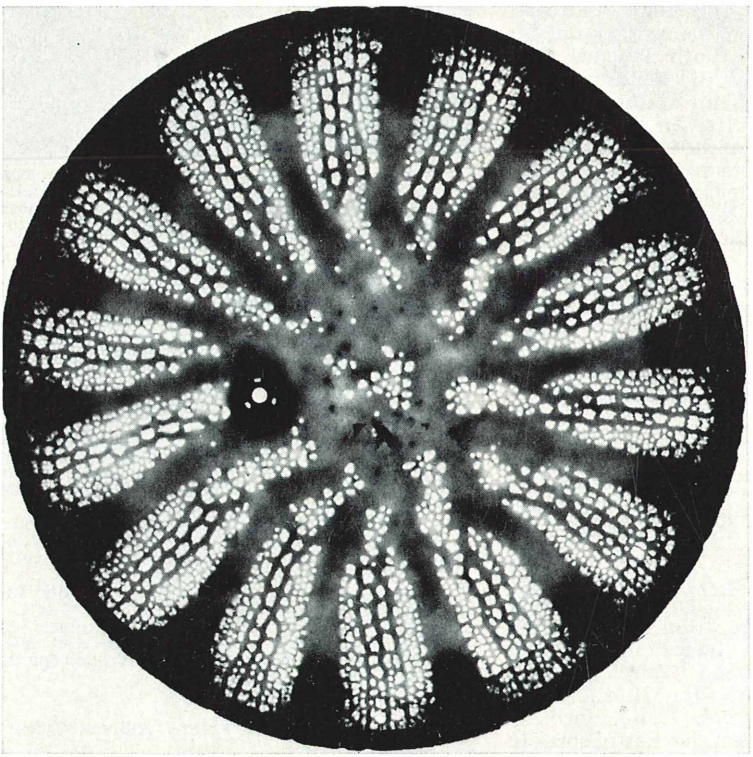


Bild 1: Valvaaufsicht: *Cyclotella cryptica*. Vergr. 15 000×.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten

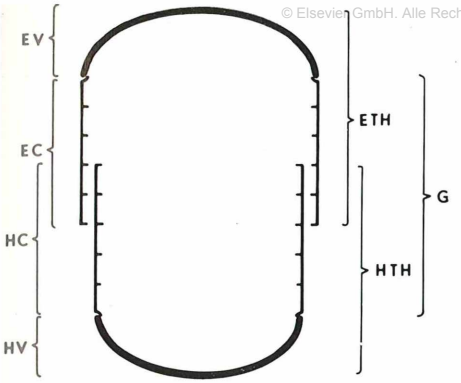


Bild 2: Schematische Darstellung der Diatomeenschale (nach Anonymous). G — Gürtel; ETH — Epitheca; HTH — Hypotheca; EV — Epivalva; HV — Hypovalva; EC — Epicingulum; HC — Hypocingulum.

mente sind jeweils von einem Gitterwerk ausgefüllt, in dessen Maschen sich noch kleinere Poren befinden. Der exzentrische, von drei weiteren Öffnungen umgebene kreisrunde Porus dient, ähnlich wie die 14 Poren am Valvenrand (die wegen der Dichte des Materials im vorliegenden Bild nur schwer auszumachen sind), der Zelle dazu, im Plasma synthetisierte Schwebefortsätze aus der Schale schieben zu können.

Bei einer anderen Art, *Coscinodiscus granii*,

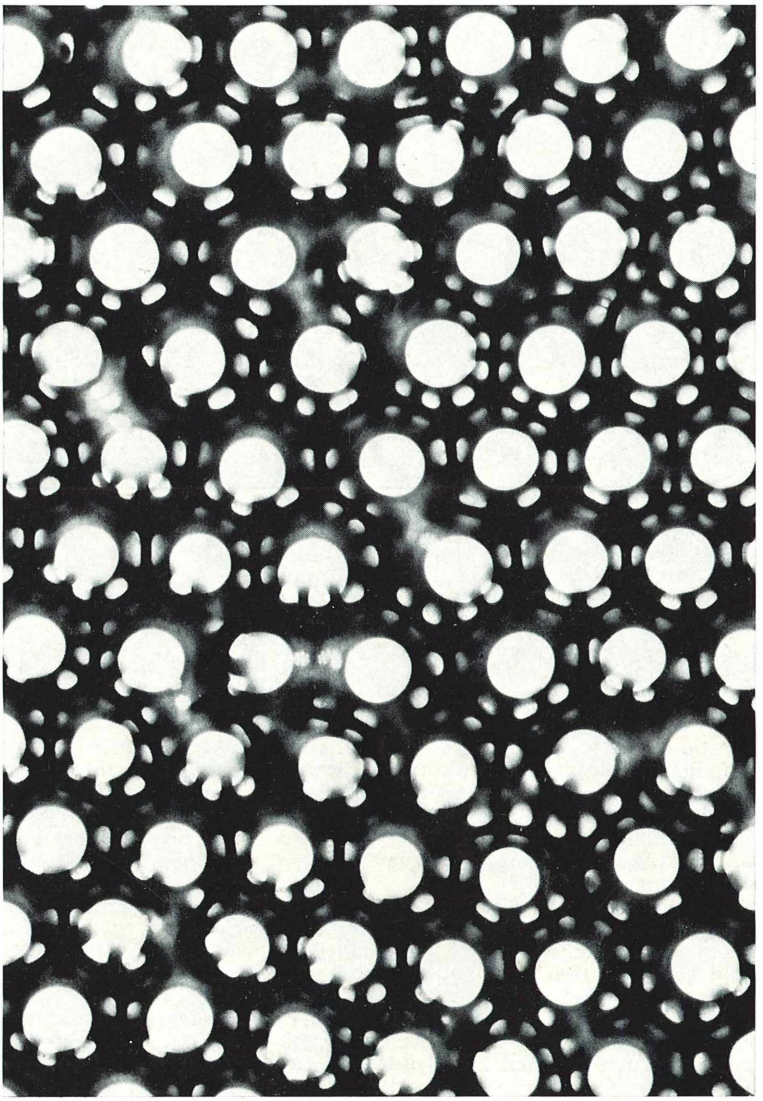


Bild 3: Ausschnitt aus der Valva von *Coscinodiscus granii*. Unbehandelte Schale. Vergr. 17 000×.

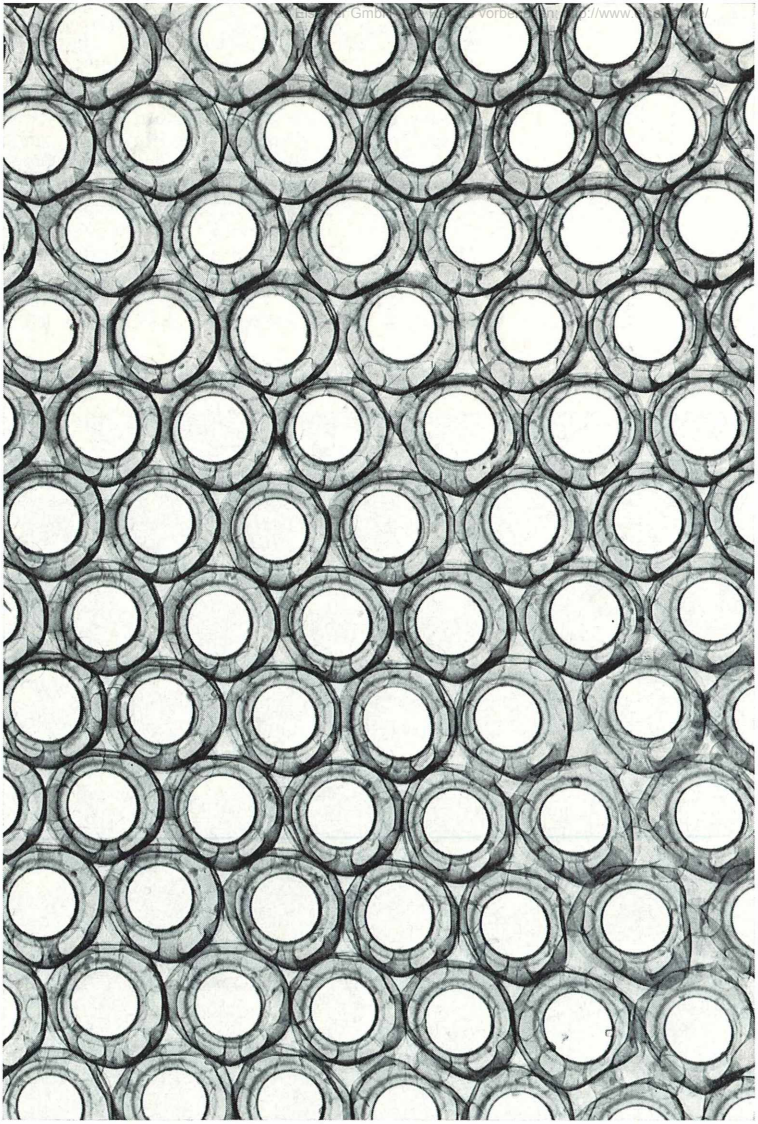


Bild 4: Ausschnitt aus der Valva von *Coscinodiscus granii*. Kohleabdruck. Der Bildausschnitt entspricht dem von Bild 3. Vergr. 17 000×.

ist die gesamte Valva äußerst regelmäßig aufgebaut. Kompliziert strukturierte Poreneinheiten sind lückenlos aneinandergesetzt (Bild 3). Diese Kieselsäureschale ist jedoch für Elektronenstrahlen so dicht, daß nicht alle Struktureinzelheiten dargestellt werden können.

Um dennoch derartige Probleme bewältigen zu können, haben die Elektronenmikroskopiker eine spezielle Methode entwickelt: das Abdruckverfahren. Dazu benötigt man eine sogenannte Bedampfungsapparatur. Im Prinzip besteht ein solches Gerät aus einem Rezipienten, der durch ein Hochleistungspumpsystem auf einen Restdruck von 10^{-4} bis 10^{-5} torr evakuiert wird. In diesem Vakuum werden Metalle (z. B. Gold, Platin, Palladium) mit elektrischem Strom erhitzt. Man kann auch Kohle benutzen, indem man zwei Kohlestifte so zusammenbringt, daß beim Anlegen eines Starkstromes ein Lichtbogen entsteht. In beiden Fällen ist die Erhitzung so stark, daß sich die Bedampfungsmittel (Metall, Kohle) wegen des Vakuums gleichmäßig in alle Richtungen ausbreiten. Dadurch erreicht man eine einheitliche Beschichtung (= Bedampfung) der Objekte.

In dieser Apparatur bedampft man nun die Objekte mit einer relativ dicken Schicht von verhältnismäßig elektronentransparentem Material, in der Regel Kohle. Danach

löst man das Objekt chemisch auf. Bei Kieselalgen nimmt man hierfür Flußsäure. Somit wird nur die aufgedampfte Schicht im Elektronenmikroskop untersucht.

Wie andersartig der Informationsgehalt solcher Präparate ist, zeigt der Vergleich mit einer unbehandelten Schale (vgl. Bild 3 mit Bild 4). Allerdings genügen derartige Präparate allein auch nicht zur vollen Strukturaufklärung. An Hand eines günstigen Präparates kann man zwar bereits erahnen, wie der räumliche Aufbau der *Coscinodiscus*-Valva sein könnte (Bild 5), indem weinkelchartige Kammern zur Schale zusammengefügt sind. Aber um sicher zu gehen, müßte man, wie bei vielen anderen Fragestellungen, so auch in diesem Fall, unterschiedlichste Verfahren anwenden. Aus der Zusammenschau der so gewonnenen Ergebnisse wäre schließlich eine weitgehend exakte räumliche Rekonstruktion der Diatomeenschale möglich.

Nicht nur die Valven, sondern auch die Gürtelbänder sind reich strukturiert. Das unbehandelte Gürtelband von *Coscinodiscus* zeigt Reihen von Poren, die einen hellen Hof aufweisen (Bild 6 A). Der Abdruck deutet wiederum darauf hin, daß kompliziertere, wahrscheinlich auch gekammerte Strukturen vorliegen (Bild 6 B). Betrachtet man die hier wiedergegebenen Bilder, so kann man wegen der außerordentlichen

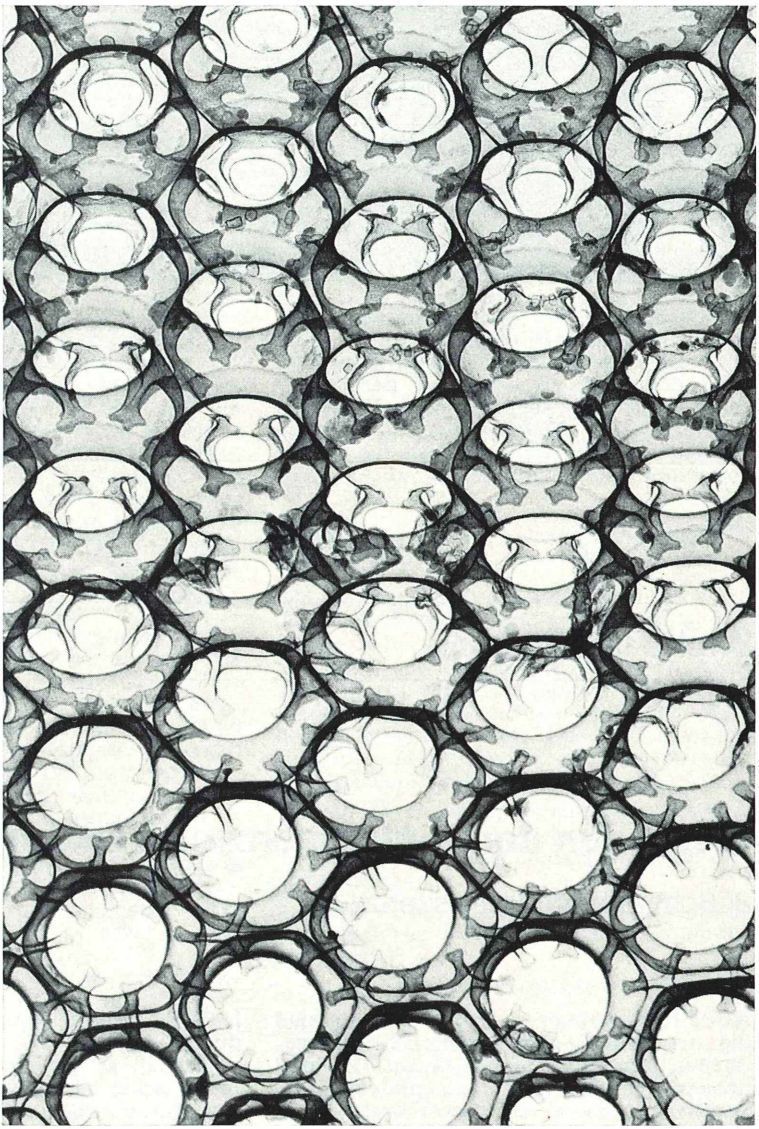


Bild 5: Valvaausschnitt von *Coscinodiscus granii*. Kohleabdruck. Diese Präparatstelle läßt infolge einer leichten Krümmung erkennen, daß die Schale aus weinkelchartigen Kammern aufgebaut wird. Vergr. 23 000×.

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

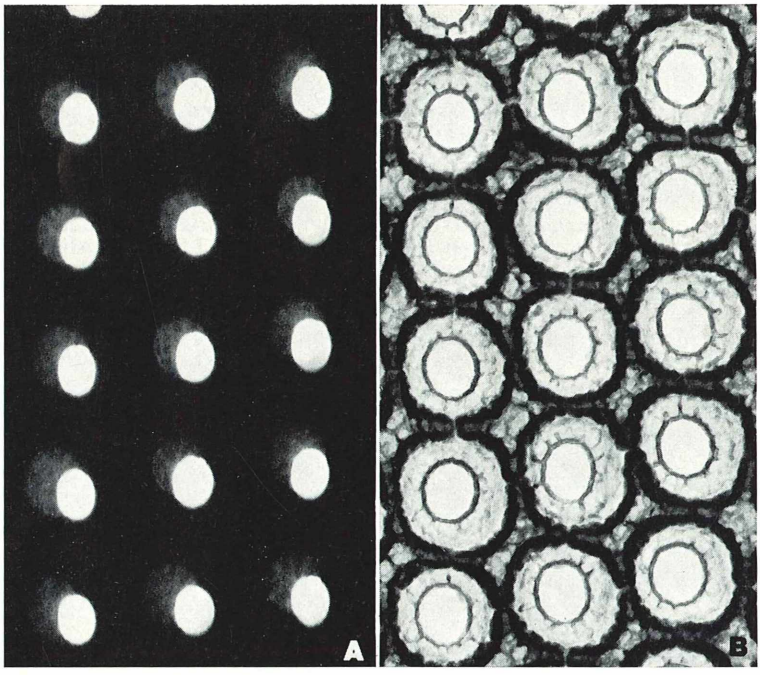


Bild 6: Auch das Gürtelband von *Coscinodiscus granii* ist regelmäßig strukturiert. Im Vergleich zum unbehandelten Objekt (A) deutet der Abdruck (B) darauf hin, daß auch in diesem Schalenbereich kammerartige Strukturen vorliegen. Vergr. 54 000×.

Ebenmäßigkeit und Schönheit der Strukturen an die 100 Bildtafeln erinnert werden, die 1904 von E. Haeckel in Buchform unter dem Titel „Kunstformen der Natur" veröffentlicht wurden. In diesem Werk haben unter der Vielzahl der künstlerisch angelegten Lithographien auch die Diatomeen ihren Platz gefunden.

Literaturhinweise:

1. *Anonymous:* Proposals for a standardization of diatom terminology and diagnoses. Beiheft 53 zur Nova Hedwigia, 323—354, 1975.
2. *Helmcke, J.-G.* und *W. Krieger:* Diatomeenschalen im elektronenmikroskopischen Bild. Herausgeber J. G. Helmcke und J. Gerloff. Teil 1—10, 1961—1975, Verlag von J. Cramer, Weinheim.
3. *Hustedt, F.:* Kieselalgen (Diatomeen). Einführung in die Kleinlebewelt. Kosmos-Verlag, Franckh, Stuttgart, 1969.

Verfasser: Dr. K. Hausmann, Lehrstuhl für Zellenlehre, Im Neuenheimer Feld 230, 6900 Heidelberg.

Winke fürs Labor

Gerhard Göke

Methoden der Fluoreszenzmikroskopie

3. Schmalbandfluoreszenz

Als Breitbandfluoreszenz bezeichnet man die Ausfilterung von Erregerlicht mit gefärbten Glasfiltern (z. B. UG und BG) und dessen Sperrung mit Kantenfiltern (Anlaufgläsern), die ab einer bestimmten Wellenlänge für das gesamte Fluoreszenzlicht durchlässig sind. Sie wird überall dort angewendet, wo Anregungs- und Emissionsmaximum weit auseinander liegen. In den ersten beiden Teilen dieses Beitrages wurde

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

über die Methoden der Breitbandfluoreszenzmikroskopie und die davon abgeleiteten simultanen Kontrastverfahren ausführlich berichtet.

Mit der Entwicklung der Fluoreszenzmikroskopie zum spezifischen Nachweisverfahren und zur quantitativen Methode, wurde auch nach der optimalen Kombination von Erreger- und Sperrfiltern gesucht. Man ging dabei vom Fluorophor oder Fluorochrom aus und legte nach Ermittlung der spektralen Werte für Anregung und Fluoreszenz die günstigste Filterkombination bei einer bestimmten Lichtquelle fest. Im Gegensatz zur klassischen Breitbandfluoreszenz verwendet man bei der hier beschriebenen Schmalbandfluoreszenz Erregerfilter mit schmaler Halbwertsbreite und selektiert das gesamte Fluoreszenzlicht oder dessen Maximum mit geeigneten Sperrfiltern.

Als Erregerfilter mit geringer Halbwertsbreite haben sich verschiedene Metall-Interferenzfilter, zum Teil in Kombination mit Farbglasfiltern, gut bewährt. Monochromatische Metall-Interferenzfilter des Fabry-Perotschen Typs bestehen im Prinzip aus zwei teildurchlässigen Metallspiegeln, die durch eine absorptionsfreie Zwischenschicht getrennt sind. Die Dicke der Zwischenschicht, für die sich die Bezeichnung Dielektrikum eingebürgert hat, ist maßgebend für die spektrale Lage der Durchlässigkeitsbande und der Sperrgebiete. Im Hochvakuum werden auf ein Trägerglas die erste Metallschicht (meistens Silber), das Dielektrikum und anschließend die zweite Metallschicht aufgedampft. Um die extrem dünnen Schichten vor Beschädigung zu schützen, wird mit einem optischen Kitt ein zweites Glas, oft ein massegefärbtes Filterglas mit steiler Absorptionskante, aufgekittet. Auch Vielschicht-Breitbandinterferenzfilter werden für die Sperrung der unerwünschten Durchlässigkeitsbande höherer Ordnung verwendet. Die aufwendige Herstellung bleibt nicht ohne Einfluß auf den Preis der Metall-Interferenzfilter. Im Gegensatz zu den Glasfiltern sind sie teuer, sowie empfindlich gegen Schlag, Druck und Zug. Bei ihrer Anwendung ist stets darauf zu achten, daß die Spiegelfläche gegen die Lichtquelle gerichtet ist. Metall-Interferenzfilter sollen keinen höheren Temperaturen als kurzfristig 70° C ausgesetzt werden. Am besten schaltet man immer ein farbloses, 3 mm starkes Wärmeschutzfilter (KG 2) zwischen Lichtquelle und Interferenzfilter.

Als Sperrfilter bzw. Fluoreszenz-Selektionsfilter können ebenfalls Metall-Interferenzfilter verwendet werden. Typische Filterkurven zeigen die Bilder 1, 2 und 3. Mit Interferenzfiltern kann man aus dem Fluoreszenzspektrum das Maximum oder ein spezifisches Wellenlängenband herausfiltern. In vielen Fällen ist bei Schmalbandanregung kein spezielles Selektionsfilter erforderlich. Ein Kantenfilter reicht aus. Hinsichtlich ihrer Steilkantigkeit und Fluoreszenzarmut übertreffen die Glas-Kunststoff-Verbundfilter im Gebiet von 370 bis 550 nm die üblichen Anlaufgläser (Bild 4).

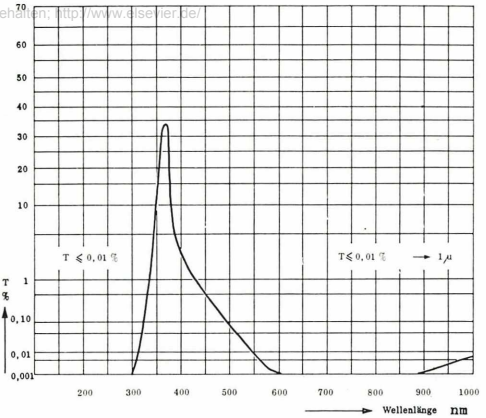


Bild 1: Interferenzfilter FILTRAFLEX-R-UV. Filterkurve (Balzers AG, Lichtenstein).

In diesem Zusammenhang sei auch auf die Vertikal-Illuminatoren mit dichromatischen Teilerspiegeln und Interferenz-Teilerspiegeln hingewiesen, deren Einführung in die Auflicht-Fluoreszenzmikroskopie wesentlich zur Entwicklung der Schmalbandfluoreszenz beigetragen hat. In sehr vielen Fällen ist die Auflicht-Anregung die Methode der Wahl.

Anwendung in der Immunfluoreszenztechnik

Die Immunfluoreszenztechnik ist ein serologisches Verfahren und beruht auf der Reaktion von Antikörpern mit Antigenen. Mit Hilfe von fluoreszenzmarkierten Antikörpern kann die Reaktion mit dem Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht werden (Coons et al. 1941). Das Verfahren hat sich im wesentlichen drei große Anwendungsgebiete erobert:

1. Den Nachweis mikrobieller Antigene (Viren, Rickettsien, Bakterien, Pilze, Protozoen) und gegen Mikroben gerichteter Antikörper.
2. Den Nachweis normaler und pathologisch veränderter Gewebsproteine (Immunbiologie).
3. Das Studium der Antikörperbildung.

Antikörper werden mit bestimmten Fluorochromen durch Kovalenzbindungen gekuppelt. Dabei behalten sie ihre sereologische Spezifität und reagieren weiterhin mit dem dazugehörigen (homologen) Antigen.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten

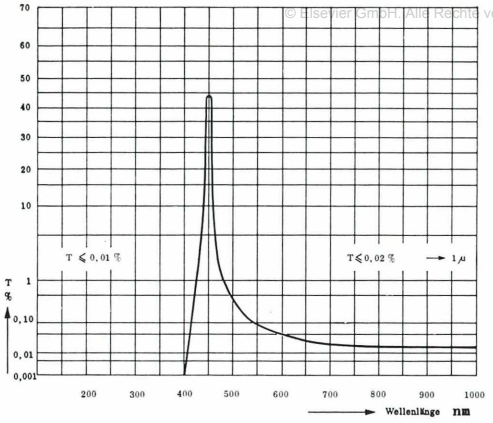


Bild 2: Monochromatisches Interferenzfilter FILTRAFLEX-B-40. Filterkurve (Balzers AG, Lichtenstein).

Läßt man fluoreszenzmarkierte Antikörper auf das homologe Antigen einwirken, so binden sie sich fest daran, während andere fluoreszenzmarkierte Proteine durch Waschen entfernt werden können. Bei Bestrahlung mit geeignetem Erregerlicht kann der Antigen-Antikörper-Komplex an seiner Fluoreszenz erkannt werden. Befindet er sich an der Oberfläche von Mikroorganismen (Bakterien, Pilze, Protozoen u. a.) so sind diese im Gesichtsfeld des Fluoreszenzmikroskops von einem leuchtenden Saum umgeben.

Von den geeigneten Fluorochromen hat das Fluoresceinisothiocyanat (FITC) heute die größte Bedeutung. Bei der Markierung geht man von hochtitrigen Antiseren aus. Die Kuppelung findet im gepufferten Medium in der Kälte statt, um eine Denaturierung des Antikörperproteins zu vermeiden. Einige Firmen bieten auch fluoreszenzmarkierte Antiseren an. Die Herstellung der Konjugate kann im Rahmen dieses Beitrages nicht in allen Einzelheiten beschrieben werden. Sie wird u. a. in der Monographie von M. Wagner (1967) ausführlich behandelt.

Fluoresceinisothiocyanat (FITC)

Das FITC hat in der Diagnostik der Infektionskrankheiten heute die größte Anwendung (Bezugsquelle: SERVA, Heidelberg). Die Maxima der Anregung und Emission liegen beim FITC sehr dicht beieinander: Das Anregungsmaximum zwischen 490 und 495 nm, das Emissionsmaximum zwischen 520 und 525 nm. Früher verwendete man das Filter BG 12/4 mm zur Anregung des FITC, das die Transmission bei etwa 500 nm abschneidet. Aufgrund seiner relativ hohen Durchlässigkeit bei 400 nm erzeugt es dort eine unspezifische Fluoreszenz neben der FITC-Hauptfluoreszenz, die sich als Störung des Untergrundes im mikroskopischen Bild auswirkt und mit Sperrfiltern nur unvollkommen beseitigt werden kann. Wenn man den Schwerpunkt der Strahlung nicht in das FITC-Hauptmaximum bei ca. 490 nm, sondern in das Nebenmaximum bei etwa 470 nm legt, so erhält man eine ausreichend helle FITC-Fluoreszenz, deren Maximum mit Kantensperrfiltern (OG 510, OG 530) oder Interferenzfiltern (AL 525, AL 530) selektiert werden kann.

Eine wesentliche Verbesserung des Bilduntergrundes erzielt man bei Auflichtanregung mit dem Interferenzfilter AL 470 in Kombination mit den Farbglasfiltern BG 38/4 mm und BG 12/1,5 nm. Als Sperrfilter dienen die oben erwähnten Kantensperrfilter bzw. Interferenzfilter.

Speziell für die FITC-Fluoreszenz wurden mehrere Interferenz-Kantenfilter entwikkelt, deren Transmission im Wellenlängenbereich 460 bis 490 nm mehr als 85% beträgt. Es handelt sich um Vielschicht-Interferenzsysteme mit besonders steiler Kante bei 480 bzw. 490 nm. Bild 5 zeigt die Transmissionskurve des Filters FILTRAFLEX-FITC-3 (Balzers AG, Lichtenstein), das zur grünen FITC-Fluoreszenz einen roten Bilduntergrund erzeugt. Wo diese Kontrastierung unerwünscht ist, wird das Filter FILTRAFLEX-FITC-4 (Bild 6) eingesetzt. Dabei handelt es sich um das mit einem Rotsperrfilter verkittete Interferenzfilter FILTRAFLEX-FITC-3. Ähnliche Interferenzfilter werden auch von anderen Firmen in den Handel gebracht (SCHOTT, LEITZ, AMERICAN OPTICAL). Ein Quecksilber-Höchstdruckbrenner ist dafür nicht erforderlich.

Mit einer Halogen-Glühlampe 12 V/100 W in Kombination mit einem Wärmeschutzfilter KG 2/3 mm erzielt man mit dem Fil-

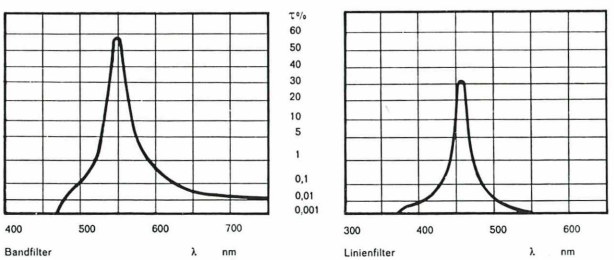


Bild 3: Interferenz-Bandfilter und Interferenz-Linienfilter. Filterkurven (Schott & Gen., Mainz).

ter FILTRAFLEX-FITC-3 bei Dunkelfeldbeleuchtung eine brillante FITC-Fluoreszenz. Der rote Bilduntergrund kann mit dem Rotdämpfungsfilter BG 38/4 mm vollständig unterdrückt werden, so daß auf die Anschaffung des verkitteten FILTRAFLEX-FITC-4 verzichtet werden kann. Auch das Filter KP 490 (Schott), das ähnliche Eigenschaften hat, wird am besten mit dem Filter BG 38/4 mm benutzt. Eine eventuell vorhandene Primärfluoreszenz der Objekte kann mit dem Filter GG 470/2 mm unterdrückt werden. Dieses Kantenfilter schneidet das Erregerlicht unterhalb 470 nm ab. Die beschriebene Filterkombination ermöglicht mit minimalem Aufwand und bester Qualität die FITC-Fluoreszenz mit jedem Mikroskop, sofern eine Niedervolt-Halogenleuchte zur Verfügung steht und ein Dunkelfeldkondensor adaptiert werden kann. Auch für die Anregung einer Reihe weiterer Fluorochrome, zum Beispiel Akridinorange, sind die beschriebenen FITC-Filter sehr gut geeignet.

Tetramethylrhodaminisothiocyanat (TRITC)

Die Anregung der Rotfluoreszenz von TRITC, einem Antikörper-Fluoreszenztracer, erfolgt mit dem grünen Licht der Quecksilberlinie Hg 546 nm. Anregungs- und Emissionsmaximum dieses Fluorochroms liegen so dicht beieinander (550 und 580 nm), daß zur Anregung die Kombination des Interferenzfilters AL 546 mit den Glasfiltern BG 38 und BG 36 nötig ist, um das Erregerlicht im Bereich des Emissionsmaximums von TRITC abzuschneiden. Mit einem Kantenfilter OG 590 oder RG 610 kann man zwar nicht das gelbe Emissionsmaximum, aber eine kräftige rote bis rotorange Fluoreszenzfarbe beobachten.

Rhodamin RB 200, Rosamin B

Auch zur Anregung dieser beiden Fluorochrome wird die Quecksilberlinie Hg 546 verwendet. Die Fluoreszenzmaxima liegen zwischen 570 und 590 nm. Zur Anregung wird in der Regel das Filter AL 546 verwendet. Aufgrund seiner großen Halbwertsbreite läßt dieses Filter aber auch die Quecksilberlinien 578/579 nm durch. Das Fluoreszenzlicht wird davon überstrahlt, wenn man nicht mit einem Bandenabsorptionsfilter BG 36/2 mm die Quecksilberlinien 578/579 vollkommen sperrt.

Katecholamin, Adrenalin, Noradrenanlin, Dopamin

Die spezifische Fluoreszenz dieser Stoffe ist schwierig zu selektieren, weil ihr Anregungsmaximum im Bereich von 410—415 nm liegt, während sich das Emissionsmaximum zwischen 470 und 480 nm befindet. Die Fluoreszenzanregung muß mit violettem Licht von etwa 410 nm erfolgen. Würde man dafür das Filter BG 12/4 mm verwenden, so wäre mit den erforderlichen Sperrfiltern OG 515 oder OG 530 zwar eine grünliche Fluoreszenz zu beobachten, die jedoch nicht für diese Stoffe spezifisch ist. Will

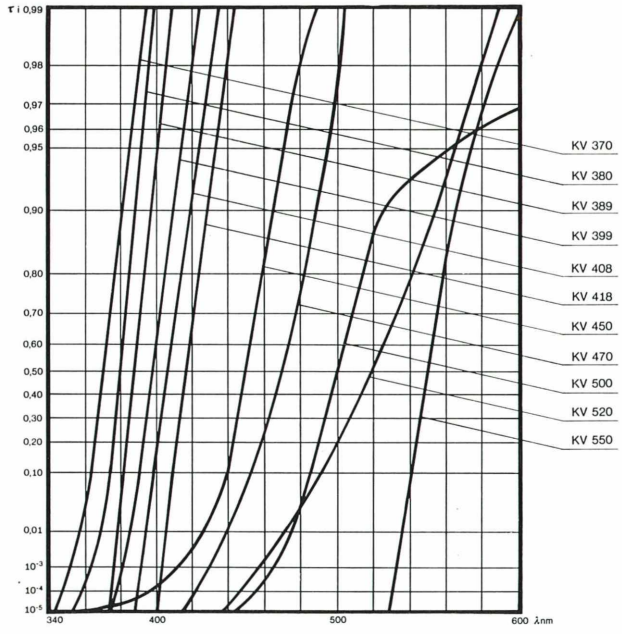


Bild 4: Filterkurven von steilkantigen Glas-Kunststoff-Verbund-Filter (KV-Filter von Schott & Gen., Mainz).

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

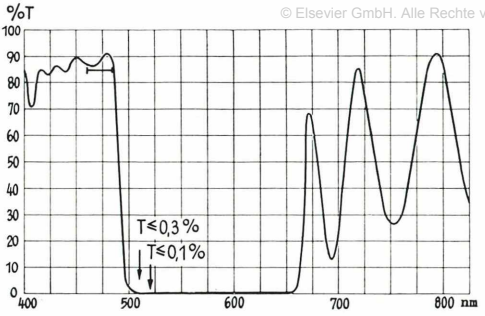


Bild 5: Interferenzfilter FILTRAFLEX FITC-3. Filterkurve (Balzers AG, Lichtenstein).

man die typische blaue Fluoreszenz sichtbar machen, so muß man das Erregerlicht mit den Filtern AL 405 und BG 3/2 mm filtrieren und nach Möglichkeit mit einem Vertikal-Illuminator zum Präparat leiten. Beobachtet wird mit den Sperrfiltern GG 455/2 mm oder K 455.

Diese wenigen Beispiele zeigen die vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten der Schmalbandfluoreszenz. Der experimentierfreudige Mikroskopiker findet hier ein interessantes Gebiet, dessen Bearbeitung keineswegs abgeschlossen ist.

Mikrofotografie

Für die mikrofotografische Dokumentation der farbigen Fluoreszenzbilder ist Tageslicht-Farbumkehrfilm am besten geeignet. Konversionsfilter sind überflüssig. Die flache Gradation der höchstempfindlichen Farbfilme wird durch die lange Belichtungszeit von oft mehreren Minuten wesentlich steiler. Das wirkt sich vorteilhaft auf den Kontrast und die Farbbrillanz aus. Die Mikrofotografie lebender, fluoreszierender Mikroorganismen mit starker Eigenbewegung ist praktisch unmöglich. Bei ruhig liegenden lebenden Objekten (Hefen, Algen usw.) kommt man mit etwas Geschick zu brauchbaren Fotos. Störend wirkt sich hier das Ausbleichen des Fluorochroms während der langen Belichtungszeit aus. Für die Mikrofotografie sind fluoreszenzarme Objektive mit hoher numerischer Apertur (Apochromate, Planapochromate) sehr gut geeignet, doch sind diese kostspieligen Objektive nicht grundsätzlich erforderlich. Auch Achromate und Planachromate sind geeignet, wenn sie keine fluoreszierenden Linsen oder Kittflächen enthalten.

Die Belichtung wird von speziellen mikrofotografischen Geräten unter Berücksichtigung des Schwarzschildexponenten elektronisch gesteuert. Im allgemeinen wird man sich jedoch wegen des hohen Preises solcher Einrichtungen mit normalen Aufnahmegeräten begnügen müssen. Man arbeitet hier mit Erfahrungswerten, weil die herkömmlichen Meßgeräte zu unempfindlich oder zu ungenau sind. Da man es nur mit selbstleuchtenden Objekten zu tun hat und die Beleuchtungsapertur keine Rolle spielt, ist die Ermittlung der richtigen Belichtungszeit aufgrund einer Testreihe unproblematisch. Mit Hilfe der Aufnahmeprotokolle sind die richtigen Ergebnisse stets reproduzierbar.

Literaturhinweise:

1. *Hansen, P. A.:* Spectral data of fluorescent tracers. Acta Histochimica Suppl. 7, 167—180 (1967).
2. *Kraft, W.:* Die Fluoreszenzmikroskopie und ihre gerätetechnischen Anforderungen. LEITZ-Mitt. Wiss. u. Techn. Bd. V, Nr. 7, 193—206 (1972).
3. *Kraft, W.:* Ein neues FITC-Erregerfilter für die Routinefluoreszenz. LEITZ-Mitt. Wiss. u. Techn. Bd. V, Nr. 2, 41—44 (1970).
4. *Tomlinson, A. H.:* Standardization in Immunofluorescence. E. W. Holborow. Blackwell Scientific Publications. Oxford u. Edinburgh 1970.
5. *Walter, F.:* Fluoreszenzmikroskopie in Biologie und Medizin. LEITZ-Mitt. Wiss. u. Techn. Bd. V, Nr. 2, 33—40 (1970).
6. *Ploem, J. S.:* Ein neuer Illuminator-Typ für die Auflicht-Fluoreszenzmikroskopie. LEITZ-Mitt. Wiss. u. Techn. Bd. IV, Nr. 8, 225—238 (1969).
7. *Wagner, M.:* Fluoreszierende Antikörper und ihre Anwendung in der Mikrobiologie. Bd. 5 der Reihe: Infektionskrankheiten und ihre Erreger. Jena 1967.
8. *Koch, K. F.:* Fluoreszenz-Mikrophotographie. LEITZ-Mitt. Wiss. u. Techn. Bd. VI, Nr. 4, S. 149—156 (1974).

Der erste Teil „Grundlagen" erschien in Mikrokosmos **65**, 382—386, 1976; der zweite Teil „Die praktische Arbeit" in Mikrokosmos **66**, 24—29, 1977.

Verfasser: Gerhard Göke, Bahnhofstr. 27, 5800 Hagen.

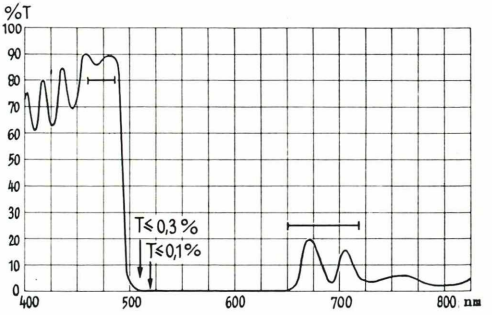


Bild 6: Interferenzfilter FILTRAFLEX FITC-4. Filterkurve (Balzers AG, Lichtenstein).

© Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag, http://www.elsevier.de/

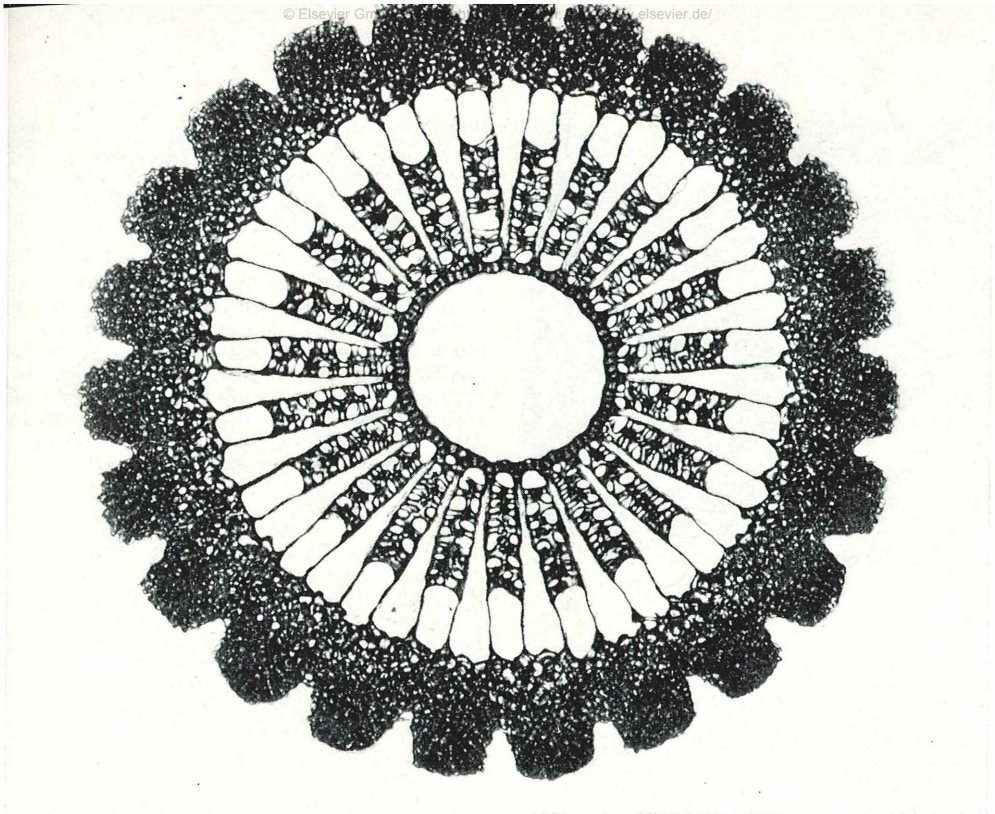


Bild 1: Hohlstachel des tropischen Seeigels *Echinothrix diadema*. Querschliff durch die Stachelbasis. Durchmesser: 1 mm.

Bruno Mischor

Herstellung von Dünnschliffen tierischer Hartgewebe

Von tierischen Hartgeweben, Knochen, Zähnen, Molluskenschalen und Seeigelstacheln, um nur einige Beispiele zu nennen, können durch Schleifen transparente Dauerpräparate hergestellt werden. Um aussagefähige Analysen zu erhalten, ist es notwendig, mit Schliffen zu arbeiten, die möglichst gut poliert und dabei ausreichend dünn sind. Derartige Präparate geben nicht nur Auskunft über den Aufbau und die mikroskopische Feinstruktur des Gewebes, sondern auch über den Mineralbestand, die Orientierung mineralischer Einlagerungen sowie über die Lage doppelbrechender organischer Substanzen; solche Schliffe sind demzufolge für polarisationsmikroskopische Untersuchungen besonders gut geeignet.

Die einfachste Methode zur Herstellung von Dünnschliffen besteht darin, daß man mit einer feinen Handsäge (Laubsäge) 1—2 mm dicke Scheiben des Untersuchungsobjektes abschneidet und diese auf Schleifpapier verschiedener Korngrößen bearbeitet. Von Knochen und Zähnen kann man auf diese Weise mit verhältnismäßig wenig Aufwand in relativ kurzer Zeit brauchbare Präparate erhalten. Stark verkalkte Gewebe und kleine, zerbrechliche Hartstrukturen dagegen, wie z. B. Molluskenschalen, Steinkorallen und Seeigelstacheln, erfordern einen

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

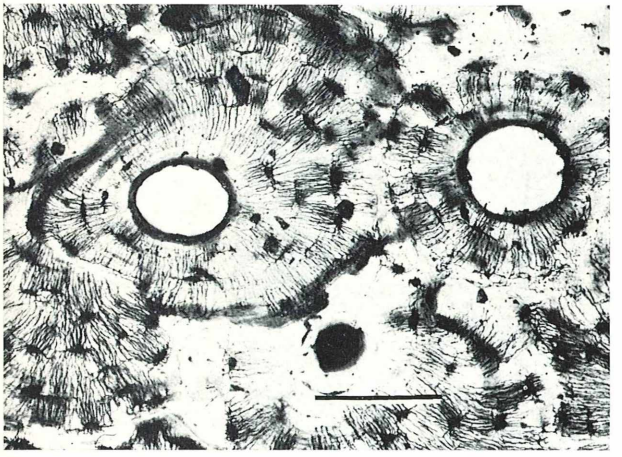


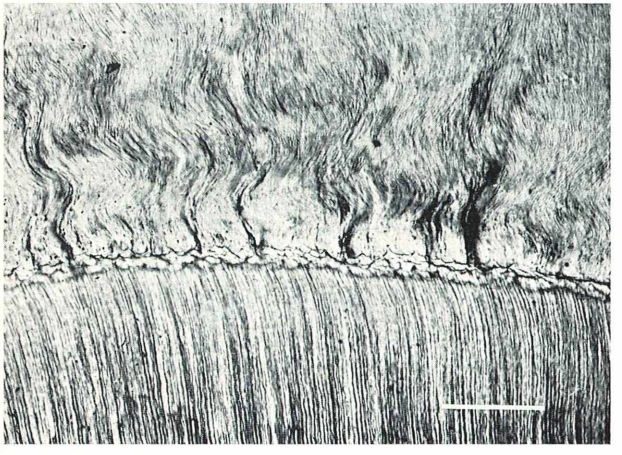
Bild 2: Querschliff durch die Compacta des menschlichen Oberschenkelknochens. Der Ausschnitt zeigt quergetroffene Osteone mit Haversschen Kanälen, Ringlamellen und Knochenhöhlen, die durch feine Ausläufer, die Knochenkanälchen, untereinander verbunden sind. Links unten ist eine Schaltlamelle zu erkennen. Maßstab: 100 μm.

größeren Material- und Zeitaufwand und lassen sich nur durch vorherige Einbettung in ein Kunstharz zu sauberen Dünnschliffen verarbeiten. In der Praxis hat sich für das Einbetten solcher Gewebe Methylmethacrylat (= Monomer des Plexiglases) als überaus brauchbar erwiesen. Für viele Zwecke ist hierbei eine vorherige Mazeration der Objekte in Kali- oder Natronlauge unerläßlich.

Einbettung in Methylmethacrylat (MMA)

Handelsübliches MMA (Merck, Darmstadt), das durch Hydrochinon gegen vorzeitiges Polymerisieren stabilisiert ist, wird folgendermaßen für die Einbettung hergerichtet: Ein Scheidetrichter wird zu $^3/_4$ mit MMA gefüllt und das Hydrochinon mit 5% Natronlauge ausgeschüttelt. Die NaOH-Phase wird hierbei braun. Man läßt sie ablaufen, füllt erneut mit NaOH auf, schüttelt, wartet die Phasentrennung ab und läßt die untere, braun verfärbte Phase ablaufen. Dieser Vorgang wird so lange wiederholt (2—3mal), bis die Lauge klar bleibt. Um Reste von NaOH zu entfernen, wird das MMA im Scheidetrichter mehrmals mit destilliertem Wasser gewaschen und anschließend in eine Vorratsflasche filtriert, die etwas geglühtes Kupfersulfat als Trokkenmittel enthält. Die Aufbewahrung erfolgt bei 4 °C im Kühlschrank (Lichtschutz).

Ein Teil des MMA wird mit Benzoylperoxyd (Initiator der Polymerisation; 2 g BPO-Paste auf 100 ml MMA) versetzt. Man gießt damit den Boden hitzebeständiger Plastikdosen aus Polypropylen (Waldeck, Münster, Best.-Nr. 38 806 000) aus — bei kleineren Objekten wählt man zweckmäßigerweise Gelatinekapseln (WIV, Schwetzingen) und läßt bei 40 °C im Thermostaten polymerisieren. Durch Zugabe einiger abgeraspelter Späne von bereits auspolymerisierten MMA-Blöcken kann man diesen Vorgang erheblich beschleunigen.



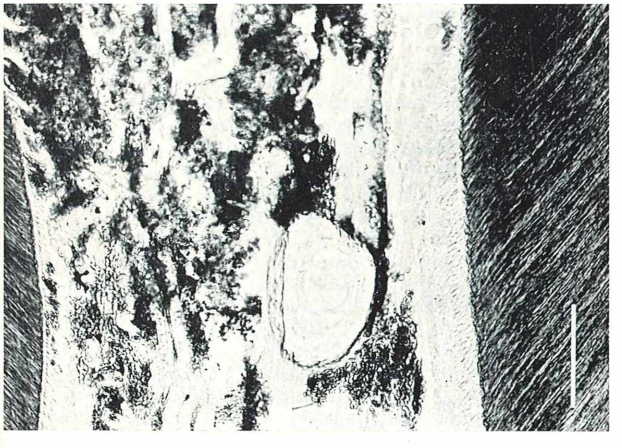
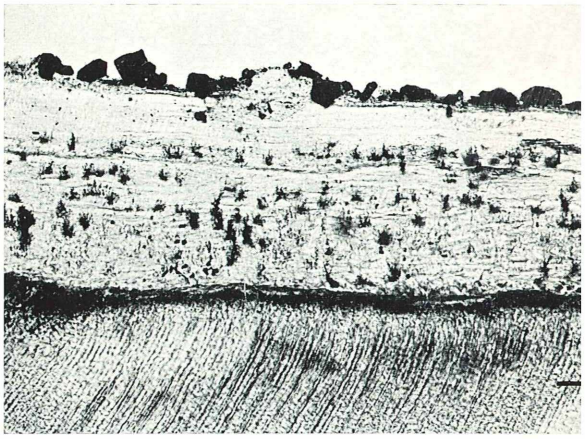


Bild 3: Ausschnitt aus einem Längsschliff durch die Krone des menschlichen Schneidezahnes. Zu den regelmäßig im Schmelz (oben) anzutreffenden Strukturen gehören die Schmelzbüschel. Sie entspringen an der Schmelz-Dentin-Grenze (Mitte) und ziehen mehr oder weniger weit in den Schmelzkörper hinein. Maßstab: 200 μm.

Bild 4: Zahn (Prämolar), Mensch. Pulpahöhle (Mitte) und Dentin (rechts u. links) längs getroffen. In einigen Zähnen findet man im oberen Abschnitt der Pulpahöhle kugelförmige Dentinbildungen, die sogenannten Zahnbeinkugeln. Maßstab: 200 μm.

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

Bild 5: Schneidezahn Mensch, Längsschliff durch die Wurzel. Die zellhaltige Zementschicht (oben) enthält Zementocyten, die den Osteocyten (vgl. Bild 2) sehr ähnlich sind. Sie sind sehr unregelmäßig angeordnet und besitzen zahlreiche, sich verzweigende, mit den Fortsätzen anderer Zementocyten anastomisierende Zellausläufer. Maßstab: 200 μm.



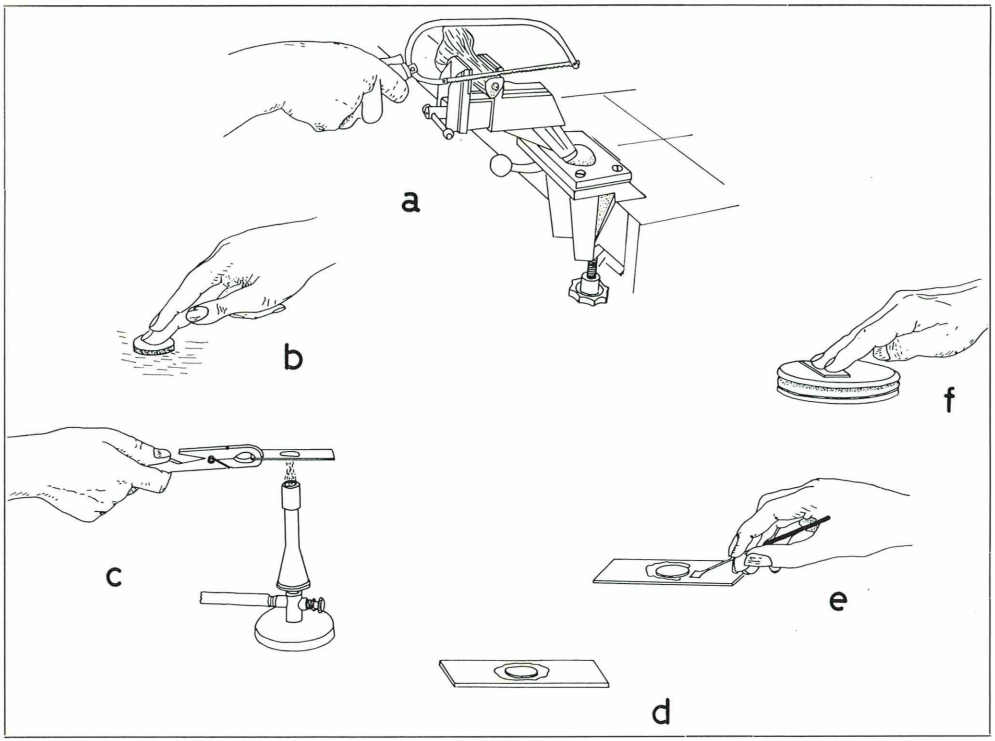
Wenn nach 24—48 Std. das MMA erhärtet ist, werden die Proben je nach Größe einzeln oder zu mehreren aufgelegt und mit MMA übergossen. Um die in den Porenräumen vorhandene Luft zu entfernen und die Objekte vollständig mit MMA zu durchtränken, werden die Einbettungsgefäße kurz in einem evakuierten Exsikkator aufbewahrt. Die Polymerisation erfolgt bei 40 °C im Thermostaten. Diese Temperatur darf nicht überschritten werden, weil sich sonst leicht Blasen bilden.

Trotz längerer Verweildauer im Exsikkator kommt es gelegentlich vor, daß die Objekte beim Polymerisieren an die Oberfläche treiben. Man sollte die Einbettungsschalen deshalb gelegentlich daraufhin überprüfen und die Objekte notfalls mit einer Nadel wieder nach unten drücken. Um die Bildung von Gasblasen und innere Zerreißungen der Objekte zu vermeiden, ist ein Vorpolymerisieren des MMA oft von Vorteil (Ruthmann, 1966).

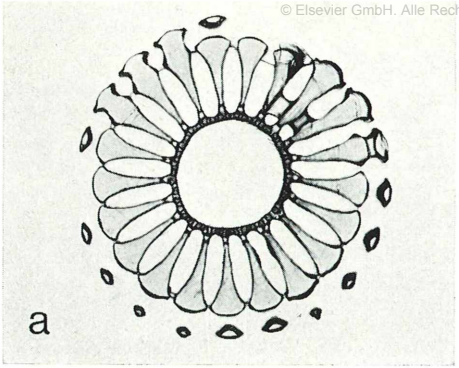
Bild 6: Schematische Darstellung der einzelnen Arbeitsphasen zur Herstellung eines Knochendünnschliffes.

Herstellung von Dünnschliffen

Zur Herstellung eines Schliffes schneidet man zunächst mit der Laubsäge unter Wasserzufuhr dünne Scheiben des Untersuchungsobjektes ab (Bild 6 a). Bei in MMA eingebetteten Proben sollte man sich vor dem Zersägen des Blockes einen Überblick über die genaue Objektlage unter dem Binokular verschaffen. Nicht eingebettete Hartgewebe, wie z. B. Knochen (vorher mit Benzin oder Trichloräthylen entfetten) oder Zähne, werden zur besseren Handhabung



© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten. www.elsevier.de



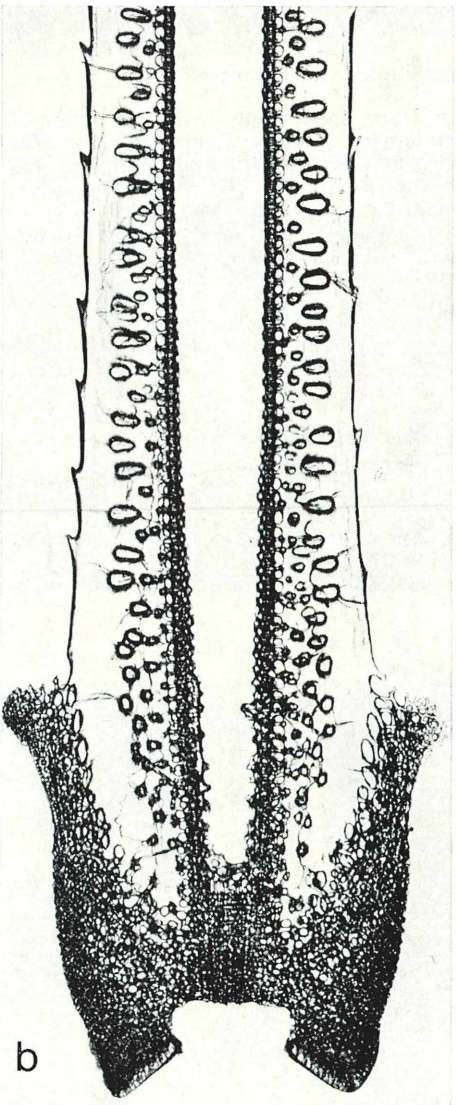


Bild 7: Hohlstachel des Diademseeigels (*Diadema antillarum*), Stacheldurchmesser 500 µm; a. Querschliff durch den Stachelschaft; b. Längsschliff durch den unteren Teil des Schaftes und den Stachelkopf. Erst die Verbindung von Quer- und Längsschliff vermittelt einen Eindruck vom Aufbau des Stachels.

vor dem Zersägen in einen Schraubstock eingespannt.

Das Vorschleifen der Scheiben wird mit der Hand auf wasserfestem Schmirgelpapier mit den Kornfeinheiten Nr. 280, 320, 400 und 600 vorgenommen. Das Schleifpapier sollte dabei ständig mit einigen Tropfen Wasser befeuchtet werden (Bild 6 b). Nach dem Glattschleifen einer Scheibenfläche wird der Schleifstaub durch gründliches Abspülen unter fließendem Wasser entfernt und der Anschliff kurz im Wärmeschrank getrocknet. Die Probe wird dann mit der geschliffenen Fläche nach unten mit einem erhitzten, rasch erstarrenden Kunstharz (z. B. Rhenohistol; Merck, Darmstadt) auf einen Objektträger geklebt.

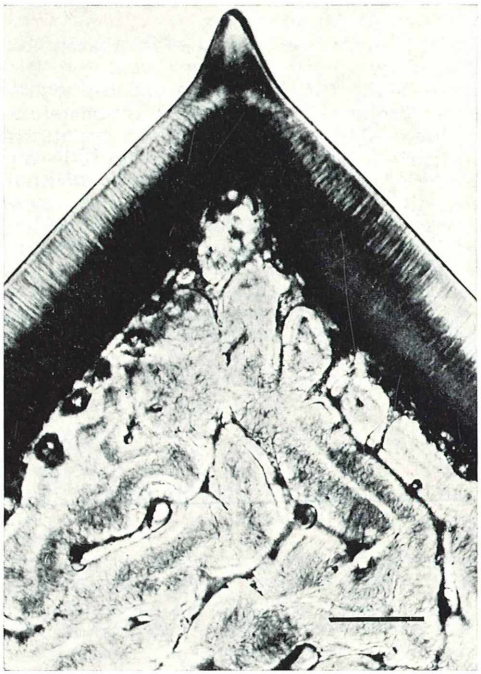


Bild 8: Gebißzahn des Haifisches *Lamna* spec. Ausschnitt aus einem Querschliff durch das Trabeculardentin (innen) und das Orthodentin (außen) im Bereich der Zahnschneide (oben). Maßstab: 200 µm.

Dazu bringt man vorher einige Tropfen des Einschlußmittels auf einen sauberen (!) Objektträger und hält diesen solange über die Flamme eines Bunsenbrenners, bis sich das im Kunstharz enthaltene Lösungsmittel (Toluol, Xylol) vollständig verflüchtigt hat und sich das übrigbleibende Harz nach Abkühlung mit einer Nadel ritzen läßt (Bild

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

6 c). Durch ein erneutes Erwärmen kann die Probe nun unter leichtem Druck aufgeschmolzen werden (Bild 6 d). Vorsicht: Durch zu starkes Erhitzen und zu schnelles Aufkleben bilden sich leicht Blasen! Ist die Verbindung zwischen Block und Glas genügend fest, beginnt man mit dem Schleifen der freien Oberfläche. Hierbei ist darauf zu achten, daß die Oberfläche des Objektträgers zur besseren Haftung der Finger stets trocken ist. Sobald das Objekt nach Abspülen durchscheinend wird, muß besonders vorsichtig unter dauernder Kontrolle weitergeschliffen werden. Eine ständige Überprüfung der Schliffdicke unter dem Binokular ist ratsam. Der Schliff wird schließlich gründlich unter fließendem Wasser von allen Schleifmittelrückständen gereinigt und im Wärmeschrank getrocknet.

Das eigentliche Feinschleifen wird nach dem hier beschriebenen Verfahren auf einer Polierscheibe, die mit Diamantpaste „Diaplast" (Fa. E. Winter & Sohn, Hamburg) jeweils mit einer Körnung von 1 und 0,25 µm beschickt ist, vorgenommen. Mit einer Lanzettnadel sollte man vorher alles überflüssige Harz um den Schliff herum vorsichtig abkratzen, da sich die Diamantkörner leicht im Harz festsetzen und beim späteren Eindecken die Gefahr besteht, daß der Schliff mit Diamantkörnern überschwemmt wird (Bild 6 e). Wichtig ist, die Präparate nach jedem Arbeitsgang gut zu reinigen und zu trocknen. Das abschließende Polieren erfolgt auf einer Polierscheibe, die mit einem weichen Filztuch bespannt ist (Bild 6 f).

Der fertige Schliff wird frei von Luftblasen ebenfalls mit Kunstharz abgedeckt und einige Tage bis Wochen im Wärmeschrank getrocknet.

Zum Schluß noch ein Hinweis. Bei der Herstellung von Dauerpräparaten ist normalerweise eine Bearbeitung der Objekte mit Schmirgelpapier verschiedener Korngrößen völlig ausreichend. Die meisten Abbildungen in dieser Arbeit stammen von solchen Schliffen. Die Verwendung der leider recht teuren Diamantpaste ist nur dann anzuraten, wenn man besonders aussagekräftige Präparate erhalten möchte oder sich vorwiegend mit der Untersuchung von Hartgeweben beschäftigt.

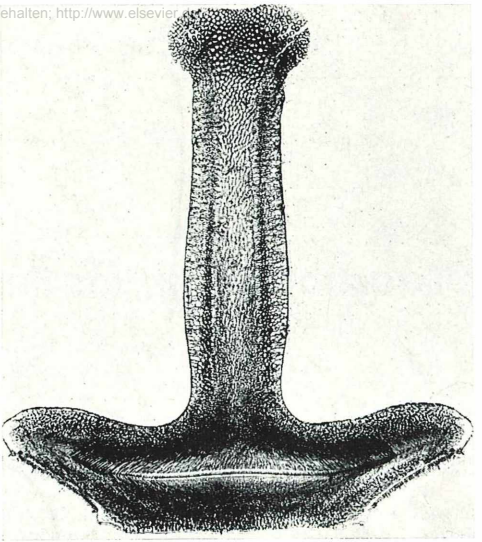


Bild 9: Querschliff durch einen Seeigelzahn *(Sphaerechinus granularis)*. Zahnhöhe: 2 mm.

Literaturhinweis:

Ruthmann, A.: Methoden der Zellforschung. Kosmos, Stuttgart 1966.

Verfasser: Bruno Mischor, Auf dem Aspei 50, 4630 Bochum-Querenburg.

Kallose-Färbung mit Ponceau S für Dauerpräparate von pflanzlichem Material

Kallose, das Polysaccharid β-1,3-D-Glucan, wird von Pflanzenzellen in verstärktem Maß nach mechanischen oder chemischen Schädigungen oder nach Virusinfektionen gebildet. Es wird angenommen, daß ihre Schutzwirkung auf dem Verschließen der verletzten Gewebe und der Plasmodesmen im Bereich von Poren- und Siebplattenbereichen beruht. Klassische Färbungen für Kallose verwenden Resorcinblau und Anilinblau, wobei letzteres bei Betrachtung der Präparate im Fluoreszenzmikroskop auch geringe Kallosemengen sichtbar macht. Kallose läßt sich außerdem mit Corallin, Azurin und Benzazurin anfärben. Zur Darstellung von Kallose in Paraffinschnitten ist Ponceau S besonders geeignet. Dazu wird frisches Material (die Verfasser verwendeten Sproßstücke von gesunden und von virusinfizierten Tabak- (*Nicotiana glauca* Grah.) und Tomatenpflanzen (*Lycopersicum esculentum* Mill.) und Kartoffelknollen) in Carnoy (=60 ml 100%iges Äthanol, 30 ml Chloroform, 10 ml Eisessig) 30 Minuten lang fixiert, 15 Minuten in 100%igem Äthanol gewaschen und 24 Stunden in Navashins Gemisch (= 15 ml 1%ige wäßrige Chromsäure, 4 ml 40%iges Formalin, 1,5 ml Eisessig) weiterfixiert. Dann wird 12 Stunden gründlich mit Wasser gespült, über die aufsteigende Alkoholreihe in Paraffin eingebettet, geschnitten, und die Schnitte werden wie üblich auf Objektträgern aufgezogen. Nach dem Entparaffinieren kommen sie über die absteigende Alkoholreihe für 2—4 Minuten in die Ponceau S-Färbelösung (bestehend aus 100 ml 50%igem Äthanol, 5 ml Eisessig, 0,3 g Phosphormolybdänsäure, 1 g Ponceau S (Michrome 725, Gurr Ltd., London). Nach Spülen mit 50%igem Äthanol wird in einer 1%igen wäßrigen Lichtgrün FS-Lösung (Michrome Nr. 240, Gurr Ltd., London) 10 Minuten gegengefärbt, wieder mit 50%igem Äthanol gespült, über die aufsteigende Alkoholreihe entwässert, in Xylol aufgehellt und mit einem Methylmethacrylat-Einschlußmedium (Solacryl, Synthesia Kolin, Tschechoslowakei) eingedeckt. Ergebnis: Die Kallose erscheint bei gesundem und bei virusinfiziertem Pflanzenmaterial deutlich rot und wesentlich intensiver als mit Resorcinblau gefärbt.

Ulrichová, M., Petru, E. and Z. Pazourková: Permanent staining of callose in plant material by ponceau S. Stain Technol. **51**, 272—275 (1976).

Alexander Pareto

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

Helmut Thaler

Mikrosublimation von Farbstoffen I

Über das Verfahren der Mikrosublimation ist in früheren Jahrgängen dieser Zeitschrift gelegentlich berichtet worden. In der Regel wurde dabei Tee als Versuchssubstanz gewählt, aus dem sich Coffein sehr bequem schon bei 100 °C absublimieren läßt, wie das zuletzt von A. Mandl (1974) beschrieben wurde. Hin und wieder finden sich Hinweise, daß auch andere Drogen oder reine organische Stoffe, wie Benzoesäure, Salicylsäure, Naphthalin usw. für solche Versuche geeignet sind. Für denjenigen, der sich vielleicht gerne ein wenig eingehender mit diesem Verfahren befaßt hätte, mangelt es aber eigentlich an Abwechslung. Im folgenden sollen nun einige Hinweise gegeben werden, wie sich solche Versuche reizvoller gestalten lassen.

Die Zahl sublimierbarer organischer Verbindungen ist sehr groß. Zu ihnen gehören viele Farbstoffe, die auch in der mikroskopischen Technik verwendet werden. Vor allem sind es Azo-, Indanthren- und Anthrachinonfarbstoffe, vorausgesetzt, daß sie nicht sulfoniert sind, also keine $-SO_3H$-Gruppe tragen oder Natrium-, Kalium-, Calciumsalze solcher Sulfosäuren sind. Andere Substituenten wie Halogen, Nitro-, Hydroxyl- und Aminogruppen beeinträchtigen die Sublimierbarkeit nicht. Farbstoffe, die nicht sulfoniert sind, werden in der mikroskopischen Technik gerne zur Darstellung von Fetttropfen in tierischem oder pflanzlichem Gewebe verwendet und sind in vielen Farben, rot, orange, gelb, grün usw. erhältlich.

Bei Untersuchungen, die in den Jahren 1949 bis 1951 über den Nachweis einer künstlichen Färbung von Fetten durchgeführt worden waren, wurde versucht, die säulenchromatographisch getrennten Farbstoffe besser zu identifizieren. Dabei zog man auch die Mikrosublimation heran. Diese letzteren Versuche wurden dann aber aus verschiedenen Gründen nicht weiter verfolgt. Es sei auch hier gleich bemerkt, daß eine einwandfreie Identifizierung solcher Substanzen allein durch Mikrosublimation wohl nur in den seltensten Fällen möglich ist. Dazu müßten wenigstens noch chemische Reaktionen, etwa durch Antüpfeln des Sublimats mit entsprechenden Reagentien (Säuren, Lauge usw.) herangezogen werden. Außerdem würde man heute von dem in einem passenden Lösungsmittel gelösten sublimierten Farbstoff Absorptionsspektrogramme im Ultraviolett, im Bereich des sichtbaren Lichts sowie im Infrarot oder mit der von der Unterlage abgekratzten Substanz ein Massenspektro-

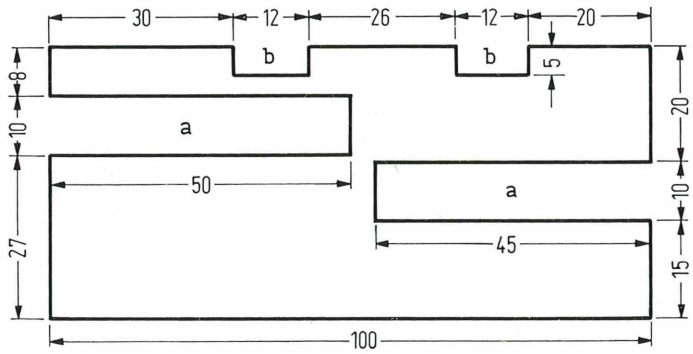
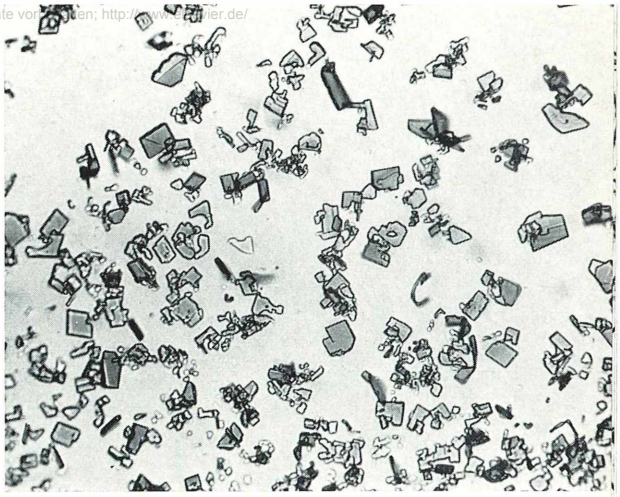


Bild 1: Metallblock, Längsschnitt. *a* Bohrungen für Thermometer, *b* Einfräsungen zur Aufnahme der Substanzen. Zahlenangaben in mm.

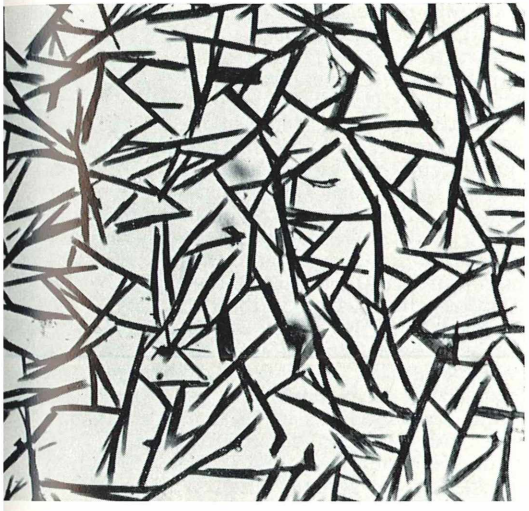
Bild 2: Oil Yellow OB, 160 °C, in Luft, Obj. 63×, orangegelb.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at



gramm aufnehmen. Das Verfahren der Mikrosublimation ist also eigentlich eine Isolierungsmethode, allerdings eine sehr empfindliche. R. Kempf (1923) zeigte seinerzeit, daß noch 1 µg (1 µg = 0,001 mg) Indigo auf diese Weise nachgewiesen werden kann.

Die Technik der Mikrosublimation, wie sie gewöhnlich beschrieben wird, ist recht einfach. Das übliche Verfahren, das Untersuchungsmaterial auf ein Uhrglas zu bringen, einen Objektträger darüber zu legen und nun vorsichtig von unten zu erhitzen, erwies sich bei den erwähnten Versuchen mit Fettfarbstoffen als zu primitiv. A. Kutzelnigg hatte 1949 einen Block aus Kupfer oder Aluminium in den Ausmaßen 45×45 ×100 mm benützt, der seitlich eine Bohrung zur Aufnahme eines Thermometers besaß



und so eine geregelte Wärmezufuhr und einigermaßen genaue Temperaturmessung erlaubte. Das Untersuchungsmaterial kam auf die Oberseite des Blocks, ein Objektträger wurde unmittelbar darauf gelegt. Bei unseren Versuchen erwies es sich als praktisch, in den Aluminiumblock zwei Vertiefungen von 12 mm Durchmesser und 5 mm Tiefe einzufräsen, die zur Aufnahme der Untersuchungssubstanzen dienten sowie zwei Bohrungen für Thermometer an den Stirnflächen anzubringen. Das Sublimat wurde auf einem über die Vertiefungen gelegten Deckglas, das mittels eines Wassertropfens gekühlt war, aufgefangen (Bild 1).

Der Versuch vollzieht sich dann sehr einfach: Man bringt eine geringe Menge — etwa 0,5 mg — des Farbstoffs in eine der Vertiefungen, legt ein Deckglas darüber und setzt ein Thermometer in die entsprechende seitliche Bohrung des Blocks ein. Auf das Deckglas bringt man einen großen Tropfen destilliertes Wasser, der im Verlauf des Versuchs von Zeit zu Zeit ergänzt wird. Er soll aber auf keinen Fall völlig eintrocknen.

Dann wird der auf einem Dreifuß oder einem Stativring liegende Block mit dem

Bild 3: Sudan III, langsam sublimiert, 190—200 °C, in Luft, Obj. 10×, karminrot.

Bunsenbrenner langsam erhitzt. An dessen Stelle läßt sich natürlich ebensogut einer jener mit Flüssiggas arbeitenden Laborbrenner, notfalls sogar die Flamme des Gas-Küchenherdes oder eine elektrische Heizplatte verwenden. Dabei muß man aber den aus dem Block herausragenden Teil des Thermometers mit einer darunter gelegten dicken Asbestplatte schützen. Man



Bild 4: Sudanorange, 125 °C, in Luft, Obj. 10×, rotorange.

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

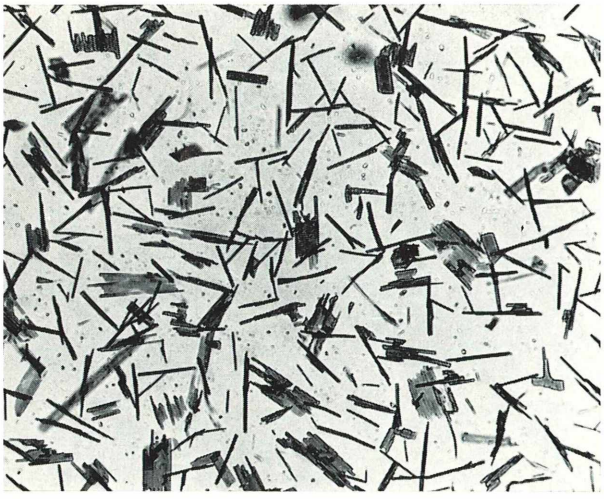


Bild 5: Orange SS, 130 °C, in Luft, Obj. 10×, orange.

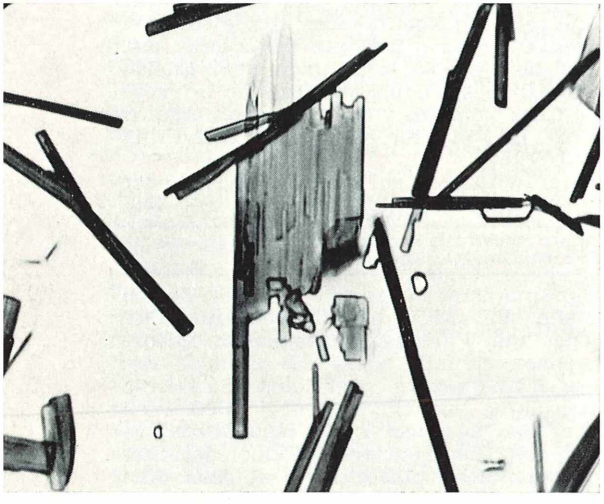


Bild 6: Orange SS, 130 °C, in Luft, Obj. 10×, orange.

beobachtet nun das Ansteigen der Temperatur. Ist jene erreicht, bei der die Substanz zu sublimieren beginnt, so schlägt sich das Sublimat an der Unterseite des Deckglases nieder, was deutlich zu erkennen ist. Von diesem Augenblick an sollte man nicht mehr oder doch nur noch sehr langsam weiter erhitzen. Nicht selten schmilzt ein Farbstoff, bevor sich ein Sublimat am Deckglas ansetzt. In diesem Falle kann man nicht mehr von „Sublimieren", d. h. vom Übergang aus dem festen Aggregatzustand in den dampfförmigen sprechen. Es handelt sich dann um ein „Verdampfen", ohne daß die Schmelze dabei zum Sieden zu kommen braucht. Nach zwei bis fünf Minuten hat sich in der Regel genügend Sublimat niedergeschlagen. Man nimmt das Deckglas mit der Pinzette ab, entfernt den Wassertropfen mit einem Tuch oder einem Stückchen Filtrierpapier und legt das Deckglas mit der Unterseite nach oben auf einen Objektträger, um den Erfolg unter dem Mikroskop zu betrachten. Da das Sublimat im allgemeinen ziemlich fest am Deckglas haftet, lassen sich Dauerpräparate herstellen. Die allermeisten sublimierbaren Farbstoffe sind in Wasser unlöslich, so daß der Einschluß in Glyceringelatine am einfachsten durchzuführen ist. Man bringt einen Tropfen dieses Einschlußmittels auf einen Objektträger, legt das Deckglas mit dem Farbstoffbelag darauf und erwärmt nochmal vorsichtig, falls die Glyceringelatine inzwischen fest geworden ist. Ebenso ist auch der Einschluß in Luft möglich. Dazu zieht man mittels einer Drehscheibe, wie man sie benützt, um Lackringe um runde Deckgläser zu ziehen, einen Wachsring auf einem Objektträger. Zum Auftragen dient eine dünne Wachskerze, die angezündet, einige Augenblicke brennen gelassen und wieder ausgeblasen wird. Der Docht mit dem flüssigen Wachs dient als Pinsel, mit dem man den Ring zieht. Am besten ist eine Kerze aus Bienenwachs, das längere Zeit flüssig bleibt. Kerzen, die nicht tropfen, lassen das Wachs nach dem Ausblasen sehr rasch erstarren und sind daher für unsere Zwecke nicht geeignet. Auf den erkalteten Ring wird das Deckglas mit dem Farbstoffbelag aufgelegt. Dann zieht man einen zweiten Wachsring um den Rand. Solche Präparate sind recht gut haltbar. Die Mikroaufnahmen dieses Artikels sind von Präparaten gemacht worden, die 1951 bis 1952 angefertigt wurden und 1961 einen Umzug von München nach Braunschweig mitmachen mußten. (Leider können die

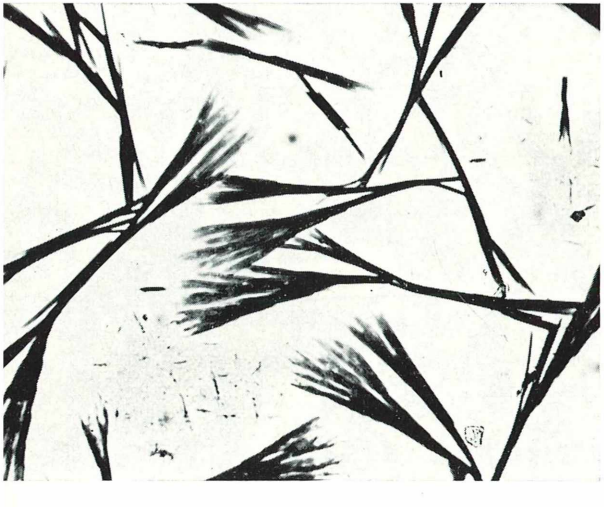


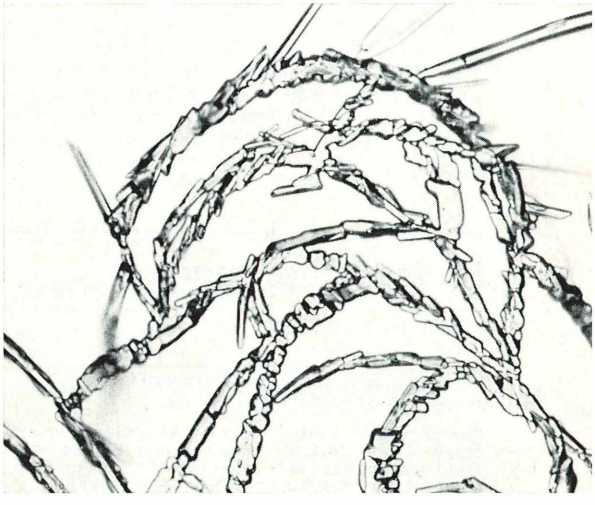
Bild 7: Sudan III, langsam sublimiert, 190—200 °C, in Luft, Obj. 10×, karminrot.

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

Bild 8: Sudangelb, 160 °C, in Luft, Obj. 10×, schwefelgelb.



Bild 9: Sudangelb, 160 °C, in Luft, Obj. 63×, schwefelgelb.



Schwarzweißaufnahmen die Farben der Sublimate nicht widergeben.) Zum Teil sind sie in Luft, zum Teil in Glyceringelatine eingeschlossen.

Am Deckglas setzt sich das Sublimat in Kristallen an, die sehr verschiedene Formen aufweisen können. Manchmal bekommt man Plättchen von rechteckigem oder annähernd quadratischem Umriß (Bild 2), ein andermal langgestreckte Nadeln (Bild 3). Die ersteren können sich aneinander legen und größere oder kleinere Felder mit deutlichen Grenzen der einzelnen Kristalle bilden (Bild 4). Nicht selten hat man auch den Eindruck, ein Teil der Substanz sei in Plättchen, der andere in Nadeln kristallisiert oder es seien überhaupt zwei



Bild 10: Sudan I, 115 °C, in Luft, Obj. 10×, gelbrot.

verschiedene Stoffe vorhanden (Bild 5). Bei näherer Betrachtung, vor allem bei stärkerer Vergrößerung erkennt man aber, daß es sich bei den „Nadeln" ebenfalls um Plättchen handelt, die nur nicht mit der Fläche, sondern mit einer Kante am Deckglas haften (Bild 6).

Häufig verwachsen Einzelkristalle auch, wie das bei Mineralien oft zu beobachten ist. Langgestreckte Plättchen oder Nadeln (Bild 3) legen sich zu einer Art von Fächer zusammen (Bild 7). Dadurch, daß die Flächen von Kristallen nicht im rechten Winkel aneinander stoßen, entstehen oft gekrümmte oder bogenförmige Ketten (Bild 8), die bei stärkerer Vergrößerung die Einzelkristalle erkennen lassen (Bild 9). Es können dabei sehr reizvolle Formen entstehen, wie das

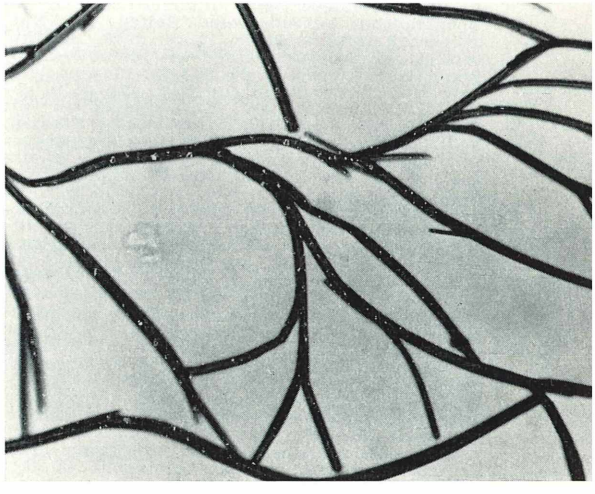


Bild 11: Sudan I, 115 °C, in Luft, Obj. 40×, gelbrot.

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

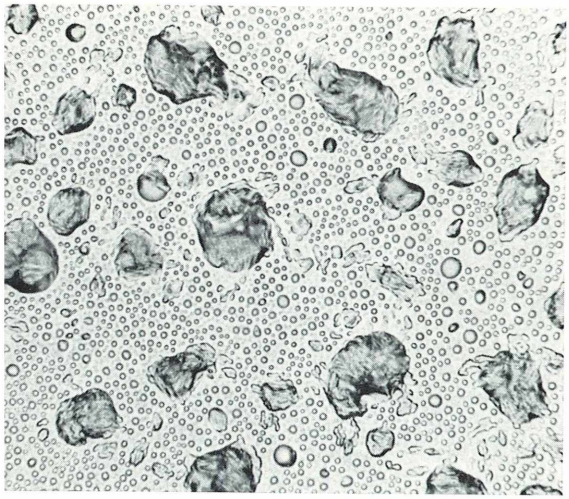


Bild 12: Oil Yellow OB, 145 °C, in Luft, Obj. 63×, orangegelb.

z. B. bei einem Versuch mit Sudan I eintrat (Bild 10 und 11).
Besitzt die Untersuchungssubstanz einen verhältnismäßig niedrigen Schmelzpunkt und eine wesentlich höhere Verdampfungstemperatur, so unterbleibt unter Umständen die Kristallisation am Deckglas, da seine Unterseite trotz der Kühlung durch den Wassertropfen wärmer als die Schmelztemperatur der Substanz sein kann. Man erhält dann an Stelle von Kristallen ein Kondensat mehr oder weniger großer Tröpfchen, die meist nur recht langsam kristallisieren. Bild 12 zeigt ein solches Kondensat des Farbstoffes Oil Yellow OB (Schmelzpunkt 104 °C, Verdampfungstemperatur bei diesem Versuch 145 °C), das 24 Stunden bei Zimmertemperatur lag. Es ist gut zu erkennen, daß die Tröpfchen nur zum Teil kristallisiert sind.

Literaturhinweise:

1. *Mandl, A.:* Mikrokosmos **63**, 306—310 (1974).
2. *Thaler, H.* und *Scheler, R.:* Zeitschr. Lebensmittel-Unters., -Forsch. **95**, 1—9 (1952).
3. *Kutzelnigg, A.:* Farben, Lacke, Anstrichstoffe Heft 7, 1—5 (1949).
4. *Kempf, R.:* Zeitschr. analyt. Chem. **62**, 284 (1923).

Verfasser: o. Professor em. Dr. H. Thaler, Eitelbrodstr. 3 a, D-3300 Braunschweig.

Kleine Mitteilungen

Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin zur Darstellung von Gliafasern

Bei der Suche nach einer Färbung, die einerseits Muskelgewebe und Kollagen verschieden darstellt und andererseits zwischen Myelin und Gliafasern unterscheidet, wurde folgendes Verfahren entwickelt: In gepuffertem Formol fixiertes und in Paraffin eingebettetes Untersuchungsmaterial (menschliches Nervengewebe, Ratten- und Katzenrückenmark) wird in 10 μm dicke Schnitte zerlegt; die Schnitte werden wie üblich auf Objektträgern aufgeklebt, für je 5 Minuten in zweimal gewechseltes Xylol und für 1 Minute in absolutes Äthanol gestellt. Nach Behandeln mit Ätheralkohol (Äthyläther: absolutes Äthanol, 1 : 1), 1 Minute lang, werden die Objektträger in 1%iges Celloidin in Ätheralkohol für 1 Minute gestellt, aus der Lösung herausgenommen und nach Abtropfenlassen an der Luft leicht getrocknet. In 70%igem Alkohol wird der Celloidinüberzug gehärtet, anschließend werden die Objektträger in mehrmals gewechseltem Leitungswasser und in H_2O dest. gespült. Oxidiert werden die Schnitte 15 Minuten in einer Kaliumpermanganatlösung, die auf je 100 ml H_2O dest. 0,3 g $KMnO_4$ und 0,1 ml H_2SO_4 konz. (=konz. Schwefelsäure) enthält. Diese Lösung muß jeweils vor Gebrauch frisch hergestellt werden. In mehrmals gewechseltem Leitungswasser wird so lange gespült, bis sich keine Farbe mehr aus den Schnitten löst. In 5%iger wäßriger Oxalsäure wird so lange reduziert, bis die Schnitte völlig farblos geworden sind. Die Oxalsäurelösung kann wiederholt verwendet werden. In mindestens dreimal gewechseltem Leitungswasser und in H_2O dest. wird gespült, dann werden die Objektträger für 2 Stunden in 4%ige wäßrige Eisenalaunlösung gestellt; auch diese Lösung kann mehrmals benutzt werden. In H_2O dest. wird 2- oder 3mal gespült und dann in Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin 2 Stunden gefärbt. [Herstellung der Farblösung: 0,1 g Hämatoxylin wird in ungefähr 80 ml H_2O dest. gelöst und 4,5 ml einer Natriumjodatlösung (1 mg $NaJO_3$ auf 1 ml H_2O dest.) werden hinzugefügt und die Mischung über Nacht in einen Thermostaten mit einer Temperatur von etwa 60 °C gestellt. Am folgenden Morgen wird 1 g Phosphorwolframsäure hinzugefügt und mit H_2O dest. auf 100 ml aufgefüllt. Nach 24 Stunden ist die Farblösung verwendbar; sie kann wiederholt benutzt werden und sollte vor Gebrauch immer filtriert werden.] In 95%igem Äthanol wird gespült und in zweimal gewechseltem, absolutem Äthanol entwässert. Nun werden die Objektträger für je eine Minute in zwei Stufen Xylol gestellt und die Schnitte mit einem der üblichen Kunstharze (z. B. Permount) eingeschlossen. Ergebnis: Gliafasern, Myofibrillen und Erythrocyten sind sehr kräftig blauschwarz gefärbt, Axone erscheinen im gleichen Farbton, aber schwächer gefärbt. Kollagen erscheint rot, die Zellkörper von Astrocyten sind schwächer rot gefärbt. Das Verfahren eignet sich besonders zur Untersuchung krankhafter Veränderungen des Nervensystems, normale Astrocyten unterscheiden sich in ihrem färberischen Verhalten nicht von ihren Fasern.

Clark, G. and J. M. Powers: A consistent phosphotungstic acid hematoxylin stain for glial fibers. Stain Technol. **51**, 227—229 (1976).

Alexander Pareto

II PO 342

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

E 20877 E

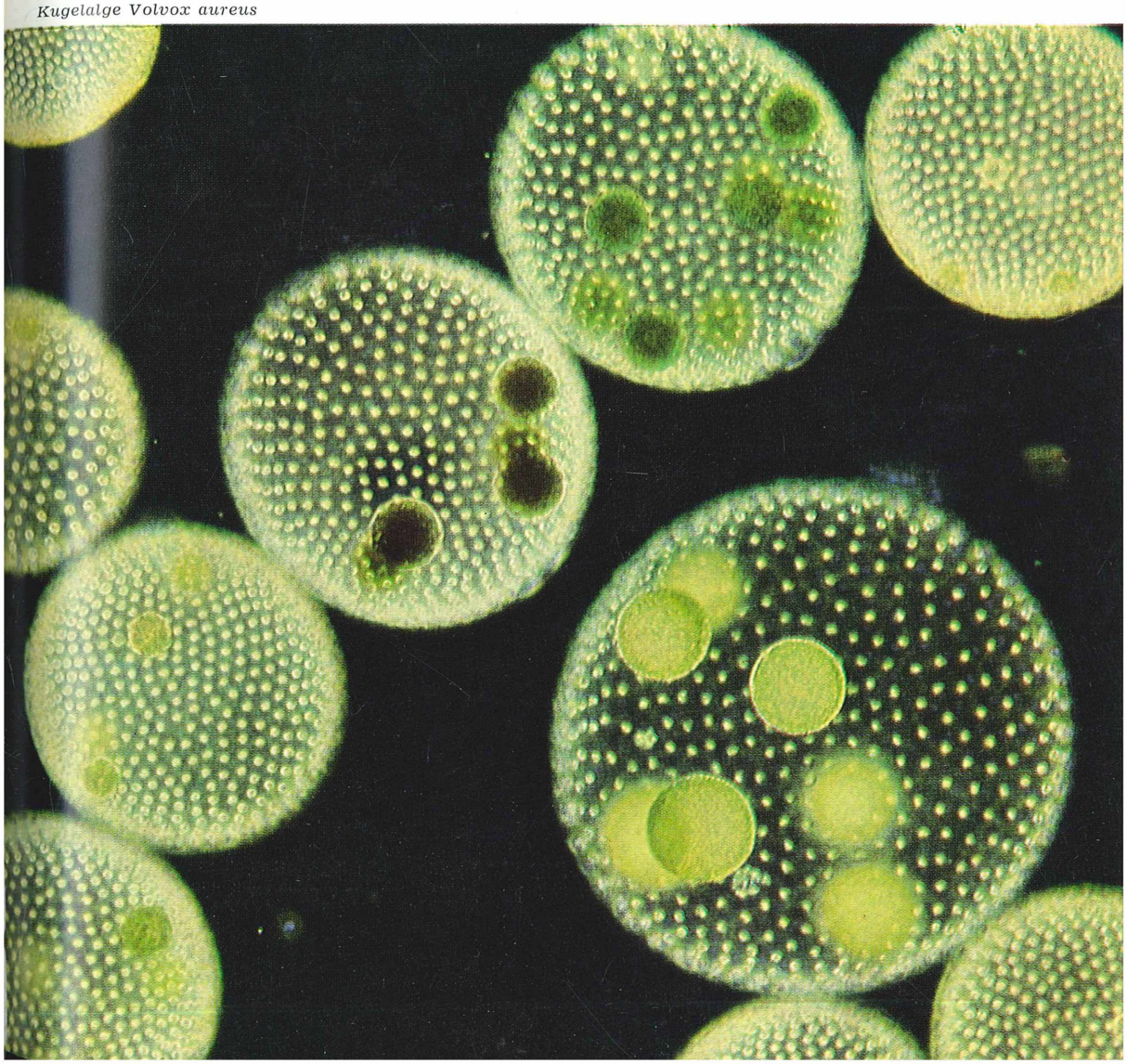
MIKROKOSMOS

66. Jahrgang · Heft 6/Juni 1977

Eine Zeitschrift aus dem Kosmos-Verlag

ISSN 0026-3680 66. 1977, Nr. 6, S. 163–196

Kugelalge Volvox aureus



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

MIKROKOSMOS

Zeitschrift für angewandte Mikroskopie, Mikrobiologie, Mikrochemie und mikroskopische Technik

Organ der Deutschen Mikrobiologischen Gesellschaft Stuttgart, der Mikrobiologischen Vereinigung Hamburg, der Mikrobiologischen Arbeitsgemeinschaft Mannheim, der Mikrobiologischen Vereinigung München, der Mikrographischen Gesellschaft Wien, der Mikroskopischen Gesellschaft Zürich.

Inhalt

Stockem, Prof. Dr. W. und Mitarbeiter: Nahrungsaufnahme beim Pantoffeltier Paramecium caudatum. Versuche zur Phagocytose und Cyclose. I. 163

Bukatsch, Prof. Dr. F. und Prof. Dr. J. **Jung:** Einheimische Hölzer: Mikroskopische Untersuchung. 4. Zerstreutporige Laubhölzer: Rotbuche, Pappel, Birke und Linde 169

Grebel, Prof. Dr. D.: Leichen in den Tierfallen des Wasserschlauchs 172

Hausmann, Dr. K.: Negativkontrastierung und Bedampfung. Präparationsmethoden für die Elektronenmikroskopie 175

Winke fürs Labor

Reinert, G. G.: Kaltlichtbeleuchtung in der Mikroskopie. Eine neuartige Durchlichtbeleuchtung 180

Biologie in der Schule

Roeser, K.-R.: Das Elektronentransportsystem der Chloroplasten. Mikroskopische Untersuchung 185

Zur Einführung in die Mikroskopie

Thaler, Prof. Dr. H.: Mikrosublimation von Farbstoffen 190

Unser Umschlagbild

Schneider, Prof. Dr. H.: Volvox aureus-Kolonien mit Tochterkugeln und Eizellen . 194

Kleine Mitteilungen 195

Umschlagbild: Kolonien der Kugelalge *Volvox aureus* mit Tochterkugeln und Eizellen. Elektronenblitzaufnahme auf Agfachrome Professionel-Film 50 S., Zeiss Planachromat 6,3×, KPL-Okular 8×. Aufnahme Prof. Dr. Heinz Schneider. Siehe auch S. 194.

Herausgeber: Dr. Dieter Krauter. Redaktion: Rainer Gerstle und Dr. Dieter Krauter, Stuttgart /

© 1977, Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart / Printed in Germany / Imprimé en Allemagne / Die in dieser Zeitschrift veröffentlichten Beiträge sind urheberrechtlich geschützt. Übersetzung, Nachdruck — auch von Abbildungen —, Vervielfältigung auf photomechanischem oder ähnlichem Wege oder im Magnettonverfahren, Vortrag, Funk- und Fernsehsendung sowie Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen — auch auszugsweise — bleiben vorbehalten. Von einzelnen Beiträgen oder Teilen von ihnen dürfen nur einzelne Exemplare für den persönlichen und sonstigen eigenen Gebrauch hergestellt werden. Jede im Bereich eines gewerblichen Unternehmens zulässig hergestellte oder benutzte Kopie dient gewerblichen Zwecken gem. § 54 (2) UrhG und verpflichtet zur Gebührenzahlung an die VG Wissenschaft GmbH, Frankfurt a. M. 1, Großer Hirschgraben 17/21, von der die einzelnen Zahlungsmodalitäten zu erfragen sind. Die Vervielfältigungsstücke sind mit einem genauen Quellenhinweis zu versehen /

Verantwortlich für den Anzeigenteil: Helge Ross, Stuttgart / Druck: Konrad Triltsch, Graph. Betrieb, Würzburg / Der „Mikrokosmos" erscheint monatlich, Bezugspreis (12 Hefte jährlich) DM 49,20 zuzügl. DM 3,80 Versand- oder Zustellgebühr, Sonderpreis für Schüler und Studenten jährlich DM 42,— zuzügl. DM 3,80 Versand- oder Zustellgebühr / Einzelhefte DM 5,40 zuzügl. Versand- oder Zustellgebühr / Das Abonnement ist jeweils, unter Einhaltung einer Frist von 6 Wochen, nur zum Jahresende kündbar.

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

W. Stockem und Mitarbeiter *

Nahrungsaufnahme beim Pantoffeltier Paramecium caudatum

Versuche zur Phagocytose und Cyclose I.

Bei tierischen Zellen ist die Endocytose als Nahrungsaufnahmemechanismus weit verbreitet. Das Prinzip der Endocytose besteht darin, Nahrung ohne Passieren der Membran in den Zelleib zu schleusen (Stockem 1973). Die Verdauung der Nahrung findet erst im Cytoplasma statt. Freilebende Protozoen haben sich durch ihre Lebensweise besonders stark auf diesen Aufnahmemechanismus spezialisiert und sind deshalb gut geeignet, solche Phänomene zu studieren (vgl. auch Haberey und Stockem 1971). Hier sollen Versuche zur Phagocytose (Aufnahme fester Nahrung) an *Paramecium caudatum* beschrieben werden, obschon von den freilebenden Ciliaten zur Durchführung quantitativer Untersuchungen meistens die besser kultivierbare Art *Tetrahymena pyriformis* bevorzugt wird (Nilsson 1972, Rasmussen 1976). Die Nachteile einer bisher nicht gelungenen langfristigen Zucht unter kontrollierbaren Bedingungen werden aber dadurch ausgeglichen, daß *P. caudatum* wegen seiner Größe bessere Voraussetzungen für eine lichtmikroskopische Beobachtung mitbringt. Durch eine im zellphysiologischen Sinne stabilisierende Vorbehandlung in einer verträglichen Ionenlösung ergibt sich außerdem die Möglichkeit, auch bei *P. caudatum* halbquantitative Untersuchungen durchzuführen.

Die beschriebenen Experimente sind seit vielen Jahren Bestandteil eines Praktikums für Biologen im Hauptstudium; sie haben sich in dieser Form als weitgehend problemlos erwiesen.

Da die Versuche keinen großen finanziellen oder materiellen Aufwand erfordern und gut beobachtbare Ergebnisse liefern, könnten sie auch für den Schulunterricht von Interesse sein.

Allgemeine Morphologie des Stoffaufnahme- und Verdauungstraktes

P. caudatum gehört zur Klasse der Ciliata (Wimperntiere) und innerhalb dieser Klasse zur Ordnung der Holotricha, die allseitig bewimpert sind (Grell, 1968). *P. caudatum* hat eine gedrungen spindelförmige Gestalt (Bild 1) und — wie viele freilebende Ciliaten — ein stark spezialisiertes Mundorganell, das lichtmikroskopisch zu erkennen ist (Bild 1 a, Pfeil). Eine genaue Feinstrukturanalyse des Mundorganells ist jedoch nur elektronenmikroskopisch möglich (Bild 1 b und c, Pfeile). Das Mundorganell (Bild 2) besteht von außen nach innen aus Mundfeld (Peristom, Bild 2 a), Mundtrichter (Vestibulum, Bild 2 b), Zellmund (Cytostom, Bild 2 c) und Zellschlund (Cytopharynx, Bild 2 d). Das ventral gelegene Mundfeld ist eine flache Einwölbung, die sich von der Mitte der Zelle bis zu ihrer Spitze erstreckt (vgl. auch Bild 1 c). Der Mundtrichter und der Zellmund sind Bereiche des Mundorganells, die als Beginn des Zellschlundes bezeichnet werden können. Dieser zieht sich verjüngend in die Tiefe des Zelleibes hinein und endet dort blind in der sog. Empfangsvakuole (Bild 2 e). *P. caudatum* gehört zu den Strudlern; die Cilien im Bereich des Cytostoms und Cytopharynx sind gegenüber den anderen Körpercilien zu autonomer Schlagtätigkeit befähigt. Sie erzeugen einen Wasserstrom, der die Nahrung in den Cytopharynx hineintreibt. Die in den Cytopharynx gestrudelten Partikel lösen die Bildung der Empfangsvakuole aus, die bei einem bestimmten Füllungsgrad abgeschnürt wird. Die Empfangsvakuole ist damit zur Nahrungsvakuole (Bild 2 f) geworden. Auch unverdauliche Substanzen, wie Karminkristalle oder Tuschepartikel (Pseudonahrung), bewirken die Bildung von Nahrungsvakuolen. Die endocytotisch aufgenommenen Substanzen werden dem intrazellulären Verdauungssystem zugeführt. Diesem System liegt morphologisch der vakuoläre Apparat zugrunde, der aus vier verschiedenen Vakuolentypen besteht (vgl. Bild 3), und zwar aus:

Unter Anleitung von Prof. Dr. W. Stockem von E. Berghoff, W. Gawlitta, H. Jücker, B. Köster, D. Letschert und R. Meyer.

Aus dem Cytologischen Blockpraktikum des Instituts für Cytologie der Universität Bonn.

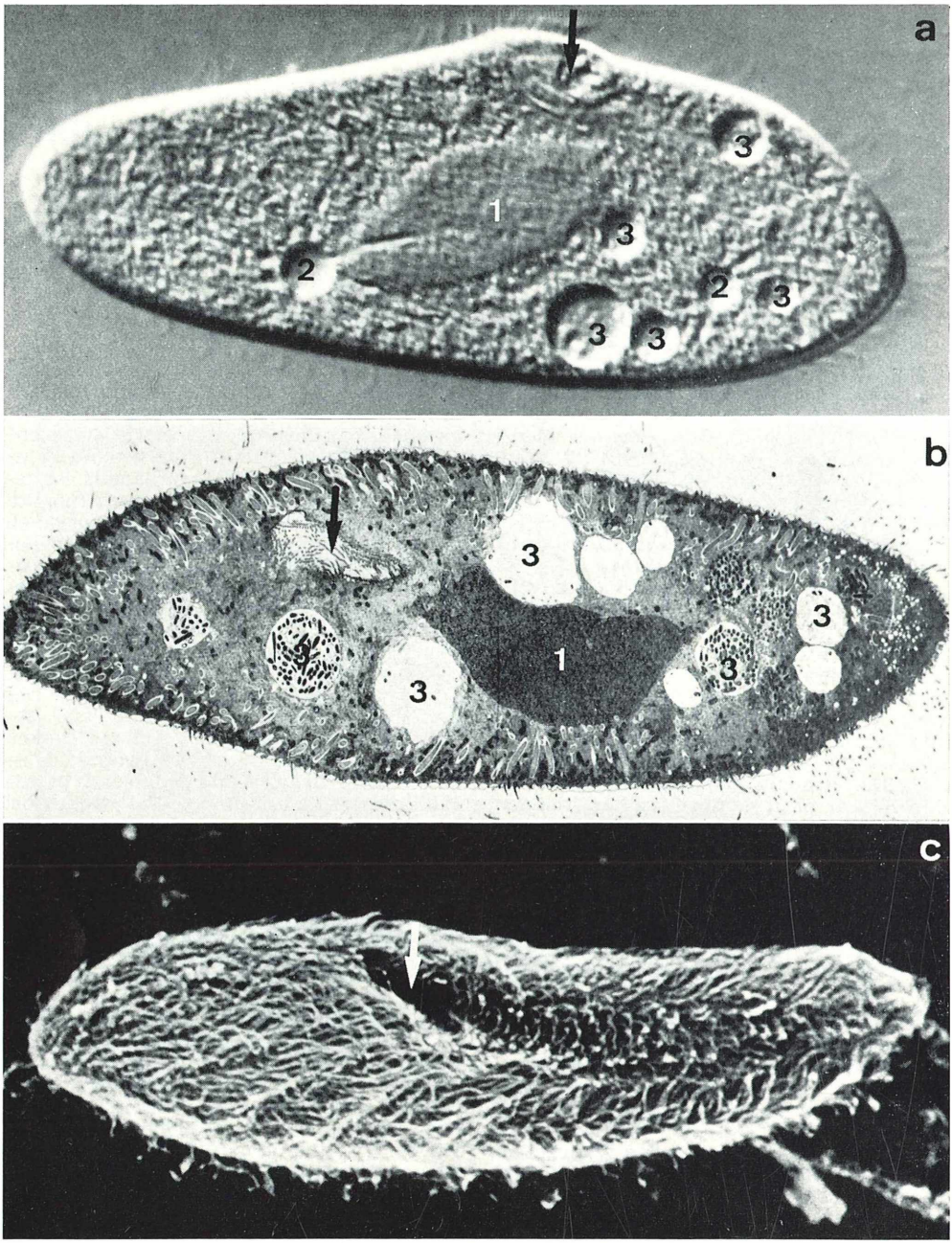


Bild 1: Totalansichten von *Paramecium caudatum*
a. Differential-Interferenz-Kontrast (nach W. Stockem 1973). Zellkern (1), kontraktile Vakuolen (2), Nahrungsvakuolen (3).
b. Elektronenmikroskopisches Schnittpräparat (nach W. Stockem und K. E. Wohlfarth-Bottermann, unveröffentl.). Zellkern (1), Nahrungsvakuolen (3).
c. Rasterelektronenmikroskopisches Bild (nach D. v. Kortzfleisch). Die Pfeile weisen auf das Cytostom hin. Vergr.: a—c 2500 : 1.

1. *Nahrungsvakuolen* (Bild 3 b, Stadium 1 und 2) —
sie beinhalten nur extrazelluläre Substanzen, die im Innern der Vakuole aggregieren,
2. *Verdauungsvakuolen* (Bild 3 b, Stadium 3—6) —
sie sind das Verschmelzungsprodukt aus primären Lysosomen (kleine Sekretvesi-

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

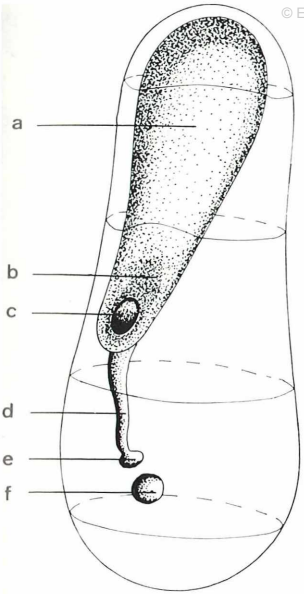
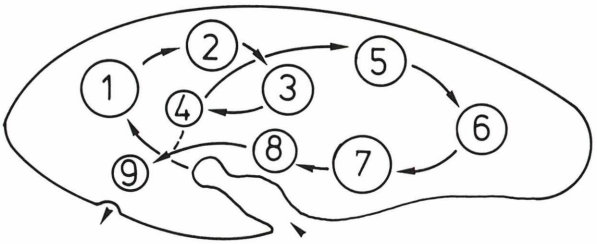


Bild 2: Schematische Darstellung des Mundorganells.
a Mundfeld,
b Mundtrichter,
c Zellmund,
d Zellschlund,
e Empfangsvakuole,
f Nahrungsvakuole
(verändert nach R. Wichtermann 1953).

kel mit Verdauungsenzymen) und Nahrungsvakuolen (Stadium 3). Die Nahrung wird hydrolytisch in verwertbare Stoffe und unverdauliche Reste gespalten (Std. 4—6),

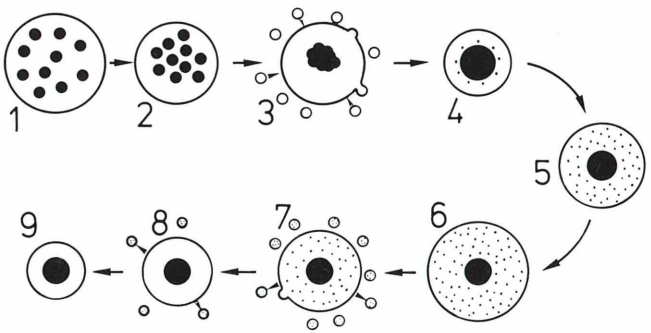
3. *Resorptionsvakuolen* (Bild 3 b, Stadium 7 und 8) —
sie geben die verwertbaren Abbauprodukte durch Abschnürung kleiner Vesikel ins Cytoplasma ab und
4. *Defäkationsvakuolen* (Bild 3 b, Stadium 9) —
ihr Inhalt besteht nur noch aus unverdaulichen Resten, die durch Exocytose ausgeschieden werden.

Die Verdauung, der Transport und die Ausscheidung von endocytotisch aufgenommenen Nahrungspartikeln wird als Cyclose bezeichnet (Bild 3 a). Bei *P. caudatum* ist die Cyclose an einen mehr oder weniger festen Weg durch das Cytoplasma gebunden. Die Aufnahme erfolgt immer mit Hilfe des Mundorganells, die Abgabe immer durch den Cytoproct (Zellafter). Verdauliche Nahrungspartikel durchlaufen alle oben beschriebenen Vakuolentypen von Stadium



a

1-4,9 : kleine Cyclose
1 - 9 : große Cyclose



b

intrazelluläres Schicksal der Nahrungsvakuole bei PARAMECIUM :

1+2 : Nahrungsvakuole
3-6 : Verdauungsvakuole
7+8 : Resorptionsvakuole
9 : Defäkationsvakuole

Bild 3: Schematische Übersicht über die Cyclose (a) und Zusammensetzung des vakuolären Apparates (b) (nach R. Stremerling, unveröffentl.).

Alle Rechte vorbehalten http://www.elsevier.de/

1—9 (große Cyclose). Mit dem Farbindikator Kongorot läßt sich zeigen, daß die Verdauungsvakuolen zunächst alkalisch (rot), dann sauer (blau) und später wieder alkalisch (rot) reagieren. Je nach Wasserstoffionenkonzentration greifen verschiedene Verdauungsenzyme entsprechend ihrem pH-abhängigen Wirkungsoptimum die Nahrung in den Vakuolen hydrolytisch an. Ein wichtiges Leitenzym bei hoher H^+-Konzentration ist die saure Phosphatase. Sie spaltet von Phosphorsäureestern (Substrate) den Phosphorsäurerest unter Einlagerung von Wasser ab. Unverdauliche Partikel durchlaufen die kleine Cyclose (Bild 3 a, Stadien 1, 2, 3, 4, 9). Hierbei findet keine Verdauung oder Resorption statt. Die Vakuolen geben ihren Inhalt in praktisch unveränderter Form wieder ans Außenmedium ab. Der kürzere Weg der kleinen Cyclose im Schema (Bild 3 a) soll die kürzere Verweilzeit der Vakuolen im Cytoplasma andeuten und besagt nicht, daß sich die Vakuolen auf einem anderen Weg durch die Zelle bewegen.

Material und Methoden

1. Zucht der Paramecien

Folgende Zuchtmethode hat sich für *P. caudatum* als günstig erwiesen:

a. *P. caudatum:* aus einer bestehenden Kultur oder aus einem Waldtümpel

b. Kulturgefäße: Petrischalen, 10 cm ϕ, 6 cm hoch (geeignet sind alle ähnlichen Gefäße mit Deckel)

c. Kulturmedium: Stroh und Leitungswasser

d. Hilfsmittel: Glasfilter, Glaspipette, grobes Filterpapier.

Zur Gewinnung von Versuchstieren werden ca. 15 g Stroh zerschnitten (in 5—10 cm lange Stücke), in 1 l Leitungswasser 15 min lang gekocht und anschließend durch ein grobes Filter filtriert. Mit dem Filtrat füllt man die Kulturgefäße zur Hälfte und fügt wieder etwas von dem gekochten Stroh bei.

Das auf Zimmertemperatur abgekühlte Kulturmedium wird „beimpft", indem man mit einer sauberen Pipette einige Paramecien aus einer Kultur überpipettiert. Danach muß das Kulturgefäß abgedeckt und im Halbdunkel aufgestellt werden. Innerhalb von 1—2 Wochen erreichen die Paramecien unter diesen Bedingungen ihre größte Populationsdichte. Läßt man die Kulturen länger als 2 Wochen stehen, nimmt die Populationsdichte wieder ab. Es stellt sich ein dem Nahrungsangebot entsprechendes Gleichgewicht ein, das sich monatelang hält. Man verfügt hiermit über eine Dauerkultur. Die Pflege der Dauerkulturen beschränkt sich auf ein gelegentliches Umrühren der Kahmhaut und auf die Kontrolle, ob nicht Flüssigkeit zwischen Deckel und Unterteil der Petrischalen die Luftdiffusion erschwert.

Benötigt man für die Durchführung von Versuchen zahlreiche Paramecien, so stellt man Anreicherungskulturen her. Man füllt dazu die gesamte Kulturlösung einer Dauer-

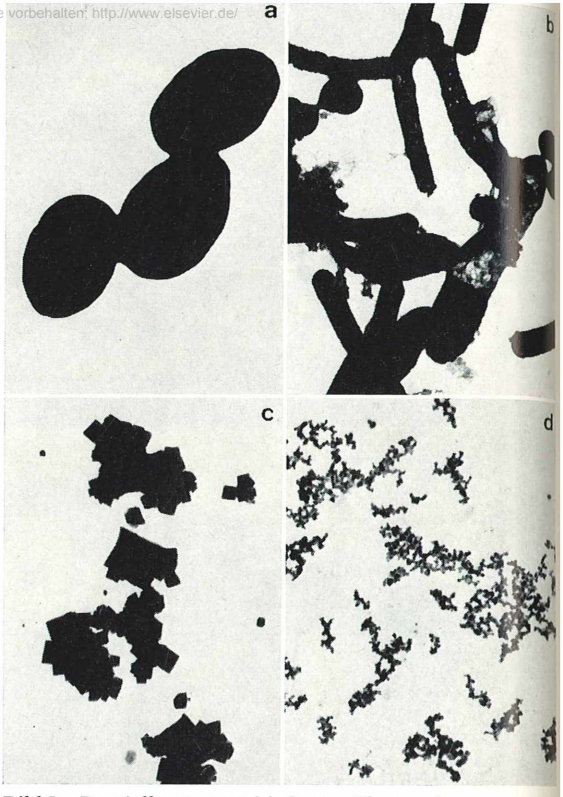
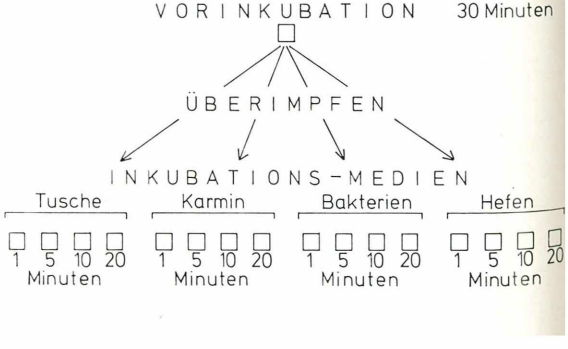


Bild 5: Darstellung verschiedener Phagocytosepartikel im EM-Suspensionspräparat. **a** Hefe, **b** Bakterien, **c** Karmin, **d** Tusche. Vergr.: a—c: 10 000 : 1; d: 20 000 : 1.

Bild 4: Vorschlag zur Versuchsdurchführung (nähere Beschreibung s. Text).



kultur mit den Paramecien (aber ohne Stroh) in einen Meßkolben mit dünnem Hals. Dem Sauerstoffgefälle entsprechend reichern sich die Paramecien im Hals des Meßkolbens an. Nach 12 Stunden befinden sich alle Tiere im oberen Drittel des Kolbenhalses.

2. Zucht der Bakterien

Etwas Stroh (faules Laub, faules Obst ist auch geeignet) wird in oben beschriebenen Petrischalen mit Leitungswasser übergossen und 3—4 Tage bei 30° C—35° C im Brutschrank oder bei Zimmertemperatur entsprechend länger aufbewahrt. Die stark bakterienhaltige Lösung kann man auch in verschraubbaren Plastikflaschen als Vorrat einfrieren. Bei Bedarf werden dann entsprechende Mengen aufgetaut.

3. Versuchsdurchführung (vgl. Bild 4)

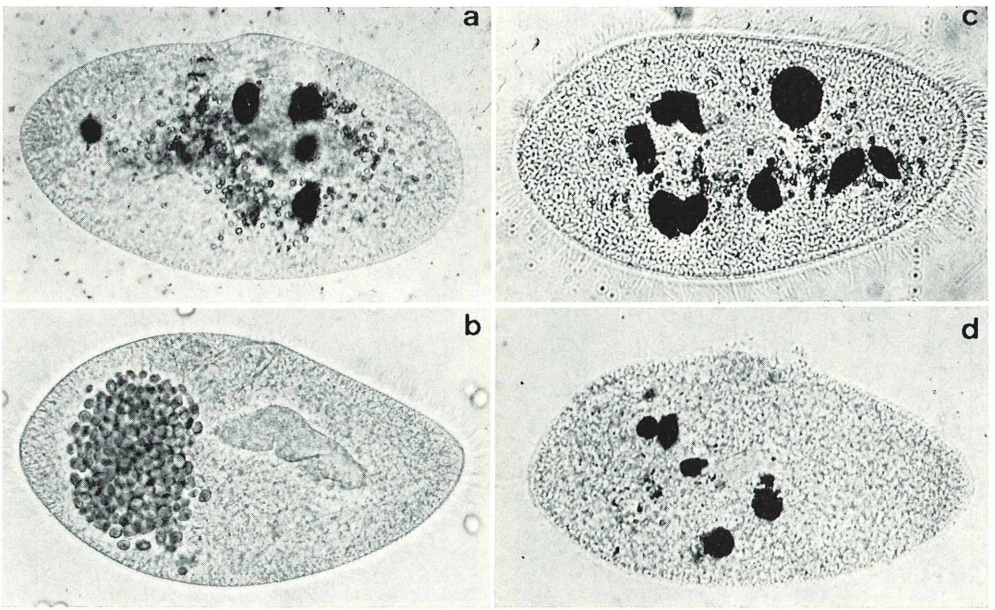
Alle Versuche werden in Block- oder Boverischälchen durchgeführt. Vor Versuchsbeginn werden die Paramecien von der Anreicherungskultur in Chalkley-Medium überimpft. Im Chalkley-Medium befinden sich folgende Salze: NaCl (Kochsalz), $NaHCO_3$ (Natriumhydrogenkarbonat), KCl (Kaliumchlorid), $CaCl_2$ (Calciumchlorid) und $Ca(H_2PO_4)_2$ (Calciumhydrogenphosphat). (Genaue Zusammensetzung siehe Mikrokosmos 1971, Heft 2, M. Haberey und W. Stockem.)
Als Phagocytosepartikel (Bild 5) dienen Suspensionen von Tusche (Mischungsverhältnis 1 : 300), Karmin (Mischungsverhältnis 4 mg auf 100 ml Lösung), Hefe (einfache Bäckerhefe) und Bakterien in Chalkley-Lösung.
Hefe und Bakterien werden mit dem Indikatorfarbstoff Kongorot gefärbt: Die Bakterien werden nach dem Auftauen in einer kleinen Laborzentrifuge 5 min abzentrifugiert und 30 min lang in einer Lösung von Kongorot in Aqua dest. (1 Spatelspitze auf 50 ml) bei 70—80° C gefärbt. Die Lösung darf auf keinen Fall kochen, da sonst der Indikatorfarbstoff unbrauchbar wird. Danach werden die gefärbten Zellen mehrmals in Leitungswasser gewaschen und zentrifugiert (der Überstand soll klar sein). Das Sediment wird aufbewahrt und in Chalkey-Medium resuspendiert. — Die Hefezellen werden nach dem gleichen Muster gefärbt.
Bei Lebendbeobachtung (Versuch 4: Farbumschlag in den Vakuolen) wird dem Kulturmedium zur Verlangsamung der Paramecienbewegung Tylose zugesetzt.
Zum Abtöten der Tiere dient 2,5%ige Glutaraldehyd-Lösung.

Versuche

Versuch 1

Ziel des Versuches ist die Bestimmung der Vakuolenbildungsrate bei Verfütterung von

Bild 6: Nahrungsvakuolen mit verschiedenen Substanzen in abgetöteten *P. caudatum*, **a** Bakterien, **b** Hefe, **c** Tusche, **d** Karmin. Vergr.: a bis d: 1700 : 1.



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

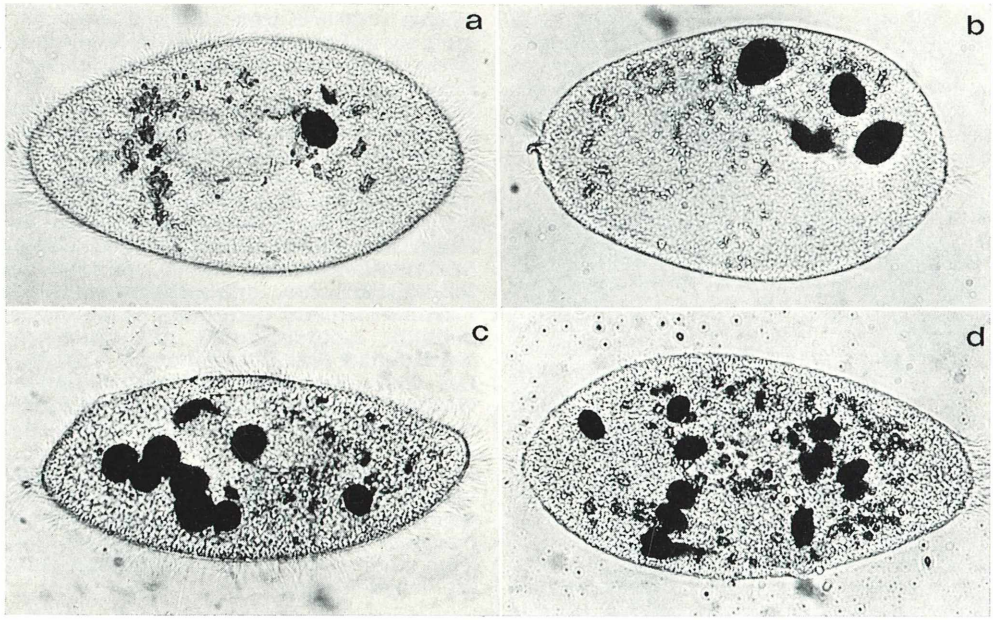


Bild 7: Anzahl der gebildeten Vakuolen bei Verfütterung von Tusche nach **a** 1 Min., **b** 5 Min., **c** 10 Min. und **d** 20 Min. in abgetöteten *P. caudatum*. Vergr.: a—d: ca. 1500 : 1.

verschiedenen Nahrungssubstanzen (Bild 7 und 8).

Methode: Die Paramecien werden aus der Anreicherungskultur entnommen, 30 Minuten in Chalkley-Medium vorinkubiert und dann in die eigentlichen Inkubationsmedien (Tusche, Karmin, gefärbte Hefe und Bakterien in Chalkley-Medium) übertragen. Nach 1, 5, 10 und 20 min tötet man die Tiere durch einige Tropfen Glutaraldehyd in den Blockschälchen ab. Aus jedem Ansatz müssen dann die Vakuolen von mindestens 10 Tieren unter dem Mikroskop ausgezählt werden.

Ein Vorschlag zur Versuchsdurchfühung ist in Bild 4 dargestellt.

Ergebnis: Während der ersten 10 Minuten des Versuches ergaben sich keine Unterschiede in der Aufnahmerate. Erst danach bildeten die Zellen mehr Karmin- und Tusche- als Bakterienvakuolen (Bild 8). Dieses Ergebnis könnte auf Unterschiede in der physiko-chemischen Oberflächenbeschaffenheit der einzelnen Partikel und

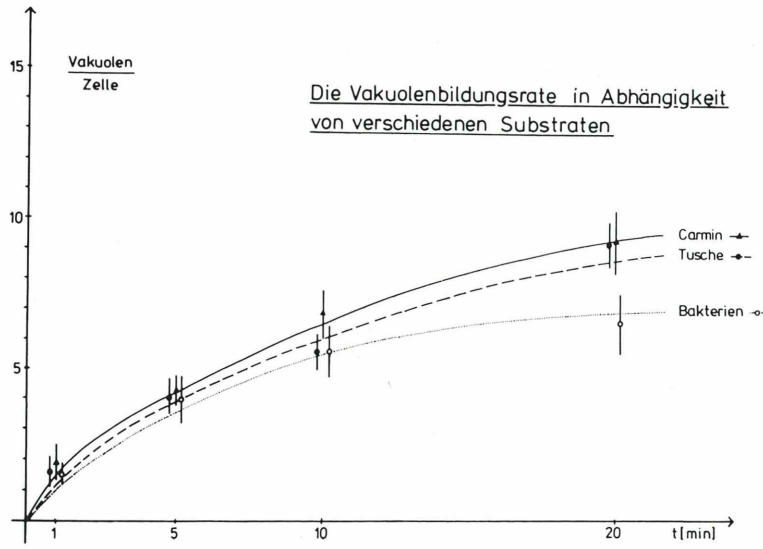


Bild 8: Vakuolenbildungsrate.

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

einem hieraus resultierenden, verschieden starken Endocytosereiz zurückzuführen sein. Die Aufnahme von Hefe wurde in dem Diagramm nicht dargestellt, da die Hefevakuolen erheblich größer als die Tusche-, Karmin- und Bakterienvakuolen waren (Bild 6). Ein einfacher Vergleich der Vakuolenzahl hätte deshalb zu einer Fehlinterpretation der aufgenommenen Nahrungsmenge geführt. Allerdings können auch mehrere kleinere Hefevakuolen gebildet werden, wie die Erfahrungen aus anderen Blockkursen zeigen.

Im zweiten Teil werden vier weitere Versuche zur Nahrungsaufnahme bei *Paramecium caudatum* beschrieben.

Verfasser: E. Berghoff, W. Gawlitta, H. Jücker, B. Köster, D. Letschert und R. Meyer. Institut für Cytologie der Universität Bonn.

Franz Bukatsch
Josef Jung

Einheimische Hölzer: Mikroskopische Untersuchung

4. Zerstreutporige Laubhölzer: Rotbuche, Pappel, Birke und Linde

Das Spätholz der ringporigen Holzarten ähnelt dem Jahrringbild der zerstreutporigen Hölzer. Ihnen fehlt die typische Frühholzporenzone. Die Mehrzahl unserer heimischen Holzarten ist zerstreutporig. Durch ihre Anordnung bieten die Gefäße auch bei diesen gute Unterscheidungsmerkmale.

Wir haben aus vier Familien Vertreter der zerstreutporigen Hölzer ausgewählt, die von unterschiedlicher wirtschaftlicher Wichtigkeit sind.
Das Holz der Rotbuche *(Fagus silvatica)* gehört zu den heimischen Holzarten mit vielfältiger Verwendungsmöglichkeit. Es

Bild 1: Rotbuche quer; zahlreiche, dichtstehende Gefäße mit deutlichem Jahrringbau und verbreiterten Markstrahlen an den Jahrringgrenzen.

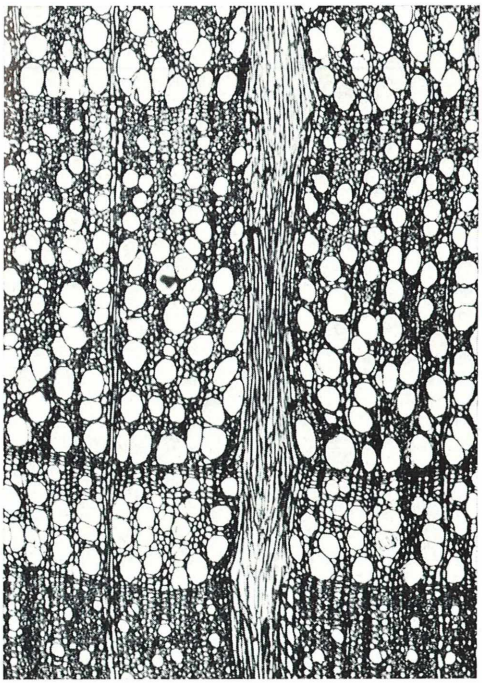
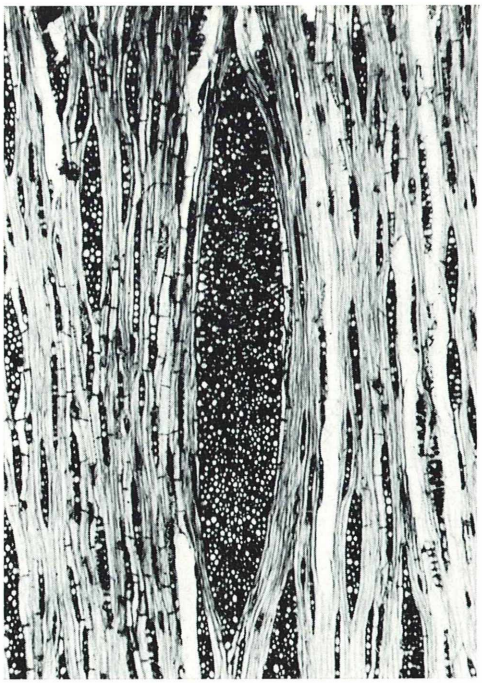


Bild 2: Rotbuche tangential; ein- und mehrreihige Markstrahlen.



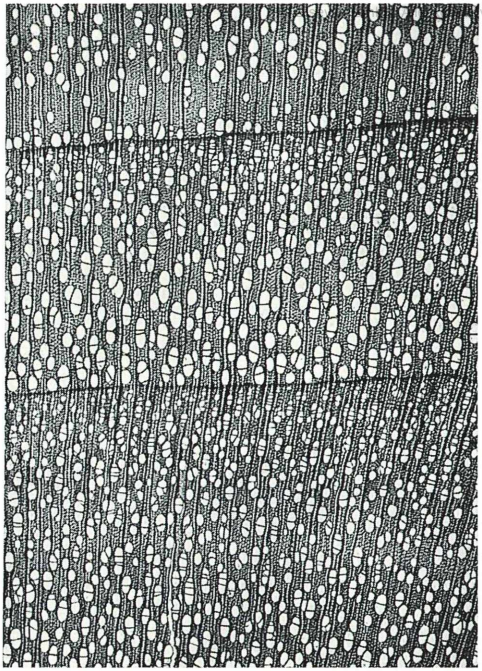


Bild 3: Silberpappel quer; durch dichteres Fasergewebe hervorgehobene Jahrringe.

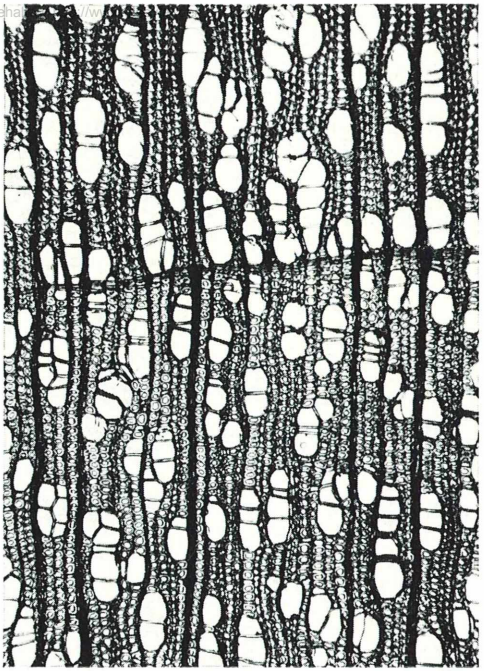


Bild 5: Birke quer; enge Gefäße, einzeln und in Gruppen. Deutlich sichtbarer Jahrringabschluß durch Spätholzfasern-Reihen.

Bild 4: Silberpappel tangential; einschichtige, makroskopisch nicht sichtbare Markstrahlen.



wird verwendet in der Sperrholzfabrikation, als Faser- und Papierholz, als Bau- und Konstruktionsholz. Außerdem wird es zu Holzgeräten verschiedener Art verarbeitet.

Im mikroskopischen Bild finden sich zahlreiche, dichtstehende Gefäße. Sie nehmen charakteristisch an Größe und Anzahl im Spätholz ab (Bild 1). Dadurch wird ein deutlicher Jahrringbau sichtbar. Zwischen den Fasern ist Parenchym reich verstreut. Die Markstrahlen treten in zwei Größen auf; als einreihige und in geringerer Häufigkeit bis zu 25reihige (Bild 2). Breite Markstrahlen zeigen an den Jahrringgrenzen auf Querschnittbildern eine auffallende Verbreiterung (Bild 1).

Buchenholz ist leicht rötlich-weiß gefärbt und normalerweise ohne Kernfärbung. Der Rotkern (Falsch- oder Pilzkern) wurde zunächst auf Verwundung und Pilzbefall zurückgeführt. Nach neueren Untersuchungen handelt es sich aber um eine physiologische Erscheinung; sie tritt ein, wenn durch zeitweiligen starken Entzug von Speicherwasser aus dem Holz Luftsauerstoff durch Trockenäste eingesaugt wird. Die Luftfüllung der Gefäße und der fortschreitende Wasserentzug führen zu Thyllenbildung und Absterbeerscheinungen unter oxidativer Verfärbung. Demnach ist Rotkernbildung keine pathologische, sondern eine Alterserscheinung.

Das Holz von Pappelarten ist geeignet für die Sperrholzherstellung, für Spankörbe, -schachteln und Streichhölzer. Auch in der Zellstoff- und Faserplattenindustrie findet es Verwendung.

Pappelarten sind von Weiden makroskopisch sehr schwer auseinanderzuhalten. Mikroskopische Unterscheidungsmerkmale beider sind die Markstrahlen. Während die der Weiden hochstehende, rechteckige Kantenzellen aufweisen (heterogene Markstrahlen), sind die der Pappelarten niederliegend, rechteckig (homogen). In allen anderen Strukturelementen ist der anatomische Bau des Holzes von Pappel und Weide völlig gleich.

Das mikroskopische Bild der Silberpappel *(Populus alba)* zeigt gut erkennbare Jahrringe, die durch dichteres Fasergewebe hervorgerufen werden (Bild 3), Markstrahlen sind fein und einschichtig (Bild 4). Strangparenchym findet sich nur spärlich.

Pappelholz ist leicht und weich. Das Holz unserer heimischen Pappelarten zeigt bei der Zitterpappel (Espe, Aspe; *Populus tremula*) eine Kernfärbung; der Kern der Schwarzpappel *(P. nigra)* ist hellbraun und Silberpappel-Kernholz *(P. alba)* rötlichgelb gefärbt.

Das Holz der Birke *(Betula verrucosa)* eignet sich für Schreinerarbeiten, besonders in der Möbelfabrikation; es wird aber auch für Innenausbauten, in der Schnitzerei und Drechslerei verwendet.

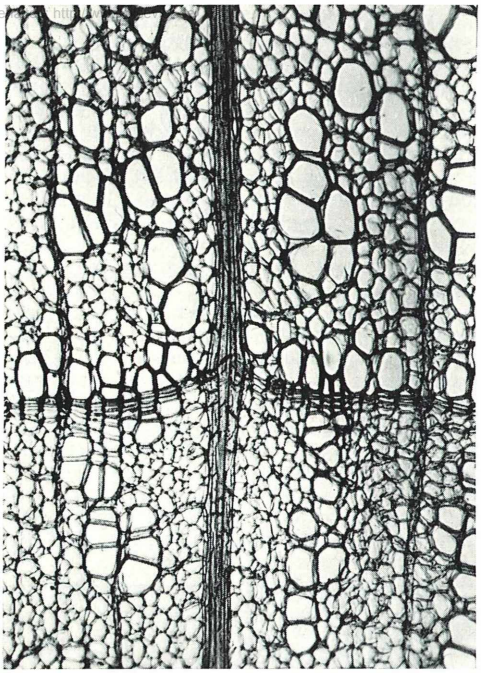


Bild 7: Winterlinde quer; Gefäße, die einzeln, in kurzen Reihen oder nesterweise vorkommen.

Bild 6: Birke tangential; verschieden hohe Markstrahlen mit dickwandigen, kleinen Zellen.

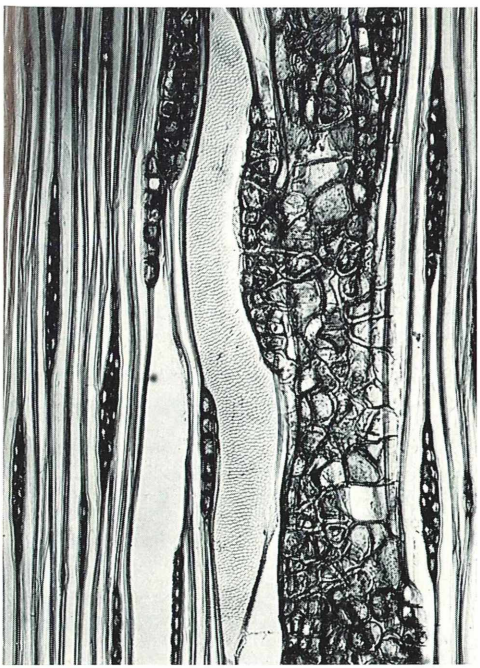


Bild 8: Winterlinde tangential; spiralig verdickte Gefäße und bis sechsreihige, verschieden hohe Markstrahlen.



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

Im mikroskopischen Bild zeigt Birkenholz enge Gefäße mit leiterförmigen Durchbrechungen, die sich einzeln und in radialen Gruppen bis zu vier finden. Der Jahrringabschluß wird von drei bis vier Reihen Spätholzfasern mit dicken Wandungen gebildet (Bild 5). Auch die ein- bis vierreihigen, verschieden hohen Markstrahlen zeigen auffallend dickwandige und kleine Zellen (Bild 6). Parenchym ist spärlich verstreut.
Birkenholz zeigt keine besondere Kernfärbung.
Lindenholz ist für Bauzwecke ungeeignet, gut verwendbar ist es für künstlerische Arbeiten als Schnitzholz und wegen seiner Homogenität zur Herstellung von Zeichenkohle. Die gleichmäßige Struktur macht das Lindenholz, besonders nach kurzem Kochen in einem Glyzerin-Wasser-Gemisch, für die Herstellung mikroskopischer Schnitte beliebt.
Auch bei der Linde *(Tilia cordata)* finden sich enge Gefäße, die einzeln, in kurzen radialen Reihen oder in unregelmäßigen Nestern vorkommen (Bild 7). Die Gefäße sind mit auffallenden spiraligen Verdikkungen versehen. Ein deutlicher Jahrringbau ist sichtbar. Parenchym findet sich reichlich. Markstrahlen zeigen sich bis sechsreihig und verschieden hoch (Bild 8).
Die mittelharte Holzart ist ohne besondere Kernfärbung hell.

Literaturhinweise:

Strasburger, E., 1971: Lehrbuch der Botanik, 30. Auflage, G. Fischer, Stuttgart.
Bosshard, H. H., 1974/75: Holzkunde I—III, Birkhäuser Verlag, Basel und Stuttgart.

Der erste Teil „Nadelhölzer: Douglasie, Fichte und Tanne" erschien im Mikrokosmos **66**, H. 3, 69—72, März 1977, der zweite Teil „Nadelhölzer: Lärche und Kiefer" in Mikrokosmos **66**, H. 4, 97 bis 98, April 197, der dritte Teil „Ringporige Laubhölzer: Eiche, Esche, Ulme" in Mikrokosmos **66**, H. 5, 129—131, Mai 1977.

Verfasser: Prof. Dr. Franz Bukatsch und Prof. Dr. Josef Jung, Universität Augsburg, Eichleitnerstr. 30, 8900 Augsburg.

Dieter Grebel

Leichen in den Tierfallen des Wasserschlauchs

In Kolken, Torfstichen, Moorschlenken und -tümpeln kann man eine wurzellose, untergetaucht lebende Wasserpflanze finden, den Kleinen Wasserschlauch *(Utricularia minor)*. Er besitzt Fiederblättchen, die in haarförmig feine Zipfel zerschlitzt sind. In den Fiederwinkeln sitzen eiförmige, bis zu 1,9 mm lange wassergefüllte Blasen, die aus umgewandelten Blattzipfeln hervorgehen und durch eine mit Borsten versehene Klappe wasserdicht verschlossen sind.

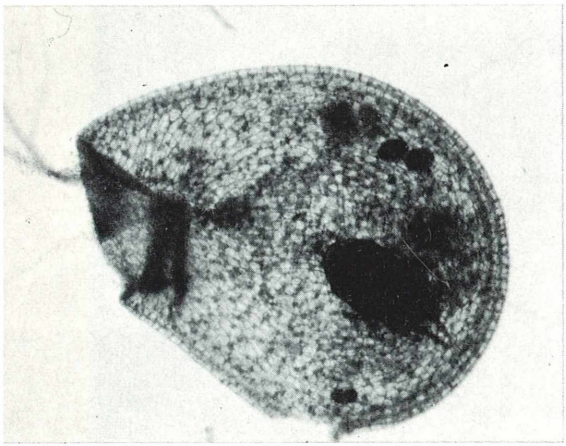


Bild 1: Fangblase des Kleinen Wasserschlauchs *(Utricularia minor)* mit Einschlüssen wie Kiefernpollen und Wassermilbe.

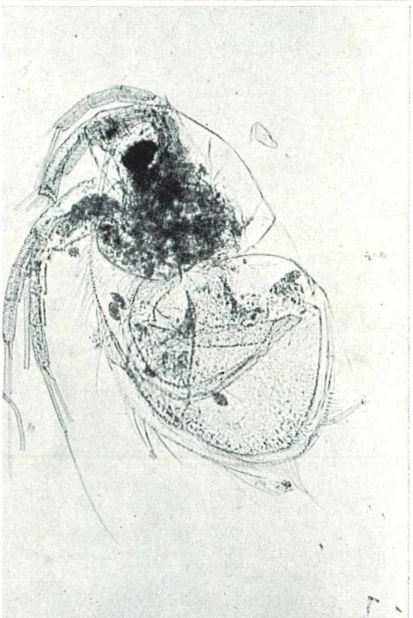
Für den Mikroskopiker stellen diese Blasen eine wahre Fundgrube für eigene Beobachtungen und Entdeckungen dar. Es handelt sich nämlich um raffinierte Fangapparate, die bis zu einem Drittel und mehr mit mehr oder weniger stark „verdauten" tierischen Leichen gefüllt sein können.
Normalerweise herrscht in den Fangblasen des Wasserschlauchs ein Unterdruck (Unterdruckfallen). Berühren jedoch vorbeischwimmende Plankter die hebelartig wirkenden Borsten der ventilartigen Klappe einer Fangblase, so öffnet sie sich elastisch nach innen. Kleine Wassertiere werden durch den Sog in das Innere gesaugt, die Klappe schließt sich, und die hineingerate-

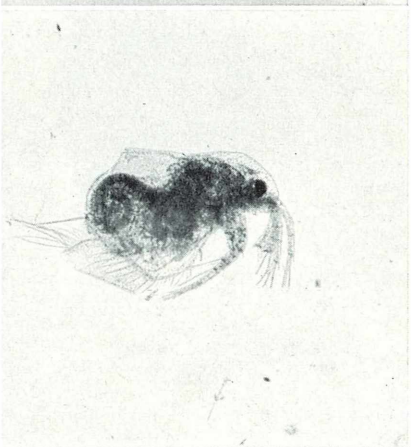
© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

nen Tiere sind gefangen. Sie werden vor allem durch eiweißspaltende Enzyme in Lösung gebracht und von der Pflanze als willkommene stickstoff- und phosphorhaltige Zusatznahrung resorbiert. Von den eingeschlossenen Beutetieren bleibt oft nur der Chitinpanzer übrig.

Die Leichenreste können mikroskopisch untersucht werden. Hierzu bringt man Blattzipfel mit Fangblasen in einem wassergefüllten Blockschälchen auf weißer Unterlage unter ein Binokular (notfalls reicht auch eine sechsfach vergrößernde Lupe) und trennt mit Nadel und spitzer Pinzette bei zehnfacher Gesamtvergrößerung solche Blasen ab, die Einschlüsse erkennen lassen (Bild 1). Sie werden mit zwei Nadeln herausgeholt, mittels einer Tropfpipette mit Gummihütchen aufgesaugt und auf einen Objektträger gegeben.







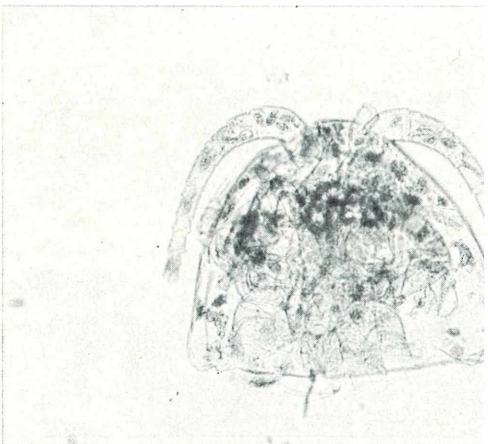


Bild 2 (oben links): Reste des Grauen Zwergkrebschens *(Alonella exigua)*.

Bilder 3 und 4 (Mitte und unten): Reste des Moorkrebses *(Acantholeberis curvirostris)*, der für stark saure Gewässer charakteristisch ist.

Bild 5 (rechts): Reste des Teich-Hüpferlings *(Mesocyclops leuckarti)*.

Die mikroskopische Betrachtung des Naßpräparates läßt neben Detritus eine Fülle verschiedenartiger Organismen erkennen. Man findet vor allem Niedere Krebse wie Blattfußkrebse (Phyllopoden; Bilder 2, 3 und 4) und Ruderfußkrebse (Copepoden; Bilder 5 und 6). Augentierchen (Euglenen) halten sich oft in den Chitinpanzern der Moorkrebse auf und bewegen sich bis in deren Antennen hinein (Bild 7). Auch Süßwassermilben (Hydrachnellae) (Bilder 8 und 9) sind Opfer des tierfangenden Wasserschlauchs.

Die Untersuchungen lassen sich mit frischem Pflanzenmaterial durchführen und mit solchem, das durch 70%igen Brennspiritus oder 4%iges Formalin konserviert wurde.

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

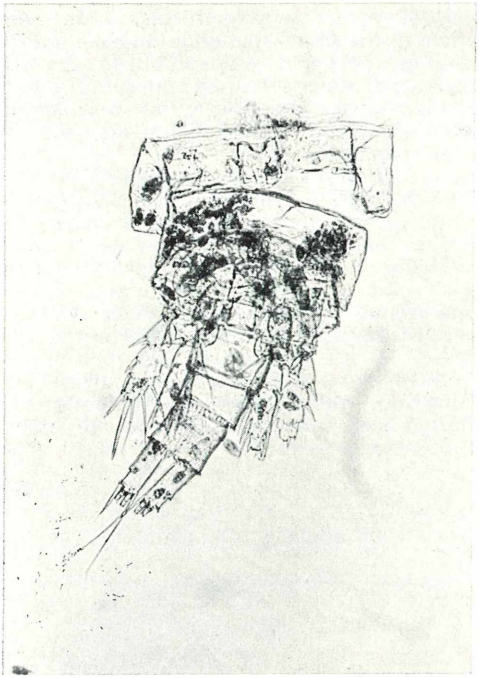


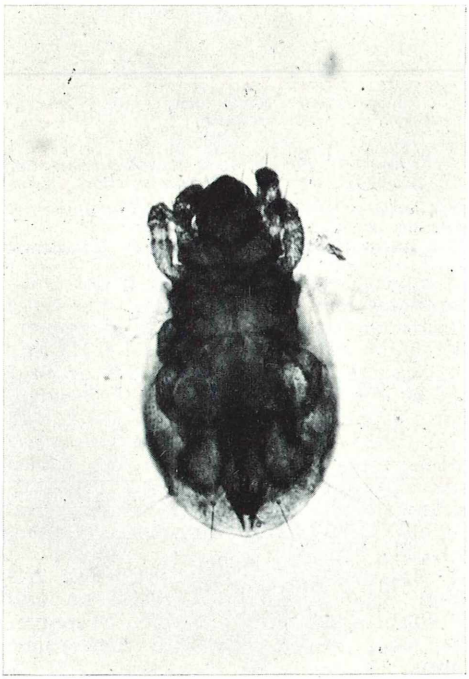
Bild 6: Reste des Teich-Hüpferlings *(Mesocyclops leuckarti)*.

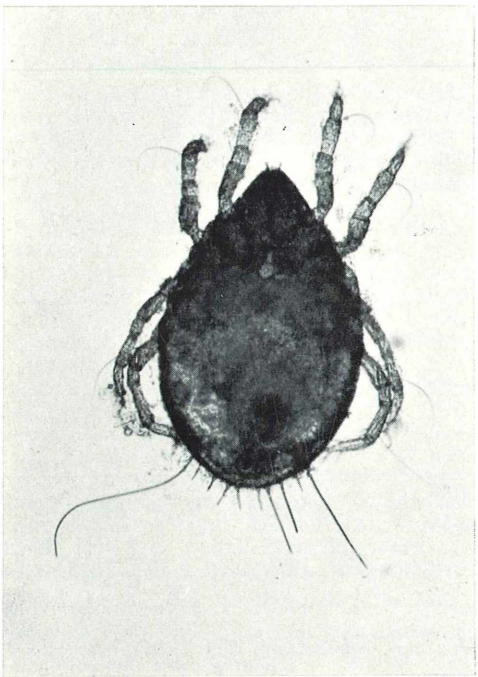


Bild 7: Moorkrebs mit Augentierchen (Euglenen), die bis in die Antennen hinein vordringen.

Bilder 8 und 9 (unten): Süßwassermilben.

Verfasser: Prof. Dr. Dieter Grebel, Erziehungswissenschaftliche Hochschule, 6520 Worms.





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

Negativkontrastierung und Bedampfung

Präparationsmethoden für die Elektronenmikroskopie

Beim Betrachten elektronenmikroskopischer Bilder wird sich denen, die mit den diversen Präparationsmethoden für die Elektronenmikroskopie nicht vertraut sind, häufig die Frage stellen, wie die verschiedenen Bildeffekte zustande kommen. Wollen wir von Ultradünnschnittbildern absehen, die — in Anlehnung an die Lichtmikroskopie — zu verstehen nicht besonders schwierig sind, und wollen wir das Rasterelektronenmikroskop außer acht lassen, da seine Funktionsweise und die daraus resultierenden Bilder bereits früher im Detail erläutert wurden (Reumuth, 1968), bleiben im wesentlichen zwei Präparationsverfahren, die immer wieder angewandt werden: die Negativkontrastierung und die Bedampfung.

Um die Wirkung dieser Methoden zu verstehen, muß man sich im klaren darüber sein, wie im Elektronenmikroskop ein Bild entsteht. Der wesentliche Vorgang ist die Streuung von Elektronen am Objekt. Daraus ergeben sich auf dem Bild dunkle Stellen; ganz dementsprechend erscheinen dort helle Stellen, wo Elektronen nicht gestreut werden. Der Grad der Elektronenstreuung hängt von den Atomen des Objektes ab. Je höher die Ordnungszahl der Atome ist, desto mehr Elektronen werden gestreut und desto höher wird somit der Kontrast des Bildes.

Die Schwierigkeit bei biologischen Objekten ist nun, daß die lebende Materie durchweg aus Atomen niedriger Ordnungszahl besteht. Von solchen Präparaten könnte man nur äußerst kontrastarme Abbildungen herstellen. Zur Kontrastverbesserung bringt man während der Präparation in irgendeiner Form Atome hoher Ordnungszahl ins Präparat, beispielsweise durch die Behandlung der Objekte mit Osmiumsäure. Dieser Schritt, der in gewisser Weise mit dem Färbeschritt der lichtmikroskopischen Histologie zu vergleichen ist, findet hauptsächlich bei der Präparation für die Dünnschnittechnik Anwendung, wobei die Osmiumbehandlung gleichzeitig zur Fixierung der Objekte dient.

Möchte man jedoch Präparate untersuchen, die sich entweder von der Fragestellung her oder aufgrund ihrer Struktur nicht für die Dünnschnittechnik eignen, gibt es die zwei anfangs erwähnten Verfahren, zu guten Bildern zu gelangen.

Bei der *Negativkontrastierung* werden die zu untersuchenden Objekte als Suspension

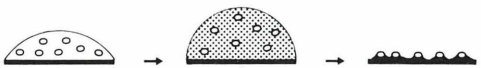


Bild 1: Negativkontrastierung: Die auf einen Objektträger suspendierten Präparate (a) werden mit einer Schwermetallsalzlösung vermischt (b) und anschließend getrocknet (c). Die Objekte erscheinen so als helle Strukturen auf dunklem Grund.

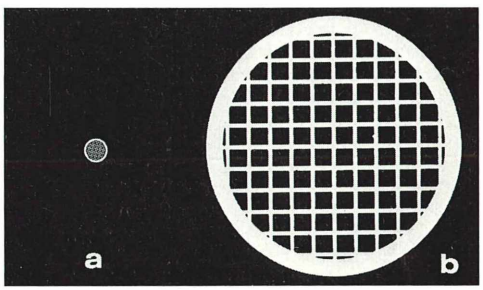


Bild 2: Kupfernetze dienen in der Elektronenmikroskopie als Objektträger. a: natürliche Größe; b: 11fach vergrößert.

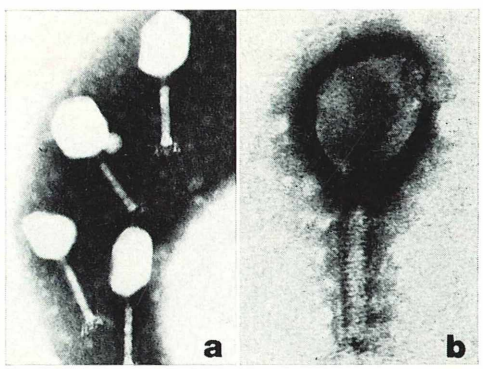


Bild 3: Negativkontrastierte Bakteriophagen. Vergr. a. 82 000 : 1; b. 185 000 : 1.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten

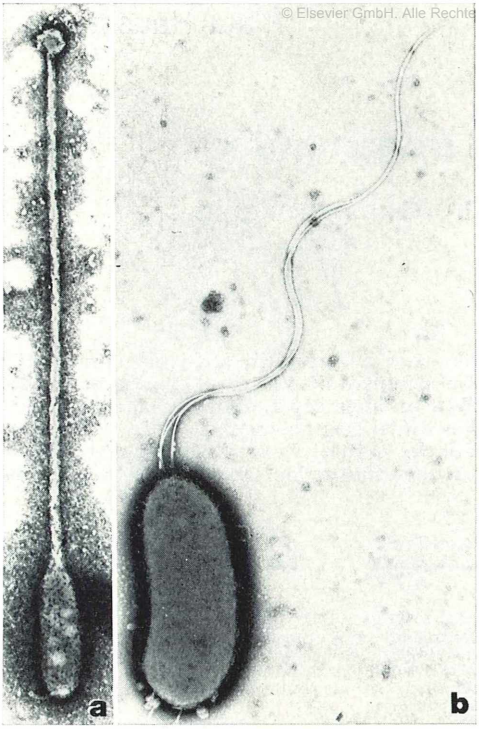


Bild 4: Negativkontrastierte Bakterien. Vergr. a. 10 000 : 1; b. 16 500 : 1.

auf einen Objektträger * getropft, mit einer Schwermetallsalzlösung (z. B. Phosphorwolframsäure, Uranylacetat) vermischt und getrocknet (Bild 1). Das Ergebnis ist, daß das Kontrastierungsmittel, das nicht oder nur teilweise in das Objekt eindringt, die Strukturen als dunklen Saum umgibt und dadurch die eigentlichen Objekte hell auf dunklem Grund (im negativen Kontrast also) erscheinen läßt. Mit dieser Technik, die das höchste Auflösungsvermögen in der Elektronenmikroskopie gewährleistet, können feinste Details bis in den molekularen Bereich dargestellt werden. Nachteilig ist es, daß Informationen über den dreidimensionalen Bau der untersuchten Strukturen wegen möglicher Überlagerungseffekte fast ausgeschlossen sind.

Zu dieser Methode sollen nun einige Anwendungsbeispiele gezeigt werden.

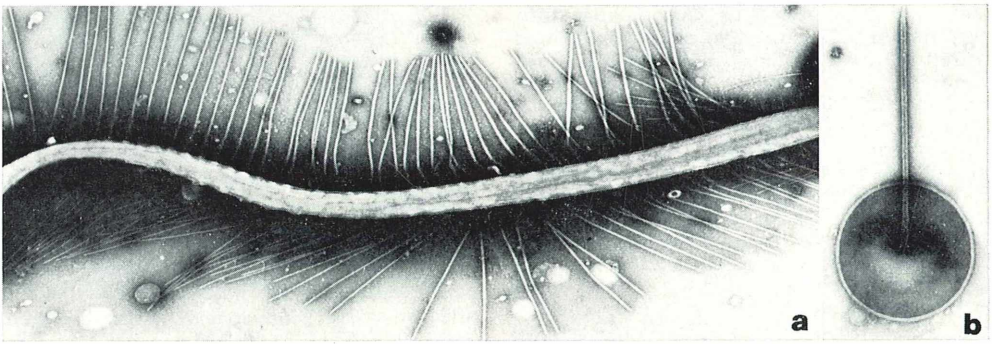
Die verschiedenen Gestalten von Viren konnten in ihrer Komplexität nur durch die Anwendung der Negativkontrastierung so genau ermittelt werden, wie wir sie heute kennen. Die Bakteriophagen sind besonders anschauliche Beispiele hierfür (Bild 3).

Es soll nicht unerwähnt bleiben, daß es Virologen waren, die diese Methode — notwendigerweise — entwickelten. Sie kamen nämlich bei der Bearbeitung ihrer Probleme wegen des begrenzten Auflösungsvermögens der konventionellen Techniken (z. B. Dünnschnitte) nicht mehr weiter und mußten daher neue Wege beschreiten.

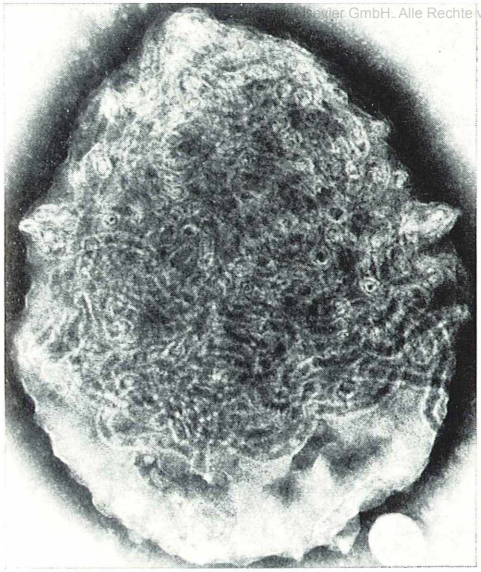
Der nur wenige Minuten dauernde Präparationsvorgang ist von großem Vorteil, wenn man bedenkt, daß normalerweise die Aufbereitung der Objekte bis zum fertigen Präparat eine mehrere Stunden oder gar Tage währende Prozedur ist. Daß der Zeitfaktor eine erhebliche Rolle spielen kann, sei durch folgendes Beispiel verdeutlicht: In den Anfangsstadien der Pockenerkrankung ist es bisweilen schwierig, zweifelsfrei zu diagnostizieren, ob tatsächlich die gefährlichen Blattern vorliegen oder ob es sich nur um harmlose Windpocken handelt. Die Untersuchung von negativkon-

* Als Objektträger können in der Elektronenmikroskopie wegen des sehr geringen Massendurchdringungsvermögens der Elektronen keine Glasobjektträger benutzt werden. Man nimmt daher kleine Kupfernetze (Bild 2), die mit einer hauchdünnen, elektronentransparenten Trägerfolie überzogen werden. Natürlich geben nur die Maschen des Netzes das Präparat zum Mikroskopieren frei. Bei dem normalen Netzdurchmesser von 3 mm (Bild 2 a) scheint es auf den ersten Blick kaum eine Möglichkeit zur sinnvollen Untersuchung der Objekte zu geben. Jedoch bedeutet eine Vergrößerung von beispielsweise 100 000fach, daß das gesamte Netz auf einen Durchmesser von 300 Metern und die einzelnen Maschen auf mehrere Quadratmeter vergrößert werden.

Bild 5: Flagellum mit haarförmigen Seitenfortsätzen (a) sowie Flagellatenschuppe im negativen Kontrast. Vergr. a. 13 500 : 1; b. 20 000 : 1.



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



trastiertem Pustelinhalt verschafft aufgrund der gänzlich unterschiedlichen Morphologie der die beiden Krankheiten verursachenden Viren schnell Klarheit. Allerdings gibt es nur wenige Krankenhäuser, die über ein Elektronenmikroskop und somit über diese Diagnosemöglichkeit verfügen.

In der Mikrobiologie findet die Negativkontrastierung ebenfalls häufig Anwendung, da man hiermit ein einfaches Verfahren zur Verfügung hat, morphologische Eigenschaften von Bakterien zu erfassen, beispielsweise die Zellgestalt (Bild 4 a) oder die Art der Begeißelung (Bild 4 b).

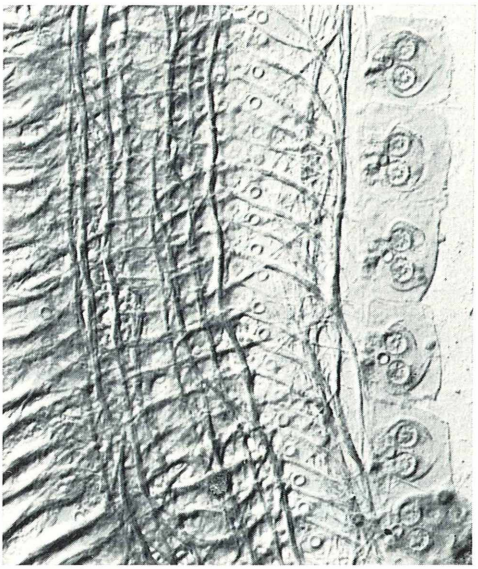


Bild 6: Isoliertes Mitochondrium nach Negativkontrastierung. Vergr. 58 000 : 1.

Bild 8: Negativkontrastierte (a) sowie bedampfte Trichocyste von *Paramecium caudatum* (b) im Vergleich. Vergr. 8500 : 1.

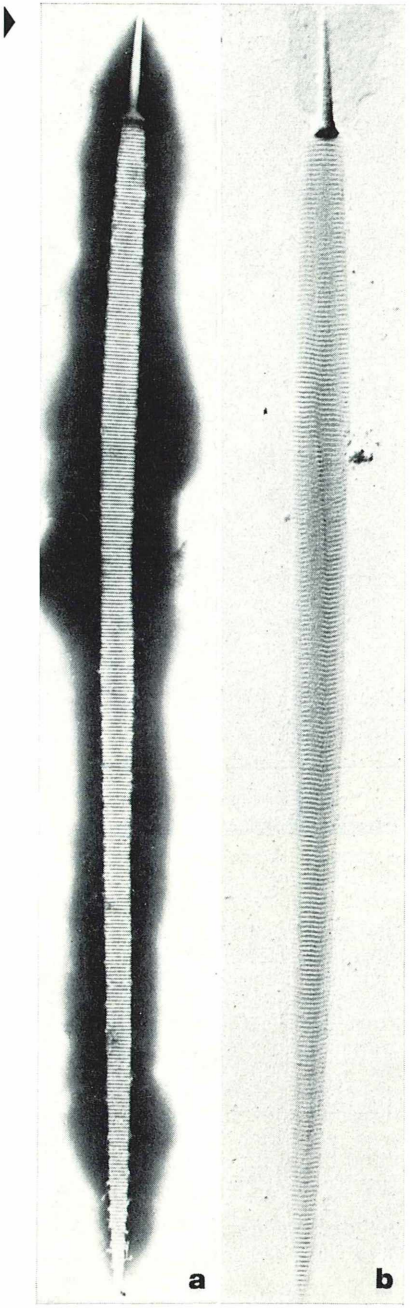


Bild 7: Schrägbeschattetes Pelliculastück des Cytostombereiches von *Paramecium caudatum*. Es ist die zum Plasma hingewandte Fläche zu sehen. Vergr. 10 000 : 1.

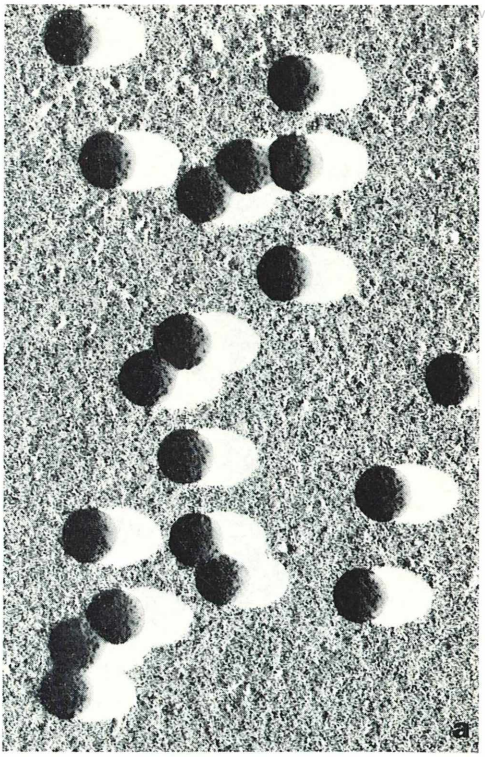
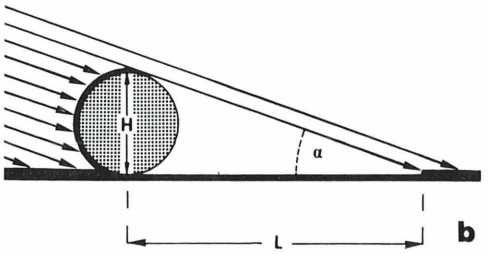


Bild 9: Am Beispiel von Latexpartikeln (= extrem kleine Plastikkugeln) (a) wird deutlich, wie nach der Formel $H = L \cdot \operatorname{tg} \alpha$ die Höhe von Strukturen berechnet werden kann (b). Vergr. 70 000 : 1.



Die Protozoen bieten zahlreiche Anwendungsmöglichkeiten des „negative staining", von denen hier als Beispiel eine spezielle Flagellenstruktur (Bild 5 a), Schuppen eines Flagellaten (Bild 5 b) sowie Spindeltrichocysten von Ciliaten gezeigt seien (Bild 8 a).

Bei Zellfraktionierungspräparationen schließlich dient die Negativkontrastierungsmethode häufig dazu, den Reinheitsgrad einzelner Fraktionen oder den Zustand der isolierten Zellbestandteile schnell und komplikationslos zu überprüfen (Bild 6).

Bei der *Bedampfung* oder *Schrägbeschattung* liegt ein ganz anderes Präparationsschema zugrunde: In einem Rezipienten, der durch spezielle Pumpsysteme auf einen Druck von 10^{-4}—10^{-5} torr evakuiert ist, werden Metalle (Gold, Platin, Palladium etc.) oder Kohle durch elektrischen Strom weißglühend erhitzt. Dabei breiten sich die kontrastbringenden Bedampfungsmittel gleichmäßig in alle Richtungen des Raumes aus und „bedampfen" die Objekte, die man zuvor in den Rezipienten gebracht hat. Normalerweise geschieht die Bedampfung von einer Seite her, so daß wegen der einseitig erfolgenden Ablagerung von Material ein plastischer Eindruck von den Präparaten entsteht (Schrägbeschattung).

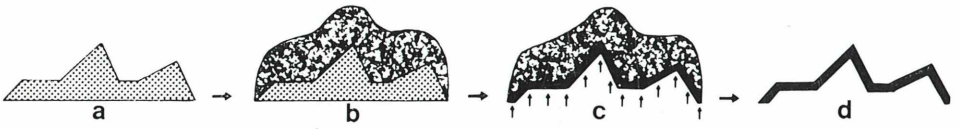
Diese Methode ist erheblich aufwendiger als die Negativkontrastierung, da eine kostspielige Bedampfungsapparatur und teure Bedampfungsmaterialien benötigt werden. Darüber hinaus dauert wegen des erforderlichen hohen Vakuums die Präparation um vieles länger. Das Auflösungsvermögen schließlich ist, bedingt durch die Korngröße des Bedampfungsmittels, geringer als das der Negativkontrastierung. Jedoch liegen auch die Vorteile dieser Präparationsmethode auf der Hand. Man kann kontrastarme Oberflächen untersuchen, kann räumliche Rekonstruktionen vornehmen und exakte Vermessungen der dritten Dimension durchführen.

Folgende Beispiele sollen die Anwendungsmöglichkeiten verdeutlichen.

Schrägbeschattete Pelliculastücke aus Homogenaten von *Paramecium caudatum* (Pantoffeltier) lassen ein kompliziertes Faserflechtwerk im Zellinneren des Cytostombereiches erkennen (Bild 7), ein Ergebnis, das mit Hilfe der Dünnschnittechnik nur durch mühsame Analysen von zahlreichen Serienschnitten hätte rekonstruiert werden können. Die Negativkontrastierung hätte durch Überlagerungseffekte eher verwirrende Informationen erbracht.

Bei Trichocysten, von denen man durch die Negativkontrastierung weiß, daß eine periodische Querstreifung des Schaftes vorliegt, lassen Schrägbedampfungen deutlich werden, daß sich der Wechsel elektronenlichter und elektronendichter Banden äußerlich gesehen in einer wellenförmigen,

Bild 10: Matrizenabdruck: Von einer Oberfläche (a) wird ein Abdruck genommen (b), der bedampft wird (c, Pfeile). Durch Weglösen des Abdruckmaterials erhält man ein elektronendurchstrahlbares Präparat (d).



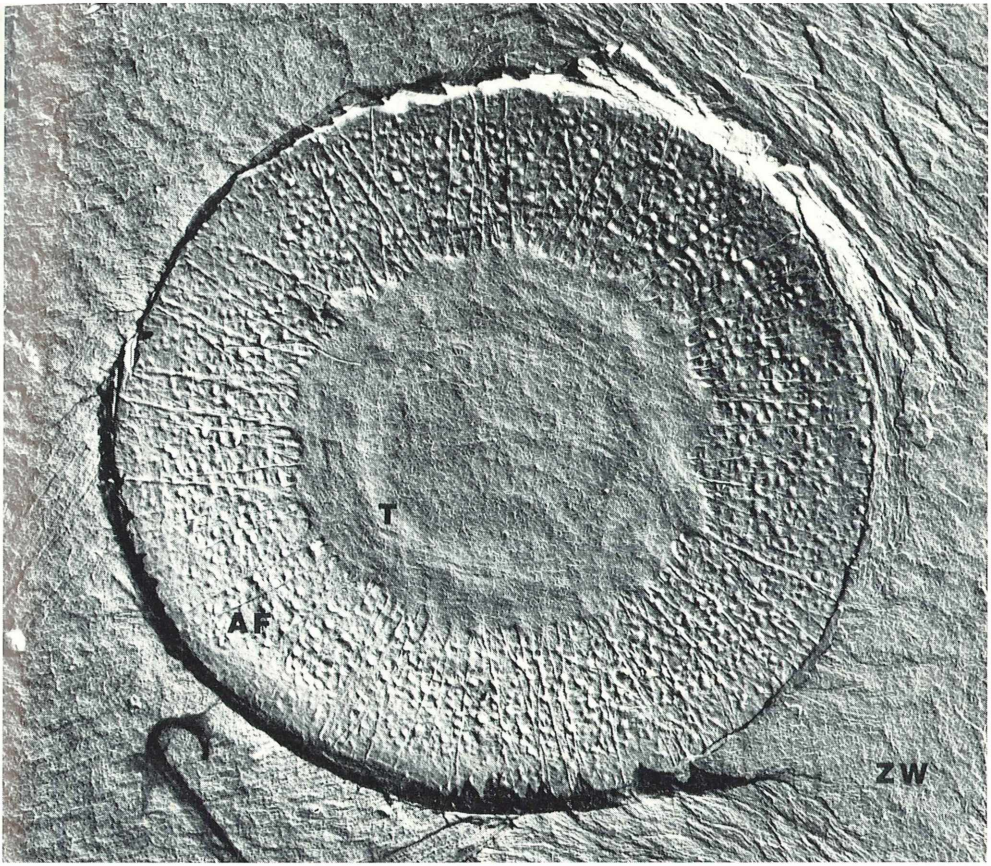


Bild 11: Matrizenabdruck eines Hoftüpfels. Der Torus (*T*) ist über Aufhängefasern (*AF*) mit der Zellwand (*ZW*) verbunden. Vergr. 4000 : 1.

an ein Waschbrett erinnernde Oberflächenstruktur widerspiegelt (vgl. Bild 7 a und b). Aber nicht nur Oberflächenformationen lassen sich erschließen, sondern es können auch Dimensionen berechnet werden. Weiß man beispielsweise den (am Gerät einstellbaren) Winkel α, unter dem die Bedampfung der Objekte erfolgte, so kann man, mißt man die Schattenlänge * aus, die Höhe von Objekten nach der Formel $H = L \cdot \mathrm{tg}\,\alpha$ exakt berechnen (Bild 9).

Darüber hinaus ist durch das Bedampfungsverfahren die Möglichkeit zum „Abdruck" gegeben, eine Methode, die vor einiger Zeit bereits eingehend erklärt und an Diatomeenschalen demonstriert wurde (Hausmann, 1977).

In gewisser Weise eine Weiterentwicklung dieser Präparationsmöglichkeit ist der Matrizenabdruck (Bild 10), der dann angewandt wird, wenn das zu untersuchende Objekt erhalten bleiben soll oder aus technischen Gründen ein normaler Abdruck nicht möglich ist. Bei diesem Verfahren geht man so vor, daß man zuerst auf die Präparatoberfläche ein geeignetes Matrizenmaterial (z. B. bestimmte Kunststoffe) aufdrückt und damit ein Negativ der Oberflächenstruktur abnimmt. Diese Matrize wird in der beschriebenen Weise mit Kohle bedampft und anschließend weggelöst, so daß man im Endeffekt, ähnlich wie beim normalen Abdruck, einen durchstrahlbaren Bedampfungsfilm vorliegen hat, der alle Oberflächeninformationen des eigentlichen Objektes enthält (Bild 10).

Das Resultat der Methode ist am Matrizenabdruck eines Nadelholzes gezeigt, das mit einem Messer gespalten wurde. Dabei werden Zellwände mit zahlreichen Hoftüpfeln freigelegt. Da meistens beim Spalten des Holzes der Hof des Tüpfel mit wegbricht, treten die verschiedenen Komponenten dieser Struktur deutlich zutage (Bild 11).

Dieser Bericht sollte einige Möglichkeiten der elektronenmikroskopischen Präpara-

* Der „Schatten" ist natürlich hell, da an diese Stellen wegen der Objektstrukturen kein Bedamfungsmittel gelangen konnte, wodurch die entsprechende Präparatstelle elektronentransparent blieb.

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

tionsmethodik erläutern sowie die Ergebnisse an einigen Beispielen illustrieren, damit dem „Außenstehenden" die Resultate dieser Mikroskopiermethode verständlicher werden und nicht mit dem Flair des Geheimnisvollen umgeben bleiben.

Literaturhinweise:

1. *Hausmann, K.:* Diatomeenschalen im elektronenmikroskopischen Bild. Mikrokosmos **66**, 144 bis 148, H. 5 (1977).
2. *Reimer, L.:* Elektronenmikroskopische Untersuchungs- und Präparationsmethoden. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1967).
3. *Reumuth, H.:* Stereoscan — ein neues Zeitalter der Mikroskopie? Das Raster-Elektronenmikroskop. Mikrokosmos **57**, 1 (1968).
4. *Schimmel, G.,* und *W. Vogell:* Elektronenmikroskopische Präparationstechniken. Wissenschaftl. Verlagsgesellschaft Stuttgart (1975).

Verfasser: Dr. K. Hausmann, Lehrstuhl für Zellenlehre, Im Neuenheimer Feld 230, 6900 Heidelberg.

Winke fürs Labor

Guido Georg Reinert

Kaltlichtbeleuchtung in der Mikroskopie

Eine neuartige Durchlichtbeleuchtung

Das weiße Licht einer Nordhimmelwolke wurde in alten Lehrbüchern der Mikroskopie stets als die beste Beleuchtung zur Beobachtung mikroskopischer Präparate empfohlen. Es galt lange Zeit als *das* ideale Tageslicht.

Auf der Suche nach geeigneten Lichtquellen, die das Mikroskopieren vom Tageslicht unabhängig machen, kam man über eine lange Entwicklungsreihe „künstlicher Lichtquellen" — Petroleumlampe mit Schusterkugeln, Auerglühstrumpf, Droumountsches Kalklicht, Bogenlampe, Nernstlampe, Bandlampe und Punktlichtlampe zur Glühlampe mit enger Wendel. Sie ist jetzt in der Mikroskopie allgemein üblich und liegt heute in einer so vollkommenen Form als Wolfram-, Tungsten- oder Halogen-Lampe vor, daß man sich angewöhnt hat, mit dem Licht, dessen Farbtemperatur bei ca. 3600 K° liegt, und dabei auch mit der von ihm mitgelieferten Wärmestrahlung großzügig umzugehen. Da diese Lampen ein annähernd kontinuierliches Spektrum haben, wird weggefiltert, oder durch Regelelemente der Elektrik weggesteuert, was man nicht braucht. Hierbei muß der tageslichtähnliche Spektralbereich, der für viele mikroskopische Untersuchungen zweckmäßig, ja sogar notwendig ist, mit Hilfe von sogenannten Tageslicht- oder Konversionsfiltern herausgefiltert, bzw. ausgesondert werden.

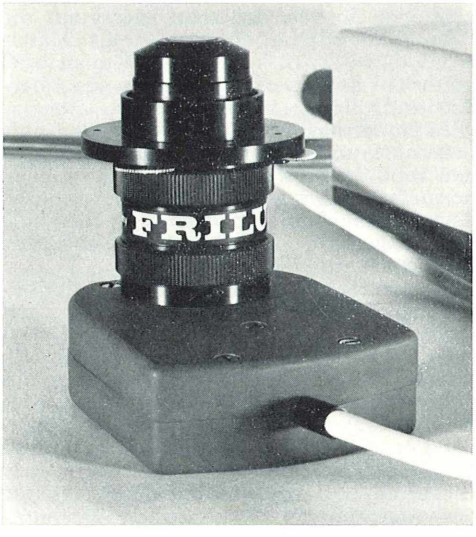


Bild 1: FRILUX-Beleuchtung mit Kondensor und Zentriervorrichtung.

Die Wärmestrahlung, die jede Glüh- und Lichtbogen-Lampe in erheblicher Menge aussendet, läßt sich nur z. T. durch Wärmeschutzfilter zurückhalten und wird bei längerdauernden Lebendbeobachtungen meistens von den Objekten durch Absterben quittiert.

Prof. Dr. August Köhler ermöglichte mit der von ihm 1893 erstmalig angegebenen und nach ihm benannten Beleuchtungsanordnung eine besonders gute Ausnutzung

Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

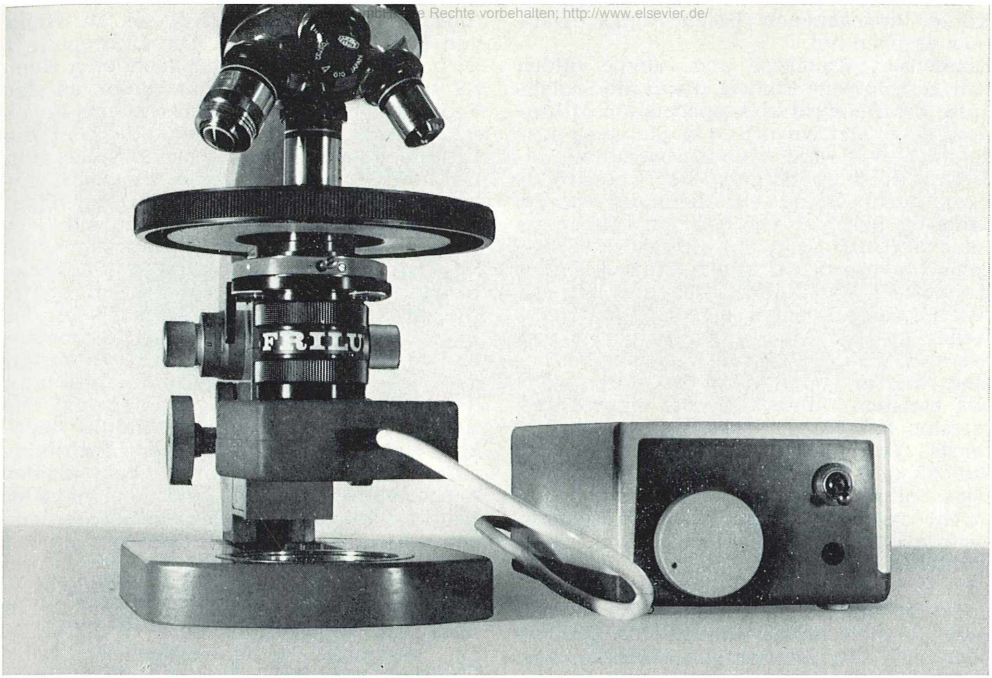


Bild 2: FRILUX-Beleuchtung mit Netzanschlußgerät an einem Mikroskop eingesetzt.

der Lichtenergie und Lichtführung durch das Mikroskop. Damit schuf er erstmalig die Grundlage, Glühlampen mit zerklüfteter Wendel nützlich und effektvoll bei der Mikroskopie und besonders der Mikrofotografie einzusetzen. Das bleibende Restproblem war und ist die Wendelstruktur der Lampe, die auch Köhler oft zu schaffen machte, woran ich mich aus meiner Zeit bei Köhler sehr gut erinnere. Zur Vernichtung, bzw. Verringerung des Wendelbildes hatte Köhler bei seinen Beleuchtungsanordnungen zwischen Lampe und Kollektorlinse eine ein- und aus-klappbare Mattscheibe vorgesehen. Hierdurch war es möglich, das Bild der Lichtquelle einigermaßen zu homogenisieren.

Bei der sogenannten „kritischen Beleuchtung" läßt sich die Wendelstruktur nie ganz ausschalten, auch wenn das Wendelbild exakt in die Objektivpupille abgebildet wird, da die axiale Vergrößerung stets größer als die laterale ist.

Die Köhlersche Anordnung liefert bei sachgemäßer Durchführung, die leider bei vielen sogenannten Köhler-Beleuchtungen zu wünschen übrig läßt, eine gleichmäßige Ausleuchtung der Sehfelder. Was jedoch bei Wendellampen nie vollkommen zu erreichen ist, ist die homogene Lichtverteilung in der Pupillenöffnung des Objektivs, so daß hierdurch leicht miteinander wetteifernde Beugungsbilder entstehen können. Es sind daher eine Reihe von Köhler-Beleuchtungen angegeben worden, die durch streuende Mittel, oder verschachtelte Strahlengänge dieser Erscheinung Herr zu werden versuchen.

Ich habe mich bereits in den fünfziger Jahren im Bereich schwacher Vergrößerungen im Auf- und Durchlicht intensiv mit Leuchtstoffröhren verschiedener Form und Konstruktion befaßt — Ergebnis war die durch DGM 1955 geschützte Leuchtlupe LL v. Chr. Beck, Kassel — und habe dieses Licht inzwischen auch für das zusammengesetzte Lichtmikroskop für starke Vergrößerungen bis zur Ölimmersion nutzbar gemacht. Hierbei gelang es mir, durch eine neuartige Variante das Köhlersche Beleuchtungsverfahren mit exakter Leuchtfeldblenden und Lichtquellenabbildung durchzuführen. Neuartig ist dabei auch die Regelbarkeit der Strahlungsintensität der allerdings besonders konstruierten und ausgebildeten Leuchtstofflampe, die beim Heller- oder Dunklerwerden ihre Farbtemperatur nicht verändert.

Dieses alles führte zu einem weltweiten Patentschutz, da die Mittel und Anordnungen dieser Art bisher nicht bekannt waren. Die neue Kaltlicht-Köhler-Beleuchtungsanordnung (Bild 1) wird an Stelle des üblichen Mikroskopkondensors eingesetzt und ist eine der kompaktesten und von ihrer Konzeption her gesehen auch narrensichersten Beleuchtungsanordnungen, die es je zur Durchführung des von Prof. Dr. August

Köhler angegebenen Beleuchtungsverfahrens gegeben hat.

Kondensor, Kollektor und Lampe bilden eine geschlossene Einheit, die in die Schiebhülse des Beleuchtungsapparats am Mikroskop eingesetzt wird (Bild 2). Sie ist so ausgebildet, daß ohne Kondensorwechsel, lediglich durch Betätigung der Leuchtfeld- und Apertur-Blende die Sehfelder von ca. 6 mm bis herunter von 0,25 mm Durchmesser exakt nach der Köhlerschen Regel ausgeleuchtet werden. Der Aperturbereich des Kondensors ist so ausgelegt, daß sich die Aperturen zwischen A=0,10 bis A=1,1 einstellen lassen. Als Trockenkondensor gebraucht, gibt der Kondensor also sicher eine Apertur von A=0,95, die in den weitaus meisten Fällen auch bei einer Ölimmersion mit der Apertur A=1,4 voll ausreicht, wenn nach der Köhlerschen Regel auf 2/3 der Objektiv-Apertur abgeblendet wird Soll die Apertur über 1,0 nutzbar gemacht werden, so muß zwischen Kondensorfrontlinse und Objektträger immergiert werden.

Die Kondensorteile der Beleuchtungsanordnung sind austauschbar. Für Sonderfälle können daher sowohl für größere oder noch kleinere Sehfelder Kondensoren auch mit höherer Apertur geliefert werden. Weiter ist auch für eine hochqualifizierte Abbildung der Leuchtfeldblende ein achromatisch-aplanatischer Kondensor in Vorbereitung.

Aufgrund des in sich zentrierten Systems der neuen Durchlichtbeleuchtungsanordnung ist ihre Handhabung denkbar einfach und schließt bei folgerichtiger Bedienung praktisch alle Fehler aus. Erforderlich sind lediglich die Scharfeinstellung des Leuchtfeldblendenbildes zur Objektebene und seine Zentrierung. Zur Scharfstellung des Leuchtfeldblendenbildes wird in üblicher Weise die Höhenverstellung des Beleuchtungsapparats benutzt. Die Zentrierung kann mit Hilfe der Zentrierschrauben an der Steckhülse des Beleuchtungsapparats erfolgen, wenn solche vorhanden sind. Für Beleuchtungsapparate, die keine zentrierbare Steckhülse haben, kann das feste Steckteil der Beleuchtungsanordnung durch ein zentrierbares Steckteil ersetzt werden. Ist die Leuchtfeldblende richtig eingestellt und auf Sehfeldgröße gebracht, so kann nach der Köhlerschen Regel dann die Aperturblende bei herausgenommenem Okular auf 2/3 der Objektivapertur, und somit nach Köhler auf optimalsten Kontrast eingestellt werden.

Die Lichtquelle ist, wie schon vorher erwähnt, eine homogen leuchtende Fläche und bedarf daher keiner besonderen Zentrierung, und es unterbleibt die bei Wendellampen nie ganz zu unterdrückende Vervielfachung der Beugungsspektren.

Der optische Aufbau der neuen Beleuchtungsanordnung FRILUX® sei an Hand von Bild 3 kurz erklärt. Die Lichtquelle *1* ist in einer aus Isolierstoff gebildeten Kapsel untergebracht und mit dieser an das Fassungsrohr des opitschen Systems angeschraubt. Vor dieser Lichtquelle *1* ist die Leuchtfeldblende *2* angeordnet, die vom Kollektorsystem *3* mit einer möglichst hohen Apertur ins Unendliche abgebildet wird. Andererseits ist die Lichtquelle *1* in ihrem Abstand zum Kollektorsystem *3* so weit entfernt, daß ihr Bild am Ort der Kondensorblende *4* in deren Öffnung entworfen wird. Die Lichtintensität in der Leuchtfeldblendenebene ist stets konstant und wird durch die Strahlungsintensität der regelbaren Leuchtstofflampe bestimmt und nicht vom optischen Strahlengang. Die Helligkeit der Lichtquellenabbildung dagegen wird von der Öffnung der Leuchtfeldblende beeinflußt, nimmt bei kleiner Leuchtfeldblende ab und bei großer Leuchtfeldblende zu. Bekanntlich verlangen schwache Vergrößerungen mit großen Sehfeldern kleine Kondensoraperturen und starke Vergrößerungen mit kleinen Sehfeldern hohe Kondensoraperturen. Durch diese Wechselbeziehung wird zwangsläufig ein gesamter Helligkeitsausgleich beim Übergang von den schwachen Mikroskopvergrößerungen zu den starken und umgekehrt geschaffen. Was dann noch an Helligkeit zu viel oder zu wenig ist, kann durch die Regelung der Lampenhelligkeit ausgeglichen werden. Somit ist es mit der Kaltlicht-Köhlerbeleuchtung „FRILUX“ durchaus möglich, dem Beobachterauge eine annähernd gleiche Helligkeit bei verschiedenen Vergrößerungen anzubieten.

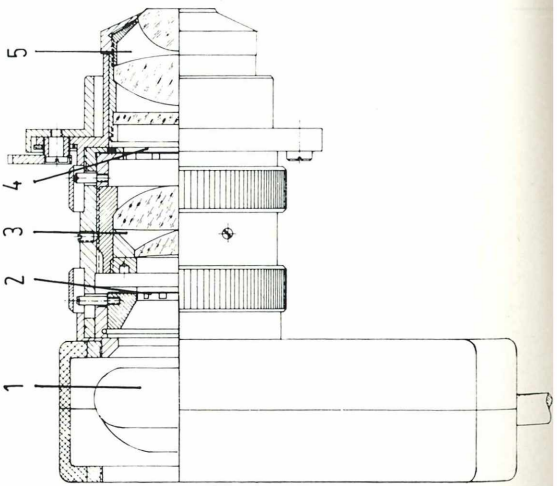


Bild 3: Halbschnitt durch die FRILUX-Köhler-Beleuchtung. *1* Lichtquelle, *2* Leuchtfeldblende, *3* Kollektorsystem, *4* Kondensorblende, *5* Kondensor.

© Elsevier ... vorbehalten; http://www.elsevier.de/

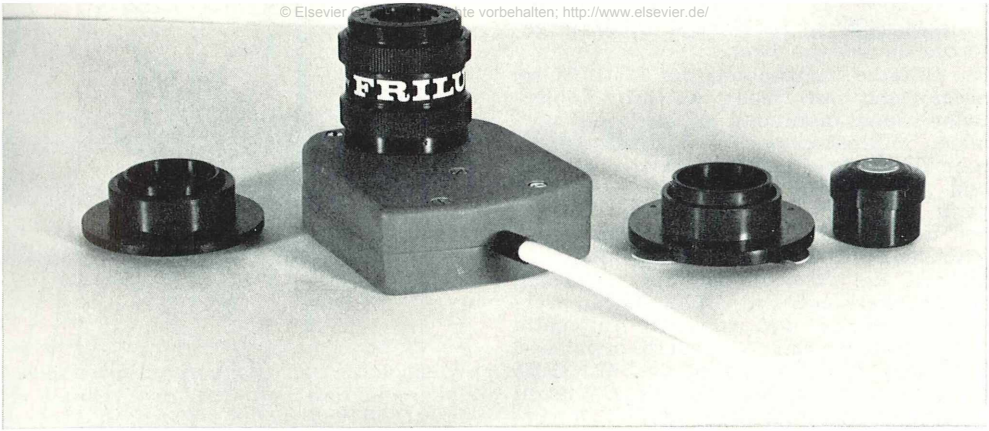


Bild 4: FRILUX-Köhler-Beleuchtung zerlegt mit Kondensor, zentrierbarem Steckteil und unzentrierbarer Steckhülse.

Das vom Kollektorsystem *3* ins Unendliche entworfene Bild der Leuchtfeldblende *2* wird durch den hinter der Aperturblende *4* liegenden Kondensor *5* in die Präparatenebene abgebildet.

Diese neue Beleuchtungsanordung erfüllt also streng die Köhlersche Regel, die die Lichtquellenabbildung der Kondensoraperturblende und damit der Objektivpupille und die Leuchtfeldbegrenzung der Objektebene, also der Sehfeldblende des Okulars zuordnet.

Wie in Bild 4 gezeigt wird, ist das in sich zueinander zentrierte optische System am Steckteil in zwei Teile zerlegbar. Es lassen sich hier sowohl das feste als auch das zentrierbare Steckteil gegeneinander austauschen und an dieser Stelle verschiedene Blendenzusätze und Filterschubladen dazwischenschrauben. Dieses ist wichtig für das Einschalten von Phasenkontrastblenden, Filterkontrastschiebern und Zusatzblenden aller Art, z. B. zur Erzeugung von schiefer Beleuchtung. Hierbei nimmt allerdings die Baulänge des Geräts um die Dicke des Zusatzteils zu, so daß sich bei einigen älteren Mikroskopen deren Verwendung verbietet.

Grundsätzlich ist jedoch jedes gute Mikroskop mit dieser neuen Beleuchtungseinrichtung FRILUX aus- bzw. nachrüstbar. Problemlos ist dieses, wenn die Kondensorsteckhülse des Beleuchtungsapparates mit einem Durchmesser von 39,5 mm entsprechend der Norm nach DIN 58 882, oder dem alten Zeiss-Kondensorsteckmaß von $36{,}8^{8h} \times 25^{-0{,}1}$ mm ausgebildet ist.

Zur Lichtquelle selbst, einer speziell entwickelten neuartigen Leuchstoffröhre, sei folgendes gesagt: Die Speziallampe besonderer Formgebung ist eine Leuchtstoff-Entladungslampe mit vorgeheizten Kathoden, die mit einem besonders ausgewählten weißen Leuchtstoff versehen ist. Wie Bild 5 zeigt, deckt sich die Lichtintensitäts-Verteilungskurve im sichtbaren Spektralbereich nahezu ideal mit der Lichtempfindlichkeitskurve des menschlichen Auges, daher wird diese Beleuchtung auch besonders angenehm vom Beobachter empfunden und ermüdet nach Aussagen von Benützern nicht. Der relativ starke Blauanteil wird durch ein in den Kondensor eingesetztes Skylight-Filter herabgemindert. Die durchschnittliche Kelvinzahl ist daher K°=5500—6000, sie läßt sich durch ein entsprechendes Konversionsfilter auf etwa 4800 K° herabsetzen. Hierdurch ist es möglich, ohne zusätzliche Filterung mit Kodak-Ektachrome-Film sehr gute Farbaufnahmen herzustellen. Die spektrale Verteilung im Vergleich zu einer Wolframlampe ist ebenfalls aus dem Diagramm in Bild 5 zu entnehmen, woraus sich hier deutlich die Überlegenheit der neuen Lampe erklärt. Ein wesentliches Kennzeichen dieser neuen Leuchtstofflampe ist noch, daß sich bei ihrer Helligkeitsregelung die Farbtemperatur kaum, praktisch gar nicht ändert. Dies ist ein weiteres Plus sowohl für die subjektive Beobachtung als auch für die Mikrofotografie.

Die Belichtungszeiten mit einer Kleinbildkamera 24×36 mm und einer optischen Kameralänge von 125 mm entsprechen je nach Vergrößerung und verwendeter Objektiv-Okularkombination den Lichtwerten von etwa 3—7 (u. U. bis 10). Bei einer Aufnahme mit der Ölimmersion 100 : 1/A=1,3 und dem Weitfeldokular 12,5× liegen die Belichtungszeiten je nach Präparatendichte

zwischen 5 und 15 Sekunden bei einem Film von ca. 21° DIN.

Eine zusätzliche Elektronenblitzeinrichtung, die der Kaltlichtlampe zugeschaltet wird, macht auch die Mikrofotografie lebender Objekte möglich. — Hierüber in einem gesonderten Bericht mehr.

Die einfache Handhabung der FRILUX sei nachfolgend beschrieben: Kaltlicht-Köhler-Beleuchtungsanordnung an Stelle des normalen Mikroskopkondensors in das Steckrohr des Beleuchtungsapparats einstecken und festklemmen. Lampe mit Vorschaltgerät mittels des Schraubsteckers verbinden und Vorschaltgerät ans Lichtnetz anschließen. Vorschaltgerät einschalten. Es leuchtet die rote Signallampe unterhalb des Schalters auf. Die Glühkathoden werden vorgeheizt, und von der Automatik des Vorschaltgeräts wird nach etwa 4—6 Sekunden die Lampe gezündet. Mit Hilfe des Regelknopfes läßt sich die Helligkeit der Lampe etwa im Verhältnis 1 : 5 verändern. Hierbei ändert sich zwar die Lichtintensität, aber nicht die Farbtemperatur, wie dies bei Glühlampen der Fall wäre. Man öffne vorerst die Leuchtfeldblende ganz und stellt das zu beobachtende Präparat bei einer schwachen Vergrößerung ein. Jetzt wird die Leuchtfeldblende geschlossen und durch Heben und Senken des Kondensorträgers ihr Bild in der Präparatebene scharf eingestellt. Dieses Blendenbild wird alsdann mit Hilfe der Zentrierung zum Sehfeldrand des Okulars zentriert, so daß es bei vollem Öffnen gerade und gleichmäßig am Blendenrand verschwindet. Nach dieser Grundeinstellung entfernt man das Okular und beobachtet die Pupille des Mikroskopobjektivs. Die Aperturblende — oberer Stellring — wird entsprechend der Köhlerschen Regel auf etwa 2/3 dieser freien Öffnung geschlossen. Es ergibt sich normalerweise der beste Kontrast für die Objektstruktur. Der Kondensortrieb kann nun für die weitere Einstellung unbenutzt bleiben, wenn das Präparat nicht gewechselt wird. Beim Wechsel der Objektive muß nun lediglich das Leuchtfeldblendenbild nachzentriert und zum Sehfeld passend eingestellt werden. Ebenso ist die Aperturblende der größeren oder kleineren Apertur des Objektivs anzupassen. Hat man sehr gut zueinander zentrierte Objektive, oder benutzt man einen zentrierbaren Objektivrevolver, so ist der Zentriervorgang auch beim Objektivwechsel nicht mehr erforderlich.

Die neue Beleuchtungsanordnung bietet also gegenüber den üblichen Beleuchtungsanordnungen eine Reihe von Vorteilen: Angenehmes, ermüdungsfreies Licht, keine Objekterwärmung, stets gleichbleibende, leicht einzustellende Beleuchtung nach dem Köhler-Prinzip, wobei Leuchtfeldblende und Aperturblende jederzeit kontrollierbar einzustellen sind. Wenn man alle Handgriffe richtig gemacht hat, sind Beleuchtungs- und Abbildungsstrahlengang stets zueinander optimiert, so daß man aus der Mikroskopoptik, wenn sie nicht allzu schlecht ist, stets ein Maximum an Leistung herausholt.

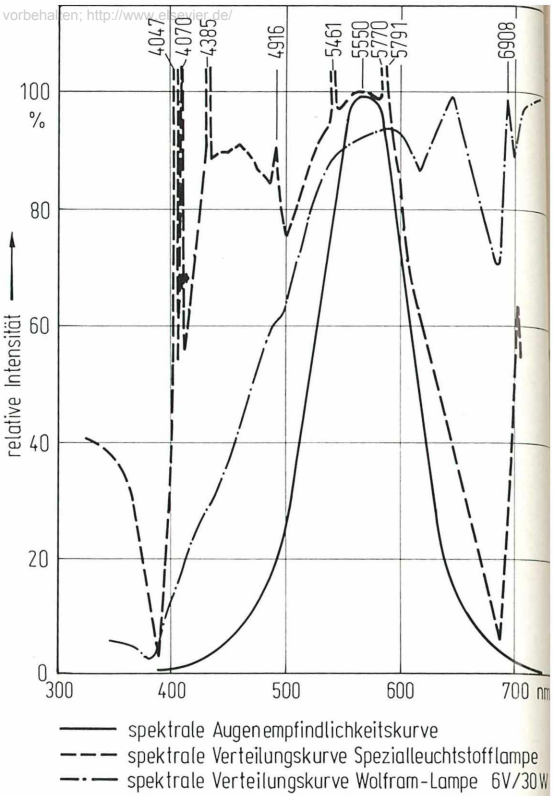


Bild 5: Das Licht der FRILUX-Beleuchtung wird als besonders angenehm empfunden, da sich die Lichtintensitäts-Verteilungskurve im sichtbaren Spektralbereich nahezu ideal mit der Lichtempfindlichkeitskurve des menschlichen Auges deckt.

Verfasser: Guido Georg Reinert, Miesbacher Straße 2, 8011 Höhenkirchen.

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

Kurt-Rainer Roeser

Das Elektronentransportsystem der Chloroplasten

Mikroskopische Untersuchung

Liebhabermikroskopiker und Biologielehrer werden es oft bedauern, daß ihnen viele Bereiche der modernen biologischen Grundlagenforschung experimentell unzugänglich sind, da die erforderlichen technischen Geräte den finanziellen Spielraum des privaten oder schulischen Etats überschreiten. Dieser Bericht will zeigen, daß man auch ohne Ultrazentrifuge und aufwendige Laboreinrichtungen interessante biologisch-biochemische Experimente durchführen kann.

Bei der Erforschung des Elektronentransportsystems der Chloroplasten beginnt die Zeitrechnung mit dem Jahre 1939. Damals beobachtete Robert Hill, daß isolierte Chloroplasten dreiwertige Eisenionen bei Belichtung zu zweiwertigen Eisenionen reduzieren. Er arbeitete mit Ferrioxalat und konnte folgende Brutto-Reaktionsgleichung anschreiben:

$$4\,K_3Fe(C_2O_4)_3 + H_2O + 4\,K^+ \xrightarrow[h\,\nu]{\text{Licht}} 4\,K_4Fe(C_2O_4)_3 + 4\,H^+ + O_2$$

In den folgenden Jahren wurden zahlreiche neue Hill-Reagentien entdeckt, die wesentlich bessere Eigenschaften für den Experimentator besitzen. 1951 wurde nachgewiesen, daß das natürliche Hill-Reagenz (oder Elektronenakzeptor) $NADP^+$ (**N**icotinsäureamid**a**denin**d**inukleotid**p**hosphat) ist, eine Substanz, die für fast alle synthetischen Vorgänge in der Zelle Lieferant für Elektronen (Reduktionsvorgänge) ist, dazu aber selbst reduziert vorliegen muß. In der tierischen Zelle wird $NADP^+$ vorwiegend im Pentosephosphatzyklus reduziert. Bei der pflanzlichen grünen Zelle liefert letzten Endes immer das Licht über die im Chloroplasten ablaufende Lichtreaktion die notwendige Energie für die NADP-Reduktion. Weiter liefert das Licht im Chloroplasten auch Energie für eine lichtabhängige ATP-Bildung aus ADP und anorganischem Phos-

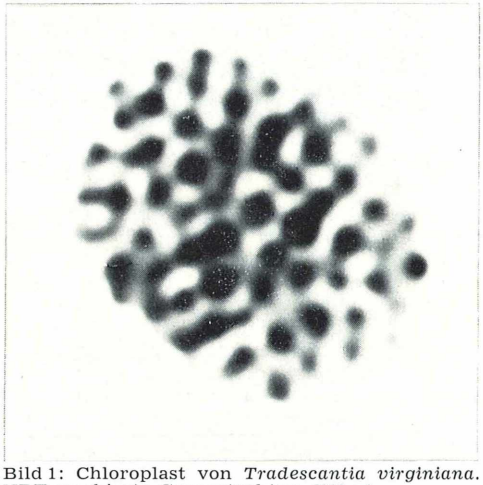


Bild 1: Chloroplast von *Tradescantia virginiana*. NBT-markierte Granastruktur. 6000 : 1.

Bild 2: Chloroplast von *Tradescantia virginiana*. TNBT-markiert. 8000 : 1.



© Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag http://www.elsevier.de/

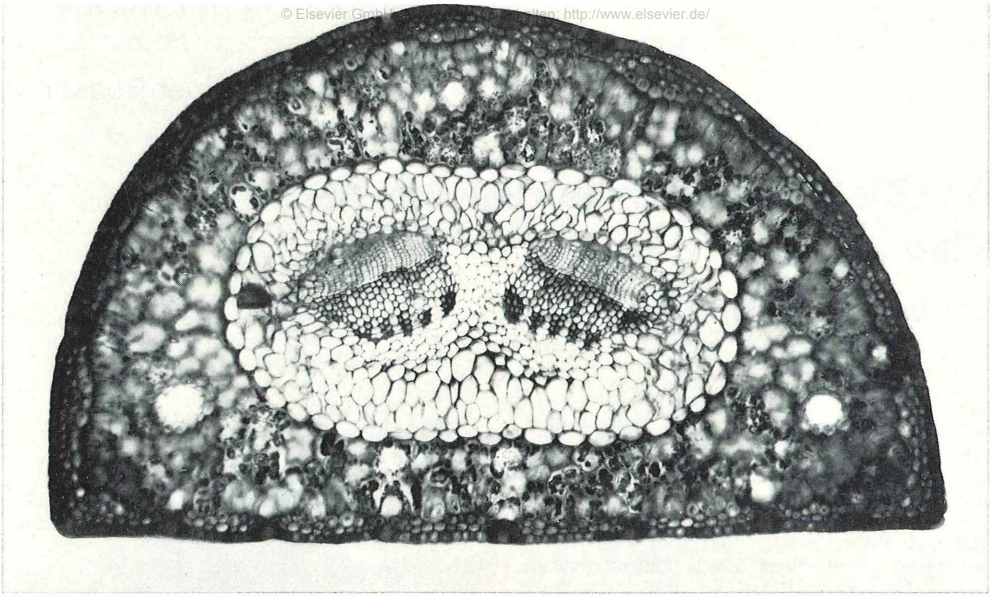


Bild 3: *Pinus nigra*, Nadel quer. Handschnitt, NBT-behandelt, nach Gegenfärbung in Kunstharz eingeschlossen. Im Mesophyll geschwärzte Chloroplasten.

phat (ATP = Adenosintriphosphat, ADP = Adenosindiphosphat). ATP ist für die Zelle der universelle Energielieferant.

Alle anderen Vorgänge der Assimilation sind lichtunabhängig und werden daher als Dunkelreaktion bezeichnet. Diese Dunkelreaktion, bei der letzten Endes in komplizierten Reaktionsfolgen CO_2 zu Zucker und anderen Syntheseprodukten reduziert wird, wurde von Calvin und seinen Mitarbeitern erforscht (Nobelpreis 1961). Der Fortschritt der Forschung auf diesem Gebiet ist dadurch gekennzeichnet, daß man heute bereits die Abweichungen vom Calvinzyklus gründlicher untersucht als den Calvinzyklus selbst. Dagegen ist die Erforschung der Lichtreaktion, die nach dem oben Gesagten Voraussetzung für den Ablauf von Dunkelreaktionen darstellt, noch immer Gegenstand unterschiedlichster Auffassungen und im Detail ungeklärt.

Wir können das Experiment von Hill mit modernen Hilfsmitteln auch unter mikroskopischer Kontrolle nachvollziehen. Dazu benötigen wir folgende Lösung:

0,06 molarer Phosphatpuffer aus KH_2PO_4 und Na_2HPO_4 eingestellt auf pH 6,2. Die Molarität bezieht sich auf das Phosphation, das Verhältnis von K^+ zu Na^+ ist nicht sonderlich kritisch. Es sollten jedoch beide Ionen wegen der Bedeutung des Ionengleichgewichtes vorhanden sein. Dabei sollte die K^+-Konzentration größer als die Na^+-Konzentration sein. Diesem Puffer wird Rohrzucker zur Erhaltung des Osmosegleichgewichtes bis zu einer Konzentration von 0,25 Mol/l zugefügt. Anschließend wird 1 mg para-Nitroblautetrazoliumchlorid (abgekürzt NBT) je ml Lösung hinzugefügt (s. auch Bild 7). Zweckmäßig werden etwa 20 ml dieser Lösung hergestellt und im Kühlschrank steril aufbewahrt.

Statt NBT kann mit demselben Erfolg TNBT (Tetranitroblautetrazoliumchlorid) verwendet werden, das allerdings etwas teurer ist. Mit anderen Tetrazoliumsalzen erhielt ich weniger gute oder keine Reaktion.

Mit einer unbenutzten (!) Rasierklinge stellen wir dünne Handschnitte von Blättern her, die am besten zuvor in Holundermark eingeklemmt werden, und übertragen sie auf einen Objektträger, auf dem wir zuvor einige Tropfen unserer NBT-Lösung aufgetragen haben. Wir müssen dafür sorgen, daß die Schnitte untertauchen. Evtl. kann es erforderlich sein, die Schnitte mit einer Wasserstrahlpumpe in der Reagenzlösung zu entlüften. Die Schnitte werden etwa 15 Min. im Dunklen inkubiert (kein direktes Sonnenlicht; Lichtstärken bis etwa 200 lux sind ohne Nachteil), dann wird ein Deckglas aufgelegt und im Mikroskop mit Grünlicht betrachtet. Nach Möglichkeit sollte hierzu Köhlersche Beleuchtung eingestellt sein, die Leuchtfeldblende sollte auf einen Teil des Bildfeldes eingeengt, ein Wärmeschutzfilter sollte im Strahlengang eingebaut sein. Als Grünfilter ist z. B. Zeiss VG 9 geeignet. Nach Einstellung eines

geeigneten Objektfeldes wird das Grünfilter entfernt und mit hoher Lichtstärke beleuchtet. Da die erreichbaren Lichtstärken mit Niedervoltlampen oft augenschädlich sind, wird in das Okular ein Lichtdämpfungsfilter eingelegt, oder die Beobachtung erfolgt erst nach Herabsetzen der Beleuchtungsstärke. Soweit keine hohen Diffusionswiderstände vorliegen, werden sich die Chloroplasten nach etwa 1—2 Minuten im ausgeleuchteten Bildfeld geschwärzt haben. Der Versuch läßt sich beliebig oft unter Variation der Lichtstärke, der Lichtfarbe etc. wiederholen. Grünes Licht liefert kaum eine Reaktion, da es am geringsten absorbiert wird. Bei ausreichend hoher NBT-Konzentration und Lichtstärke schwärzen sich nur die Grana im Chloroplasten, bei suboptimalen Verhältnissen schwärzt sich dagegen der ganze Chloroplast. Das als Hill-Reagenz fungierende NBT wird nämlich durch den Chloroplasten reduziert und liefert ein nur wenig lösliches Formazan. Bei entsprechend hoher Konzentration des gebildeten Formazans wird das Löslichkeitsprodukt bereits am Bildungsort überschritten. Wir erhalten somit Evidenz dafür, daß die Chloroplastengrana die eigentlichen Reduktionsorte sind. Nicht alle Pflanzen sind gleich gut geeignet, bei manchen Arten bestehen starke Diffusionsbarrieren. Einkeimblättrige liefern meist gute Ergebnisse. Wegen des hohen Kontrastes der Färbung kann das Auflösungsvermögen des Lichtmikroskopes (bei subjektiver Betrachtung mit Ölimmersion 2000fache Vergrößerung) voll ausgeschöpft werden, da die Optimalbedingungen der Abbeschen Beugungsformel erreicht werden.

Bild 1 zeigt einen Chloroplasten von *Tradescantia virginiana* bei etwa 6000facher Vergrößerung nach NBT-Markierung, Bild 2 desgl. nach TNBT-Markierung bei etwa 8000facher Vergrößerung. Interessant ist (deshalb auch die Überschreitung der erforderlichen Vergrößerung), daß die Grana durch markierte Brücken verbunden sind. Zur Zeit ist nämlich umstritten, ob die Reduktion ausschließlich auf die Granathylakoide begrenzt ist oder auch in den Stromathylakoiden stattfindet. Die fotografischen Belege vermitteln zwischen beiden Auffassungen. Von den Handschnitten lassen sich in üblicher Weise Dauerpräparate herstellen, die in Kunstharz eingebettet werden (Entwässerung über Isopropylalkohol, einige org. Lösungsmittel lösen Formazane). Bild 3 zeigt ein so hergestelltes Dauerpräparat eines Handschnittes der Nadel von *Pinus nigra* (Gegenfärbung mit Astrablau-Fuchsin). Das Mesophyll erscheint dunkel gefärbt. Soweit die Zellen in der Schärfenebene liegen, erkennt man die geschwärzten Chloroplasten. Bild 4 zeigt einen Ausschnitt aus diesem Präparat als fotografisches Negativ. Unter der versenkten Spaltöffnung liegen die für die Gattung *Pinus* charakteristische V-förmige Zelle und die gelappten sonstigen Mesophyllzellen. Die geschwärzten Chloroplasten leuchten im Negativ hell auf. Für den Pflanzenanatomen interessant ist bei dieser Präparatstelle, daß die Septen der Zellwände hier vorwiegend als Zellwandeinstülpungen erscheinen.

Wenn wir unsere Experimente ausbauen wollen, müssen wir zur Theorie zurückkehren, die aber hier durchaus nicht grau ist, sondern eine nahezu unerschöpfliche Quelle für experimentelle Ideen darstellt. Aus Platzgründen muß jedoch vorausgesetzt werden, daß Begriffe wie „Redoxpotential" und der Stoff der „Allgemeinen Botanik" in Grundzügen bekannt sind (s. Nultsch: Allgemeine Botanik. Thieme-Verlag).

Durch die Untersuchungen von Emerson wurde klar, daß zwei lichtabhängige Elektronentransportsysteme in den Chloroplasten höherer Pflanzen vorhanden sind. Jedes der lichtabhängigen Elektronentransportsysteme besteht u. a. aus einer großen Zahl von Chlorophyll a- und b-, Karotin- und Xantophyllmolekülen. Durch Licht wird in diesen Farbstoffen ein Elektron auf ein höheres Energieniveau gehoben (s. Lehrbücher der Quantenmechanik, Photochemie). Durch sensibilisierte Fluoreszenz wird die Energie mit einer Halbwertszeit von etwa 10^{-9} sec. auf benachbarte Moleküle übertragen. Diskutiert wird ein Halb-

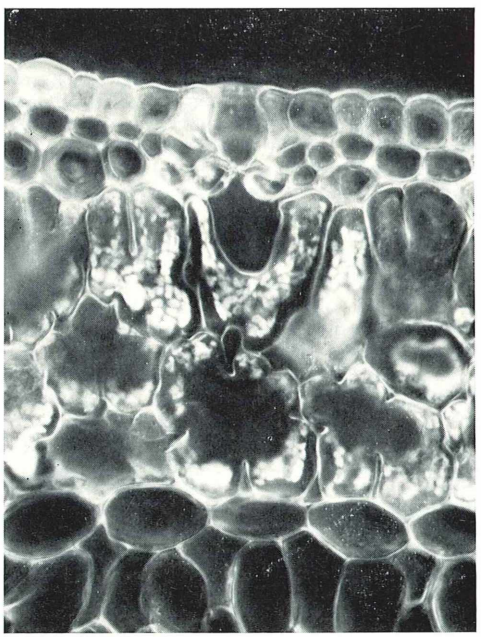


Bild 4: Detail aus Bild 3, Peripherie unter einer Spaltöffnung. Fotografisches Negativ.

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

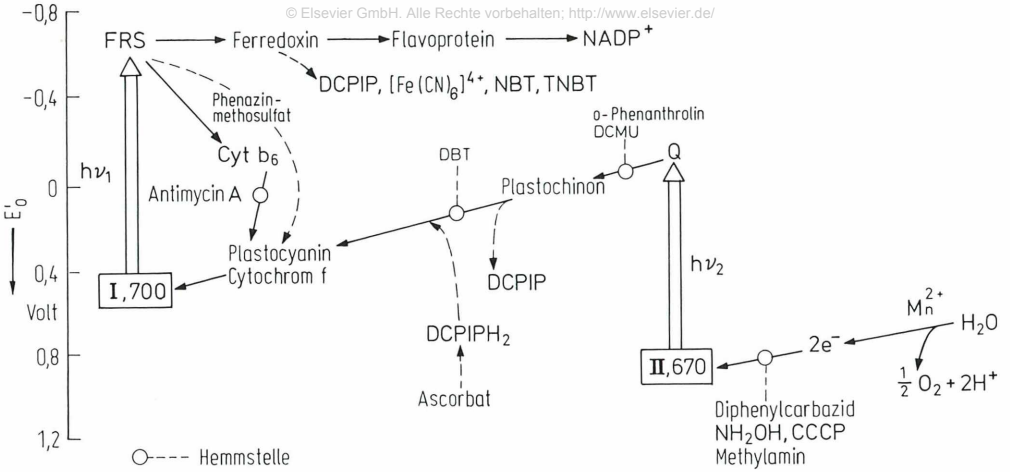
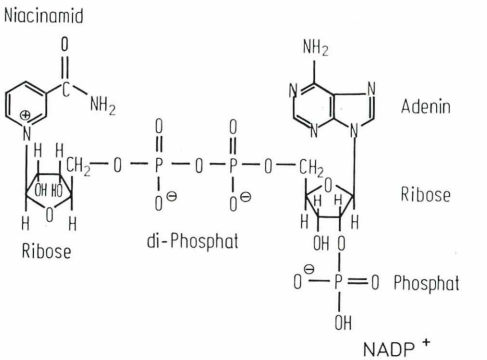


Bild 5: Die Pfeile geben die Richtung des Elektronentransportes an. Unphysiologische Reaktionswege sind gestrichelt dargestellt. Abk.: DCPIP = Dichlorphenolindophenol, DCMU = Dichlorphenyldimethylharnstoff, DBT = Dibromthymochinon, CCCP = Carbonylcyanid-m-chlorphenylhydrazon, FRS = Ferredoxin-reduzierende Substanz.

leitermechanismus, bei dem die Energieniveaus zu Bändern entarten und rasche Fortleitung der Energie zu einem zentralen Chlorophyll a-Molekül erfolgt. Im Pigmentsystem II kann das zentrale Chlorophyll a-Molekül nach Energieanhebung (erforderlich ist Licht mit einer Wellenlänge < 670 nm) dem Wasser unter Vermittlung von Mn^{2+}-Ionen und weiterer unbekannter Substanzen Elektronen entreißen (erforderliches Redoxpotential etwa $+0{,}8$ V), die wahrscheinlich unbesetzte Niveaus wieder auffüllen, während das angehobene Elektron auf einen noch nicht sicher identifizierten Acceptor übertragen wird (E_0' ca. 0 Volt, Bild 5). Nunmehr läuft das Elektron wieder energetisch in mehreren Redoxreaktionen bergab. Sicher bekannt ist dabei das Plastochinonsystem. Beim Plastocyanin und Cytochrom f gibt es widersprüchliche Ergebnisse über die Reihenfolge. Von letzteren Substanzen gelangt das Elektron auf das Pigmentsystem I (E_0' ca. $+$ 0,45 V) und wird erneut durch Lichteinstrahlung (erforderlich ist Licht mit einer Wellenlänge < 700 nm) auf eine höhere Energie ($E_0' < -0{,}45$ V) angehoben.

Hier wird nun FRS reduziert, dies reduziert wiederum das Ferroprotein Ferrodoxin. Ferrodoxin kann verschiedene Hillreagenzien reduzieren und auch — wahrscheinlich unter Vermittlung über ein Flavoprotein — $NADP^+$ zu NADPH reduzieren, wozu zwei Elektronen und ein Proton erforderlich sind (Bild 6). Der ganze Reaktionsablauf wird nichtcyclischer Elektronentransport genannt. Daneben existiert ein cyclischer Elektronentransport, bei dem nur das Pigmentsystem I beteiligt ist. Die angehobenen Elektronen werden über Cytochrom b6, Plastocyanin oder (und ?) Cytochrom f wieder dem oxidierten Pigmentsystem I zugeführt und sind einer neuen lichtabhängigen Energieanhebung zugänglich. Es wird dabei im Effekt keine Substanz reduziert



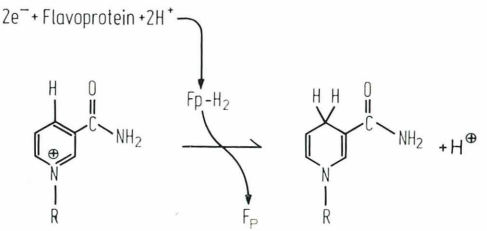
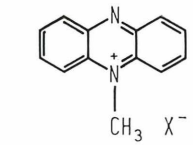


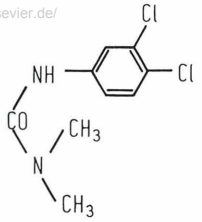
Bild 6 (oben): $NADP^+$ besteht aus Nicotinsäureamid (Niacinamid), das N-glykosidisch mit dem Pentosezucker Ribose verbunden ist. Eine di-Phosphatbrücke bildet eine Verbindung zu einem weiteren Riboserest, der wiederum N-glykosidisch mit Adenin verbunden ist und bei $NADP^+$ zusätzlich einen Phosphatrest in 2′ Stellung trägt.
Unten: Reduktion von $NADP^+$: $NADP^+$ übernimmt ein Hydridion in para-Stellung zum Stickstoff. Ein Proton wird dabei freigesetzt. Als Hydridion und Protondonator wird hier ein Flavoprotein angenommen.

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

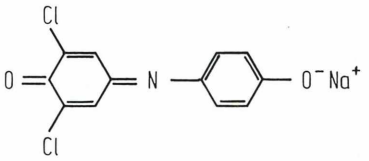
Bild 7: Strukturformel einiger im Text genannter Verbindungen.



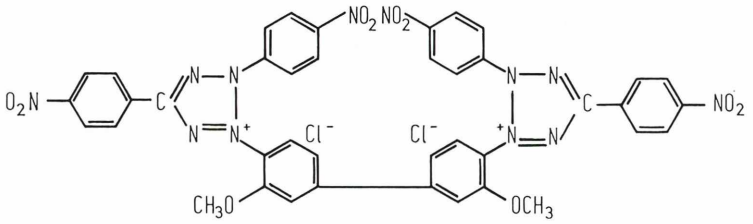
Phenazinmethosulfat (PMS)



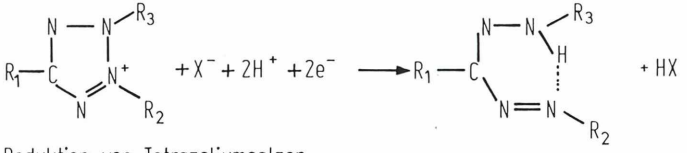
Dichlorphenyldimethylharnstoff (DCMU)



Dichlorphenolindophenol (DCPIP) — mesomere Grenzformel



Tetranitroblautetrazoliumchlorid



Reduktion von Tetrazoliumsalzen

oder oxidiert, da das Elektron einen Zyklus durchläuft; jedoch wird Energie in Form von ATP gespeichert (cyclische Phosphorylierung). Auch bei dem nichtcyclischen Elektronentransport soll mindestens ein ATP je transportiertem Elektron gewonnen werden.

Für unsere Untersuchungen besonders interessant sind unphysiologische Substanzen (Bild 7), die das Elektronentransportsystem beeinflussen. Als solche haben wir bereits die Hillreagenzien als Endelektronenakzeptoren kennengelernt.

Phenazinmethosulfat (PMS) kann Elektronen von FRS übernehmen und in unbekannter Weise in den cyclischen Elektronentransport einschleusen. Dabei soll auch ATP gebildet werden. Für unsere Versuche mit NBT bedeutet das, daß PMS mit NBT um die Elektronen konkurriert und daher die NBT-Reduktion reversibel hemmen sollte. Dies ist tatsächlich der Fall. Wir stellen eine PMS-Lösung her (etwa 1 mg/ml) und fügen unserem NBT-Präparat vor Belichtung einen Tropfen zu. Nach guter Mischung und 15 Min. Dunkelinkubation belichten wir. Bei schwacher Belichtung bleibt jede NBT-Reduktion aus, erst bei sehr intensiver Beleuchtung werden die Elektronen so häufig im Pigmentsystem I angehoben, daß einige nicht mehr schnell genug vom PMS reduziert werden können und zum Ferrodoxin gelangen. Außerdem wird PMS schnell durch Licht abgebaut. Wir stellen dabei fest, daß die Chloroplasten schwach graue Färbung annehmen. Nun verdünnen wir PMS durch Auswaschen mit NBT-Reagenz, lassen erneut 15 Min. im Dunklen inkubieren und stellen bei Beleuchtung fest, daß die alte Reaktivität wieder völlig hergestellt ist.

Dichlorindophenol (DCPIP) entzieht Elektronen hinter dem Plastochinon. DCPIP-Zugabe hemmt daher genauso wie PMS. Reduzieren wir DCPIP jedoch mit Ascorbat, so kann das gebildete DCPIPH_2 andererseits Elektronen einschleusen. Die Reaktion läuft erneut mit hoher Geschwindigkeit ab. Ascorbat wird dabei in etwa 10^{-2}-molarer Lösung eingesetzt, DCPIP in

schwach blauer Lösung (unter 10^{-3} M). Variation der Konzentrationen und Herausverdünnen liefern weitere instruktive Experimente.
DCMU hemmt schon in Konzentrationen von 10^{-7} Molar an. Wie das Diagramm vermuten läßt, ist die Hemmung durch Zugabe von Ascorbat + DCPIP aufhebbar. Für unsere Experimente verwenden wir eine etwa 5×10^{-5} M DCMU-Lösung. Die zweckmäßigen Konzentrationen von Ascorbat und DCPIP bedürfen der jeweiligen Erprobung. Zweckmäßigerweise verwendet man etwas konzentrierte Stammlösungen und setzt den NBT-inkubierten Präparaten nur kleine Mengen hinzu. Bei DCMU begrenzt die schlechte Löslichkeit dieser Substanz die mögliche Konzentration nach oben. Ausprobieren führt sicher zum Erfolg. Auf die Wiedergabe eines zum Mißerfolg führenden Kochrezeptes wird hier verzichtet. Anders wäre das, wenn wir die Versuche für quantitative Zwecke standardisieren müßten. Dies ist zwar mit gutem Erfolg möglich, überschreitet aber die diesem Aufsatz gesteckten Grenzen.
Mit NBT lassen sich histochemisch C-4-Pflanzen identifizieren. C-4-Pflanzen verfügen über einen stark abweichenden Mechanismus der CO_2-Fixierung. Primär entstehen C-4-Dicarbonsäuren. Die CO_2-Assimilation verläuft zweistufig in verschiedenen Reaktionsräumen, den Mesophyllzellen mit normalen Chloroplasten und komplettem Elektronentransportsystem und den Gefäßbündel-Scheidenzellen mit großen Chloroplasten, denen das Pigmentsystem II weitgehend fehlt. Dementsprechend reagieren die Gefäßbündel-Scheidenchloroplasten erst mit NBT-Reagenz, wenn DCPIP und Ascorbat hinzugegeben werden.
Ein weiterer Aufsatz soll sich mit folgenden Themen beschäftigen: eine einfache Methode zur Isolierung von Chloroplasten, Untersuchungen an isolierten Chloroplasten mit DCPIP und NBT als Hillreagenz, Herstellung eines künstlichen lichtabhängigen Elektronentransportsystems als Modellversuch, energetische Perspektiven.
Herrn Dr. Kremer, Bot. Institut der Universität Köln, danke ich für die Information über die TNBT-Methode und die Anwendung insbesondere bei C-4-Pflanzen.
Alle bei den Versuchen genannten Chemikalien sind bei Serva Feinbiochemica, Postfach 10 52 60, 6900 Heidelberg 1, erhältlich. Wegen des geringen Bedarfes bei histochemischen Untersuchungen genügen die kleinsten Packungsgrößen.

Verfasser: Kurt-Rainer Roeser, Luisenstr. 20 A, 5014 Kerpen.

Zur Einführung in die Mikroskopie

Helmut Thaler

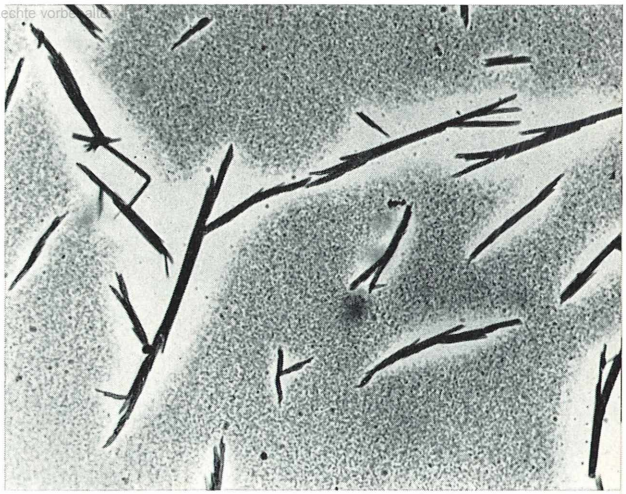
Mikrosublimation von Farbstoffen II

Im vorhergehenden Teil * war die Technik der Mikrosublimation unter einigermaßen genauer Temperaturkontrolle und die Herstellung von Dauerpräparaten solcher Sublimate errötert worden. An Hand einer Reihe von Mikroaufnahmen wurde zudem eine Reihe von Kristallformen verschiedenster Art beschrieben, wie man sie häufig bei der Sublimation von Fettfarbstoffen erhält.
Man darf aber nun nicht erwarten, bei wiederholten Versuchen mit ein und derselben Substanz stets das gleiche Bild zu erhalten. Dazu sind die Versuchsbedingungen — trotz der Kontrolle der Temperatur — im allgemeinen zu wenig exakt reproduzierbar. Bei der Kristallisation aus der Dampfphase spielen die verschiedensten Faktoren, wie die Menge des Farbstoffs und seine Konzentration im Dampfraum, mehr oder weniger gute Kühlung des Deckglases sowie die Beschaffenheit seiner Oberfläche, das Tempo der Erhitzung usw. eine große Rolle. Als Beispiel seien einige Versuche angeführt: Beim langsamen Sublimieren von Sudan III erhielt man lange, ziemlich breite Nadeln (s. Bild 3 im 1. Teil). Bei raschem Erhitzen, wobei die Probe in die Vertiefung des bereits auf die Sublima-

* Der erste Teil dieser Arbeit erschien in Mikrokosmos 66, H. 5, 158—162, 1977.

Bild 2: Sudan R, rasch sublimiert, 150° C, in Luft, Obj. 40×, karminrot.

Bild 3: Ceresrot III, rasch sublimiert, 165° C, in Luft, Obj. 40×, bläulichrot.



tionstemperatur von 190° C angeheizten Blockes eingebracht und sofort mit dem schon mit einem großen Wassertropfen versehenen Deckglas bedeckt worden war, bildeten sich winzige, fast punktförmige Kriställchen und hier und da große, fächerförmig verwachsene Nadeln (Bild 1). Besonders bezeichnend war dabei, daß diese stets von einem Hof umgeben waren, in dem sich nicht die kleinste Spur von Kriställchen fand. Der Farbstoffdampf wurde demnach innerhalb eines gewissen Bereichs ausschließlich zur Bildung der großen Kristallfächer verbraucht. Ähnliches konnte man auch bei Sudan R beobachten. Wurde der Metallblock auf 150° C vorerhitzt und dann erst der Farbstoff zugegeben, so er-

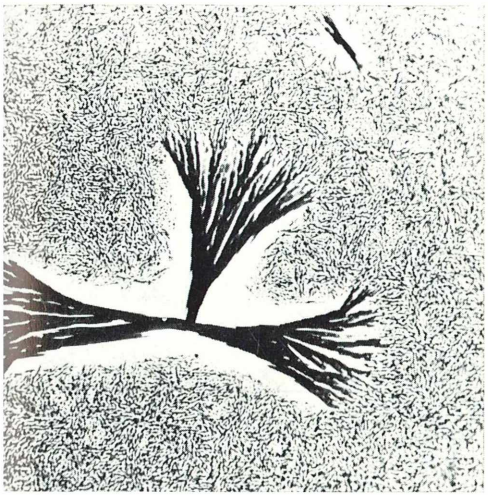
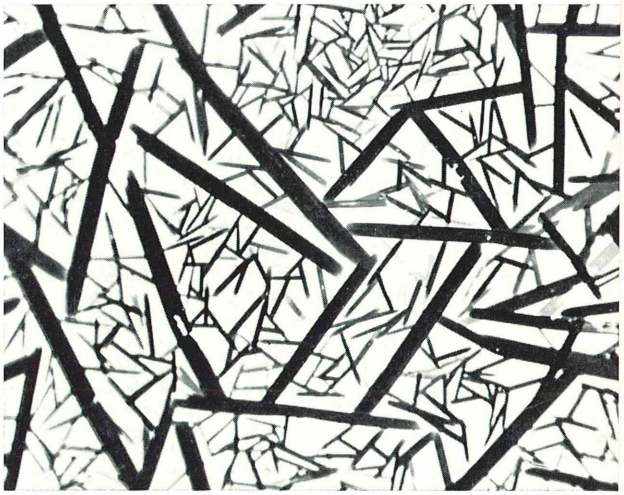


Bild 1: Sudan III, rasch sublimiert, 190—200° C, in Luft, Obj. 40×, karminrot.



hielt man lange, von einem breiten freien Hof umgebene Nadeln (Bild 2). Ceresrot lieferte, bei 165° C rasch sublimiert, eine Art Netzwerk von kräftigen Nadeln, dessen Maschen viele kleine Kristallnädelchen umschlossen (Bild 3).

Den Einfluß geringer Differenzen der Dampfkonzentration u. dgl. innerhalb des vom Deckglas verschlossenen „Sublimationsraumes" kann man unter Umständen schon in ein und demselben Präparat erkennen. Nicht selten herrschen am Rande des sich am Deckglas ansetzenden Sublimats etwas andere Bedingungen als in dessen Mitte. So bestand der größte Teil eines Sublimats von Oil Red XO (Azokomponente m-Xylidin, s. unten) aus eigenarti-

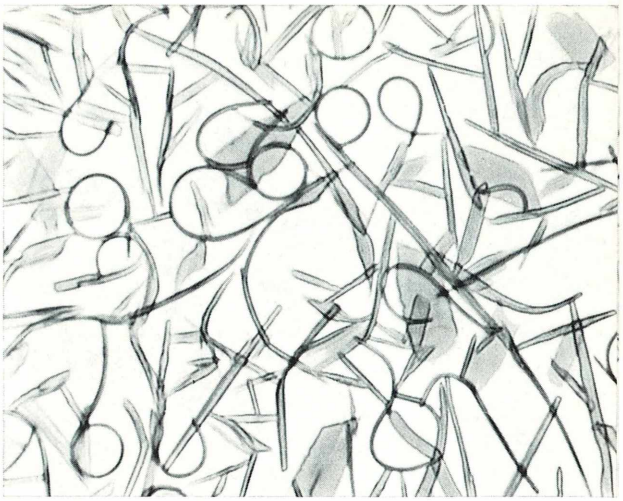


Bild 4: Oil Red XO (m-Xylidin), 140° C, in Glyceringelatine, Obj. 40×, orangegelb.

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

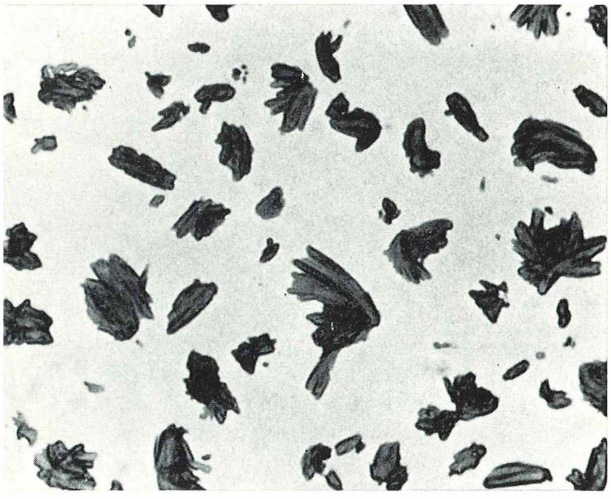


Bild 5: Oil Red XO (m-Xylidin), 140° C, in Glyceringelatine, Obj. 63×, orangegelb.

gen, zum Teil stark gekrümmt erscheinenden Nadeln oder Plättchen (Bild 4), während eine ziemlich breite Randzone kurze, gedrungene und deutlich strahlige Kristallkörner aufwies (Bild 5). Sudangelb lieferte, bei 160° C sublimiert, rundliche Kristalldrusen mit nach allen Seiten starrenden dünnen Nadeln (Bild 6). An einer Stelle des Randes aber hatten sich Girlanden-förmige Anordnungen aus größeren derben Kristallen gebildet (s. Bild 9 im 1. Teil). Ganz besonders reizende Formen traten bei einem Versuch mit Oil Red XO (Azokomponente p-Xylidin, s. unten) auf. Am Rande des Sublimationsfeldes waren zierliche Fächer und Wedel entstanden, die geradezu an Jugendstil-Ornamente erinnerten (Bild 7). Selbst geringfügige Unterschiede im chemischen Aufbau zweier Farbstoffe machen sich nicht selten recht deutlich bemerkbar. So unterscheiden sich Oil Yellow AB und Oil Yellow OB nur dadurch, daß das letztere eine Methylgruppe mehr besitzt [1]. Das erstere lieferte sublimiert Ketten von aneinander hängenden kurzen Kristallen, an denen noch lange dünne Nadeln saßen, ähnlich wie Stacheln an einem Distelblatt (Bild 8), das letztere kleine, einzelne Plättchen (s. Bild 2 im 1. Teil). Sogar bei Farbstoffen, die die gleiche Formel haben und sich nur durch die Stellung eines Substituenten unterscheiden, also „Isomere" sind, kann man unter Umständen Unterschiede in der Kristallbildung beim Sublimieren beobachten. So wird Oil Red XO gewöhnlich aus technisch reinem Xylidin durch Diazotieren und darauf folgende Reaktion der Diazoverbindung mit β-Naphthol hergestellt. Das technische Xylidin ist aber ein Gemisch aus o- und überwiegend m-Xylidin, so daß das Oil Red XO eigentlich aus

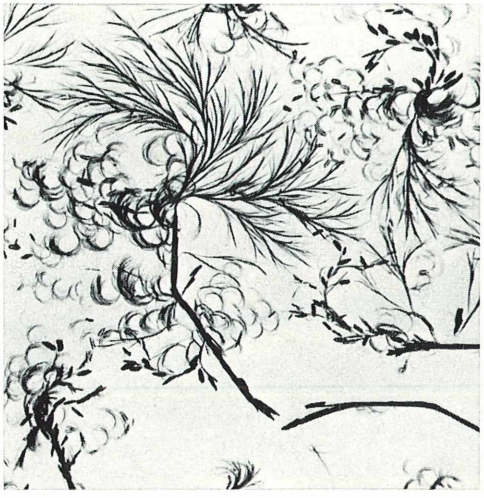


Bild 7: Oil Red XO (p-Xylidin), 135° C, in Glyceringelatine, Obj. 40×, orangegelb.

zwei isomeren Farbstoffen besteht. Diazotiert man nun reines m- bzw. p-Xylidin (o-Xylidin stand seinerzeit nicht zur Verfügung), so erhält man nach dem „Kuppeln" mit β-Naphthol zwei Farbstoffe, die in sich einheitlich sind und jeder für sich allein ein „Oil Red XO" darstellen. Beim Sublimieren lieferte die m-Xylidin-Verbindung breite Plättchen, die zum Teil sonderbar gekrümmt erschienen (Bild 4), die p-Xylidin-Verbindung dagegen schmale, manchmal zu breiteren Tafeln vereinigte Plättchen (Bild 9).

Gemische von zwei sublimierbaren Farbstoffen lassen sich wohl kaum einwandfrei trennen. Liegen die Sublimationstempera-

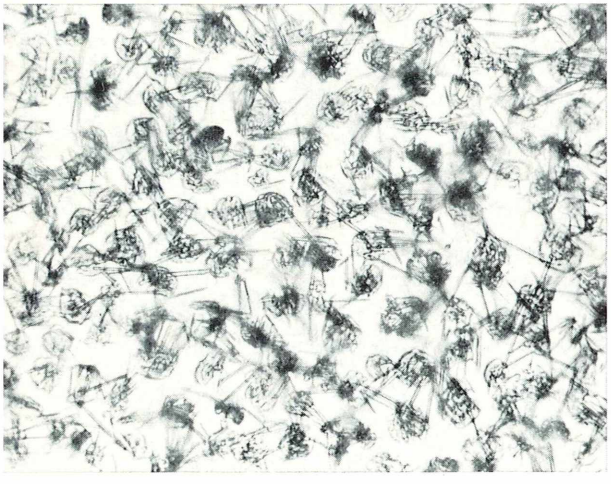


Bild 6: Sudangelb, 160° C, in Luft, Obj. 40×, schwefelgelb.

Bild 8: Oil Yellow AB, 160° C, in Luft, Obj. 40×, rötlichgelb.



turen der Bestandteile der Mischung nahe beieinander, so sublimieren die beiden Farbstoffe gemeinsam, wobei in der Regel aber jeder für sich kristallisiert. Sind die Sublimationstemperaturen jedoch sehr verschieden, so erhält man natürlich zuerst die leichter flüchtige Komponente, muß aber damit rechnen, daß auch ein Teil der schwerer sublimierbaren Verbindung sich am Deckglas niederschlägt, da sie wahrscheinlich ebenfalls schon einen gewissen Dampfdruck besitzt. Bei einem Versuch mit einer Mischung aus Sudangelb (Sublimationstemperatur 160° C) und Sudanorange (Sublimationstemperatur 125° C) bekam man bei 125° C neben den dünnen langen orangeroten Nadeln des Sudanorange auch bereits hell schwefelgelbe Prismen des Sudangelb (Bild 10).

Die hier besprochenen Farbstoffe stellen nur eine kleine Auswahl aus der großen

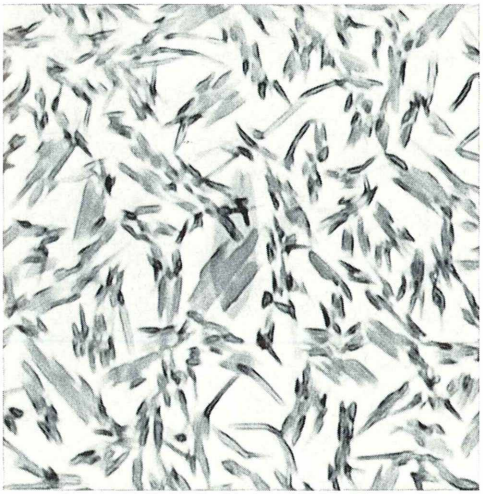


Bild 9: Oil Red XO (p-Xylidin), 135° C, in Glyceringelatine, Obj. 40×, orangegelb.

Zahl sublimierbarer organischer Stoffe dar. Nachdem es sich bei den im ersten Teil dieses Aufsatzes erwähnten, in den Jahren 1951—1952 durchgeführten Untersuchungen um den Nachweis einer künstlichen Färbung von Speisefetten gehandelt hatte, waren nur rote, orangefarbene und gelbe Farbstoffe berücksichtigt worden. (Im übrigen ist durch das neue Lebensmittelgesetz von 1952 bzw. seine Folgeverordnungen und durch die Neufassung von 1969 das Färben von Speisefetten, Margarine

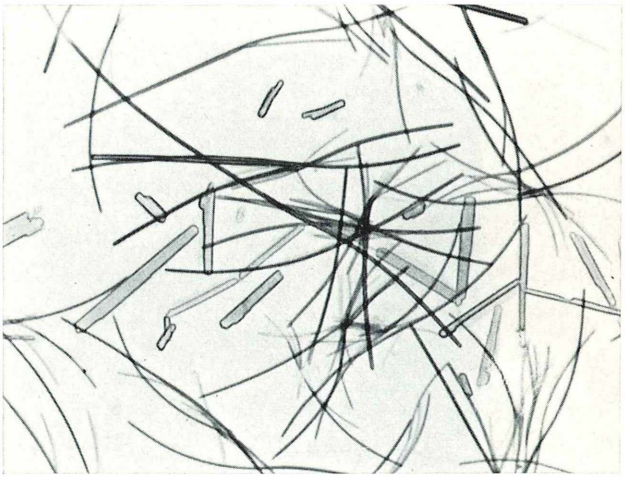
Bild 10: Sudangelb + Sudanorange zusammen sublimiert, 125° C, in Glyceringelatine, Obj. 63×, dünne Nadeln (Sudanorange) orangerot, Prismen (Sudangelb) schwefelgelb.

usw. mit Teerfarbstoffen grundsätzlich verboten.) Es existieren aber Sudanfarbstoffe auch in anderen Farben wie Grün, Blau, Violett und Schwarz, die vermutlich ebenfalls sublimierbar sind und die Palette vergrößern. Dazu käme noch eine große Zahl von Anthrachinon- und Indanthren-Derivaten sowie der oben erwähnte Indigo. Für Interessenten ist also hier reichlich Abwechslung vorhanden. Die Bilder, die nur die Schönheit der Formen, aber nicht jene der Farben zeigen können, sollen nur eine Andeutung davon geben, welche Vielfalt von Erscheinungen zu erwarten ist.

Erläuterung:

[1] Oil Yellow AB ist Anilin-azo → β-Naphthylamin, Oil Yellow OB aber o-Toluidin-azo → β-Naphthylamin.

Verfasser: o. Professor em. Dr. H. Thaler, Eitelbrodstr. 3 a, D-3300 Braunschweig.



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

Heinz Schneider

Volvox aureus-Kolonien mit Tochterkugeln und Eizellen

Volvox-Wimperkugeln leben in stehenden, nährstoffreichen Gewässern. Da sie verhältnismäßig große Plankter sind und weil sie meist in sehr großen Individuenmengen auftreten, eignen sie sich besonders gut für vielerlei Beobachtungen und Untersuchungen.

Im Probeglas erkennt man die 1/2 bis 1 1/2 mm großen *Volvox*-Kolonien meist schon mit dem bloßen Auge, ganz sicher aber mit der Lupe als grüne, freibewegliche Kugeln. Den Feinbau einer solchen Kugel enthüllt das Mikroskop: Viele kleine Einzelzellen, die durch Plasmabrücken miteinander verbunden sind, bilden mit ihren Gallerthüllen die Wandschicht der Kugel. Diese Wand wird außen von einer Grenzlamelle aus fester Gallerte umschlossen; das Kugelinnere enthält Gallerte von wäßriger Beschaffenheit. Die Zellen haben muldenförmige Chloroplasten, einen roten „Augenfleck", pulsierende Vakuolen und je zwei Geißeln, die durch feine Öffnungen der Grenzlamelle ins freie Wasser hinausragen. Weitaus die meisten dieser Zellen sind vegetative, d. h. nicht mehr teilungsfähige Körperzellen. Außerdem finden sich in den Kolonien auch reproduktive Zellen, aus denen bei ungeschlechtlicher Vermehrung Tochterkugeln, bei geschlechtlicher Fortpflanzung Eier bzw. Spermienplatten hervorgehen.

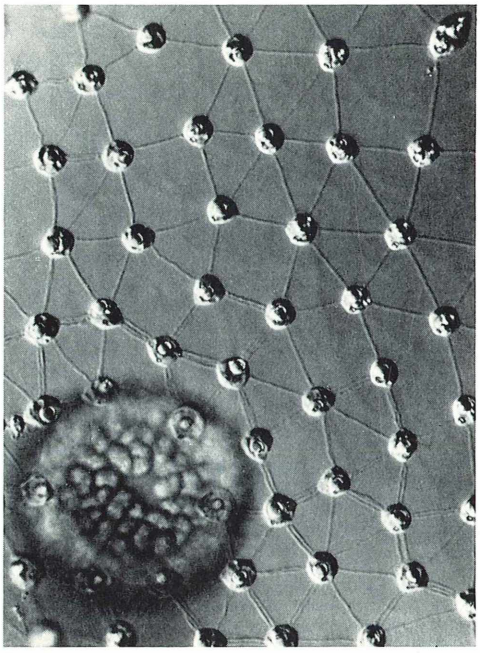


Bild 2: Bei *Volvox aureus* bestehen die Brücken aus dünnen Plasmafäden oder Fadenbündeln. Die Gallerthüllen der einzelnen Zellen sind nur unmittelbar unter der Grenzlamelle voneinander getrennt und fließen dann ineinander. Ihre Grenzen sind im ungefärbten Präparat daher kaum wahrnehmbar.

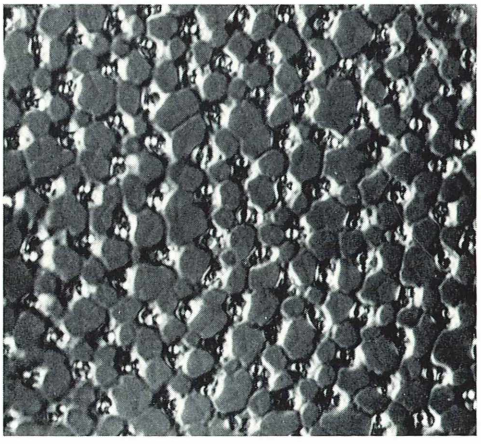


Bild 1: Die in Draufsicht unregelmäßig sternförmig erscheinenden Zellen von *Volvox globator* sind durch breite Plasmabrücken miteinander verbunden. Da die Gallerthüllen der Zellen nicht ineinanderfließen, sind ihre Grenzen im Präparat deutlich sichtbar.

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

Art	*Volvox globator*	*Volvox aureus*
Zahl der Zellen	500—20 000 durchschnittl. ca. 10 000	200—1 000 durchschnittl. ca. 500
Zellgröße	3—5 µm	5—9 µm
Zellform	in Seitenansicht kegelförmig; in Draufsicht unregelmäßig sternförmig	in Seitenansicht halbkreis- bis birnenförmig; in Draufsicht rundlich
Plasmabrücken	dicke Plasmabrücken, viel kräftiger als Geißeln	zarte Fäden oder Fadenbündel, etwa so stark wie Geißeln
Grenzen der Gallerthüllen der Einzelzellen	schon im Lebendpräparat als Grenzen vieleckiger Felder sichtbar	undeutlich, erst nach Färbung mehr hervortretend
Geschlechtliche Kolonien	einhäusig (meist erstmännlich)	zweihäusig
Zygoten	mit warziger Oberfläche; im mikroskop. Bild ± sternförmig	glatt und rund

Das Umschlagbild zeigt in der Mitte oben zwei geschlechtliche Kolonien, von denen die eine intensiv grüne Eier, die andere infolge Haematochromeinlagerung sich rötlichbraun verfärbende Zygoten (= befruchtete Eizellen) enthält. Alle übrigen abgebildeten Individuen sind ungeschlechtlich; sie enthalten angehende Tochterkugeln unterschiedlicher Entwicklungsstadien. Die Anordnung der Eizellen, Zygoten und Tochterindividuen in den Kolonien zeigt, daß die Fortpflanzungszellen nicht wahllos verteilt zwischen den vegetativen Zellen liegen, sondern ganz deutlich einer Kugelhälfte zugeordnet sind. Beobachtet man frei schwimmende Kugeln, so wird deutlich, daß diese die reproduktiven Zellen enthaltende Hälfte das Hinterende der Kolonie ist. *Volvox* bewegt sich nämlich unter ständiger Drehung um die eigene Achse so vorwärts, daß stets ein- und derselbe Koloniepol — nämlich der von Fortpflanzungszellen bzw. -stadien freie — nach vorn zeigt.

Bei uns kommen zwei gut unterscheidbare *Volvox*-Arten vor. Ihre charakteristischen Merkmale sind aus der Tabelle und den beiden Textabbildungen ersichtlich.

Diesen Kriterien zufolge läßt sich die auf dem Umschlagbild dargestellte Art leicht als *Volvox aureus* bestimmen.

Das Farbfoto wurde mit Zeiss-Planachromat 6,3× und KPL-Okular 8× auf Agfachrome-Professional-Film 50 S, 24×36 mm aufgenommen. Beleuchtung: Elektronenblitz 30 WS.; behelfsmäßiges Dunkelfeld, hervorgerufen durch selbsthergestellte Zentralblende.

Verfasser: Prof. Dr. Heinz Schneider, Oberer Steinweg 21, 674 Landau-Godramstein.

Kleine Mitteilungen

Schnellmethode zur Darstellung der Zellkörper von Nervenzellen im Zentralnervensystem von Wirbellosen

Bei der Untersuchung von tierischen Organen zeigt es sich immer wieder, wie wichtig neben Schnittserien auch Totalpräparate sind. Die zunehmende Beschäftigung mit dem Zentralnervensystem der Arthropoden macht es erforderlich, die genaue Anzahl und Lage der Zellkörper in der Zellrinde eines Ganglion zu bestimmen, insbesondere wenn man von bestimmten Zellen Impulse ableiten und die Zellen anschließend durch Injektion eines Farbstoffes oder anderen Kontrastmittels einzeln markieren will. Methylenblau läßt sich nur bei einigen Tierarten zur Färbung von Totalpräparaten des Bauchmarks verwenden und stellt auch dann meist nur eine kleine Anzahl von Zellen dar. Besser ist die hier geschilderte Toluidinblaumethode, die rasch alle Zellen in einem Ganglion aufzeigt. Frisch herauspräparierte Ganglien werden in einem dickeren Uhrglas oder einem Boverischälchen in der Toluidinblaulösung (5 g Toluidinblau O, 30 g Borax [$Na_2B_4O_7 \cdot 10\ H_2O$], 5 g Borsäure [$H_3BO_3$], 500 ml H_2O bidest.; pH: 7,6) gefärbt. Die Färbedauer hängt von der Temperatur und dem Alter der Färbelösung ab, ferner von dem jeweils untersuchten Tier. Als Anhaltspunkt empfiehlt sich

eine Färbezeit von 15—20 min bei 50 °C im Thermostaten bei Verwendung einer ganz frischen Färbelösung, jedoch muß für jede Tierart die optimale Färbedauer selbst herausgefunden werden. Bei zu hoher Temperatur oder bei zu langer Färbedauer wird das Material überfärbt, was man trotz anschließender Differenzierung besser vermeiden sollte. Aus der Färbelösung werden die Objekte direkt in Bodians Fixierlösung Nr. 2 von 1937 (5 ml Formol, 5 ml Eisessig, 90 ml 80-%igen Äthanols) übertragen. Diese Lösung wirkt gleichzeitig auch als Differenzierungsmittel. Während der ersten 5 min sollte sie mehrfach gewechselt werden, bis sie fast farblos bleibt, weil sich aus den Objekten keine Farbe mehr löst. In diesem Stadium erscheinen die Ganglien dunkelblau mit metallischem Glanz. Nun wird unter einer Präparierlupe weiterdifferenziert, bis die Zellkörper deutlich sichtbar sind und die Nervenwurzeln und die zentralen Neuropilemgebiete fast weiß sind. Da auch durch die anschließende Entwässerung etwas Farbe verloren geht, sollte man schon unmittelbar vor Erreichen des gewünschten Erscheinungsbildes die Differenzierung abbrechen. Die Objekte kommen für 10 min in 90%iges Äthanol, für 30 min in zweimal gewechseltes absolutes Äthanol, werden in Methylbenzoat aufgehellt und in neutralisiertem Kanadabalsam eingeschlossen. Ergebnis: Das Cytoplasma der Zellkörper erscheint hellblau, die Kerne erscheinen blaßblau mit sehr dunklen Nucleoli. Vor dem Färben fixiertes Material läßt sich ebenfalls so färben, jedoch schlechter differenzieren als lebensfrisches Material, das vor dem Fixieren gefärbt wurde.

Altman, J. S. and E. M. Bell: A rapid method for the demonstration of nerve cell bodies in invertebrate central nervous systems. Brain Research **63**, 487—489 (1973). Alexander Pareto

Einfaches Verfahren zur Herstellung von Serienschnitten von kleinen Blöcken harten Gewebes

Von hartem, zerbrechlichem Gewebe wie z. B. der Kutikula der Arthropoden lassen sich bei der üblichen Paraffineinbettung nur schwer Serienschnitte anfertigen. Einer der möglichen Auswege ist die sehr zeitraubende Einbettung in Celloidin. Ein anderer Ausweg, das hier beschriebene Verfahren, basiert auf der Einbettung des Gewebes in ein relativ weiches Epoxyd-Harz und dem anschließenden Schneiden in einem Kryostaten, wobei durch entsprechende Regulierung der Temperatur die Härte des umgebenden Epoxyd-Harzes der Härte des eingebetteten Gewebes angepaßt werden kann. Wegen der Schwierigkeiten, mit Epoxyd-Harzen eingebettete Gewebe als Schnitte nachträglich zu färben, ist das Verfahren insbesondere für nach Golgi-Methoden behandelte Objekte, beispielsweise Gehirne von Knochenfischen, von Fliegen, Fliegenrüssel und Abdomina von Heimchen geeignet. Die fixierten, bzw. imprägnierten Gewebeblöckchen mit maximal 10 mm Kantenlänge werden in mehrmals gewechseltem H_2O dest. kurz gewaschen und in einer aufsteigenden Acetonreihe mit 50%igem, 80%igem, 90%igem und mit 3mal gewechseltem 100%igem Aceton jeweils mindestens 20 min oder mehr entwässert. Über Nacht werden die Gewebeblöckchen mit einer Epoxyd-Harz-Aceton-Mischung im Verhältnis 1 : 1 durchtränkt. Das Epoxyd-Harz besteht aus 26 ml Araldit, 34 ml Epon (Epikote 812), 60 ml Dodecenylbernsteinsäureanhydrid, 1,2 ml Tridimethylaminomethylphenol (DMP-30) und 7,5 ml Dibutylphthalat. Nun werden die Blöckchen für 6 Stunden in reines Epoxyd-Harz bei Zimmertemperatur übertragen. Zur Einbettung werden würfelförmige Plastikbehälter mit einer Kantenlänge von etwa 3 cm (ähnlich wie für Eiswürfel) innen mit Trennlack (F86, Goldschmidt Chem. Co., Hamburg) zum leichteren Ablösen der fertigen Harz-Blöcke ausgetrichen, mit frischem Epoxyd-Harz gefüllt und die einzubettenden Gewebeblöckchen eingelegt und entsprechend der späteren Schnittrichtung orientiert. Nach einer 48stündigen Härtung bei 80° C werden die fertigen Blöckchen mit einer Rasierklinge zugeschnitten, wobei soviel wie möglich von dem umgebenden Einbettmedium entfernt werden sollte. Mit Cyanacrylat wird das Blöckchen auf einem flachen Objekthalter festgeklebt und im Kryostaten befestigt. Zum Schneiden wird die Temperatur der Härte des eingebetteten Gewebes angepaßt, so sollten 40 µm dicke Schnitte von nach Golgi behandelten Gehirnen bei —10° C, 10 µm dicke Schnitte durch ganze Insekten bei —25° C geschnitten werden. Die Schnitte werden kurz in absoluten Alkohol getaucht und mit einer Mischung aus 30 ml absolutem Alkohol, 8 ml Epoxyd-Harz und 2 ml Aceton, wobei zuerst das Epoxyd-Harz mit dem Aceton gemischt wird und erst dann der Alkohol zugegeben wird, auf Objektträgern festgeklebt. Schnitte von mehr als 20 µm Dicke können mit reinem Epoxyd-Harz aufgeklebt werden, ein Strecken in reinem Alkohol ist hierbei nicht notwendig. Das zum Aufkleben verwendete Epoxyd-Harz bzw. die Aceton-Alkohol-Harz-Mischung wird als dünner Film auf dem Objektträger ausgestrichen, die Schnitte werden aufgelegt und nach Entfernen eventueller Luftblasen mit einem kleinen Tropfen Harz bzw. Harz-Mischung und einem Deckglas eingedeckt. Getrocknet und gehärtet werden die fertigen Präparate über Nacht bei 80° C, z. B. in einem Thermostaten.

Luiten, P. G. M.: A simple method for serially sectioning small specimens of hard tissue. Stain Technol. **51**, 309—310 (1976). Alexander Pareto

Färbung von Geweben von Nadelhölzern mit Lacto-propiono-dimethylsulfoxid-carmin (LPDC)

Bei einer Untersuchung der Kallusentwicklung durch unreife Mikrosporophyllen und Megagametophyten von *Pinus*-Arten wurden Quetschpräparate mit Karmin-Essigsäure gefärbt. Dieses Färbeverfahren hatte jedoch einige Nachteile: So wurden die Zellen und Zellkerne in den Pollenkörnern und Pollenschläuchen häufig durch zahlreiche Granula verdeckt und oft ließen sich kleine Gruppen kleiner, kräftiger Zellen innerhalb des Kallus nicht anfärben. Um diesen Schwierigkeiten zu begegnen, wurden für das Carmin andere Lösungsmittel als Essigsäure ausprobiert, wobei sich bei Verwendung von Dimethylsulfoxid als Lösungsmittel die Gewebe intensiv anfärbten, die Chromosomen allerdings etwas aufquollen, was jedoch durch Zugabe von Milchsäure und Propionsäure wieder behoben werden konnte. Wurzelspitzen von Sämlingen, die auf feuchtem Filterpapier herangezogen worden waren und Kallusgewebe von Mikrosporophyllen und Megagametophyten, die in vitro kultiviert worden waren, sowie Pollen von *Pinus resinosa* Ait. wurden in Alkohol-Eisessig (3 Volumina : 1 Volumen) fixiert und in ungefähr 1 ml LPDC in gut verschlossenem Gefäß mit Schraubdeckel im Thermostaten bei 90° C 1 Stunde lang gefärbt und anschließend in einem Tropfen Dimethylsulfoxid nach Auflegen eines Deckglases auf einem Objektträger gequetscht. Zur Herstellung der LPDC-Färbelösung werden 2 g Carmin (C.I. Nr. 75470) in 150 ml Dimethylsulfoxid gelöst und bei Zimmertemperatur 30 min lang gut geschüttelt. Daraufhin wird durch Whatman Filterpapier Nr. 1 filtriert, und 25 ml 85%ige Milchsäure und 25 ml Propionsäure werden zu dem Filtrat zugegeben; die fertige Mischung wird bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Ergebnis: Gegenüber Material, das mit Carmin-essigsäure gefärbt wurde, lassen sich bei mit LPDC behandelten Wurzelspitzen und Kallusgewebe die einzelnen Zellen besser voneinander trennen, weniger Zellen gehen beim Quetschen kaputt, störende Granula fehlen, Chromosomen, Zellkerne und Nukleoli sind intensiver gefärbt, Vakuolen und Cytoplasmafortsätze sind deutlich zu sehen; alle lebenden Zellen färben sich in gleicher Weise gut an. Bei Pollenkörnern sind die Zellkerne dunkel gefärbt und wegen der größeren Durchsichtigkeit der Wandstrukturen und der fehlenden Granula deutlich zu sehen.

Bonga, J. M. and S. Venketeswaran: Fixing and staining of conifer tissues with lacto-propiono-dimethylsulfoxide carmine. Stain Technol. **51**, 197—199 (1976). Alexander Pareto

II 10372

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

E 20877 E

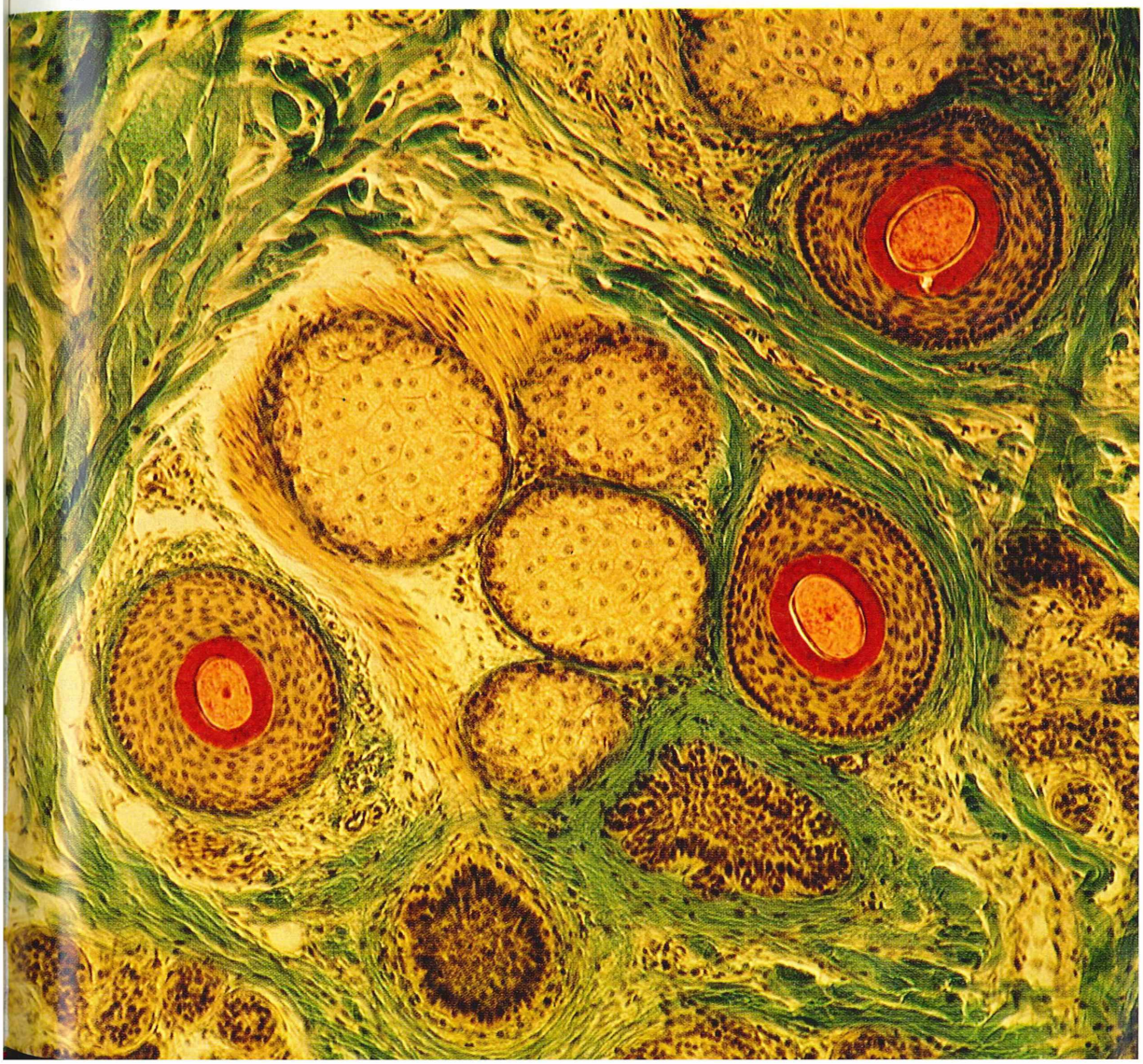
MIKROKOSMOS

66. Jahrgang · Heft 7/Juli 1977

Eine Zeitschrift aus dem Kosmos-Verlag

ISSN 0026-3680 66. 1977, Nr. 7, S. 197–228

Kopfhaut des Menschen



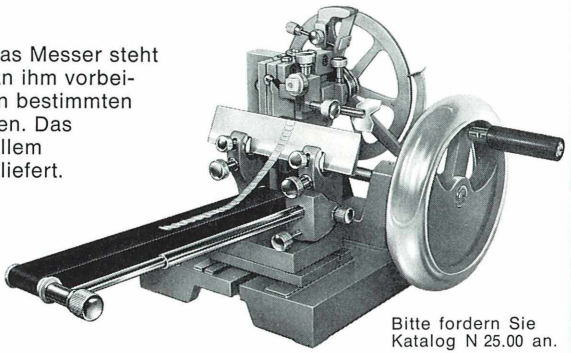
© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

KOSMOS-Rotationsmikrotom

nach dem bewährten Prinzip Minots: Das Messer steht fest, das zu schneidende Objekt wird an ihm vorbeigeführt und vor jedem Schnitt um einen bestimmten zuvor eingestellten Betrag vorgeschoben. Das Rotationsmikrotom wird komplett mit allem Zubehör einschließlich des Messers geliefert.

Best.-Nr. 855845. DM 1600,–

(Für Bezieher des MIKROKOSMOS DM 1550,–)



kosmos service-71
Postfach 640 D-7000 Stuttgart 1

Bitte fordern Sie Katalog N 25.00 an.

MIKROKOSMOS

Zeitschrift für angewandte Mikroskopie, Mikrobiologie, Mikrochemie und mikroskopische Technik

Organ der Deutschen Mikrobiologischen Gesellschaft Stuttgart, der Mikrobiologischen Vereinigung Hamburg, der Mikrobiologischen Arbeitsgemeinschaft Mannheim, der Mikrobiologischen Vereinigung München, der Mikrographischen Gesellschaft Wien, der Mikroskopischen Gesellschaft Zürich.

Inhalt

Bartsch, Dr. I.: Meeresmilben im Sandlückensystem. Zwei Beispiele von Wegen der Anpassung 197

Hausmann, Dr. K.: Bakteriengeißeln 200

Stockem, Prof. Dr. W. und Mitarbeiter: Nahrungsaufnahme beim Pantoffeltier Paramecium caudatum. Versuche zur Phagocytose und Cyclose II 202

Voß, H.-J.: Algen und biologische Abwasserreinigung. Untersuchungen über die Lebens- und Vermehrungsfähigkeit von Algen in Abwässern 207

Göltenboth, Dr. F.: Das Y-Chromosom in den Spermatocytenkernen der Taufliege Drosophila hydei 211

Biologie in der Schule

Roeser, K.-R.: Untersuchungen an isolierten Chloroplasten 216

Zur Einführung in die Mikroskopie

Sauer, Dr. F.: Mit dem Mikroskop am Meer 221

Winke fürs Labor

Appelt, Dr. H. und Prof. Dr. J. R. **Meyer-Arendt:** Farbkontraste in mikroskopischen Präparaten mit Hilfe von Verlaufinterferenzfiltern 224

Unser Umschlagbild

Bode, Dr. F.: Schnitt durch die Kopfhaut des Menschen 226

Bücherschau 227

Kleine Mitteilungen 220, 228

Umschlagbild: Flachschnitt durch die Kopfhaut des Menschen. Aufnahme Dr. Fritz Bode. Siehe auch S. 226.

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

Ilse Bartsch

Meeresmilben im Sandlückensystem

Zwei Beispiele von Wegen der Anpassung

Der Lebensraum Sandlückensystem

Wassergefüllter Sandboden bietet für eine Besiedlung durch Tiere drei Lebensräume:

1. die Sandoberfläche oder das Epipsammal;
2. das Sediment mit den von Tieren gebauten Wohnröhren und Gangsystemen, das Endopsammal;
3. die wassergefüllten Spalten und Porenräume zwischen den Sandkörnern, das Sandlückensystem, Mesopsammal oder Interstitial.

Dieser dritte Lebensraum ist der artenreichste. Er wurde erst in diesem Jahrhundert „entdeckt". Obwohl die Lebensbedingungen in dieser Biozönose extrem sind, gibt es unter den wasserlebenden Wirbellosen kaum einen Stamm und nur wenige Klassen und Ordnungen, die nicht Vertreter im Sandlückensystem haben (Swedmark 1964).

Einige der Merkmale, die den Lebensraum Mesopsammal kennzeichnen, sind (nach Remane 1952, Swedmark 1964, Noodt 1974):

1. das geringe Porenvolumen, das abhängig ist von der Korngrößenverteilung;
2. die Unbeständigkeit des Substrats, die Umlagerungen der oberflächlichen Sedimentschichten aufgrund von Strömung und Turbulenz;

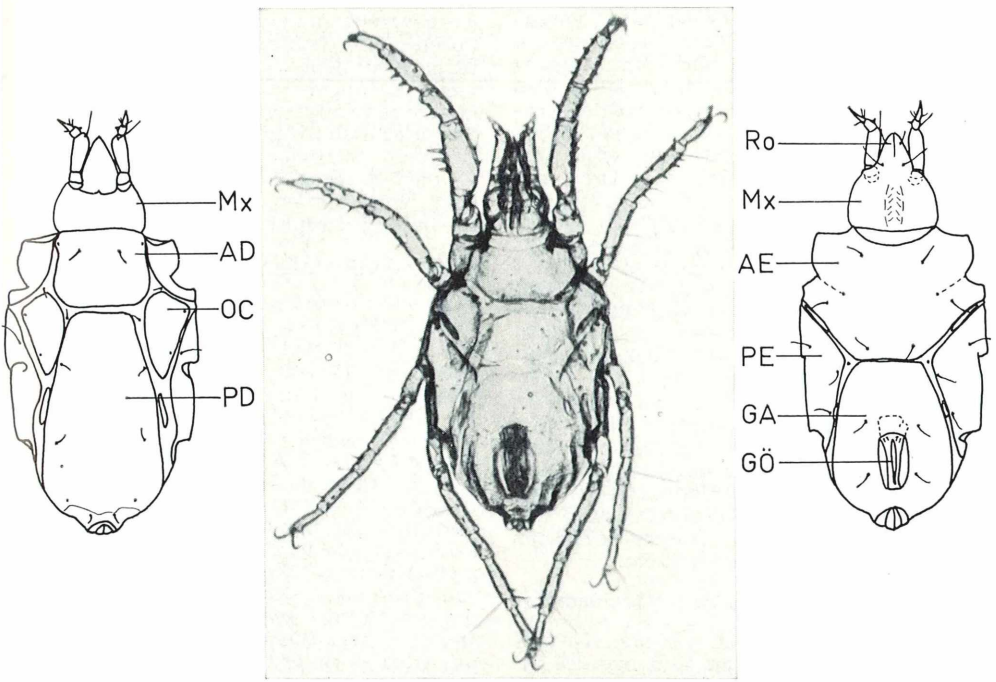


Bild 1: Die Meeresmilbe *Halacarellus subterraneus*. Links: Körper, Dorsalansicht; Mitte: Gesamtansicht; Rechts: Körper, Ventralansicht. *AD* Prädorsalplatte; *AE* vordere Epimeralplatte; *GA* Genitoanalplatte; *GÖ* Genitalöffnung; *Mx* Maxillarorgan; *OC* Okularplatte; *PD* Postdorsalplatte; *PE* hintere Epimeralplatte; *Ro* Rostrum.

3. die Sauerstoffarmut aufgrund der langsamen Wasserzirkulation;
4. die oft völlige Dunkelheit.

Nur entsprechend angepaßte Organismen können diesen Lebensraum besiedeln. Im wassergefüllten Interstitium treten besondere „Lebensformtypen" auf, die sich durch morphologische und biologische Anpassungen auszeichnen. Einige der Anpassungsmerkmale sind: Reduktion der Körpergröße, Streckung des Körpers, dorsoventrale Abplattung, Ausbildung von Haftorganen, Verstärkung des Körperinteguments [1], Ausbildung von statischen Organen, Reduktion der Lichtsinnesorgane.
Durch einfache Methoden läßt sich ein Einblick in die organismen- und artenreiche Fauna des Sandlückensystems gewinnen. Schon 500 ml Sediment, gesammelt am deutlich geneigten Prallhang oder an dem sich meerwärts anschließenden, häufig mit Rippelmarken gekennzeichneten Flachgebiet, werden eine reiche Ausbeute ergeben. Doch gilt es zuerst die Organismen zu konzentrieren.
Die schonendste Methode ist, das Sediment in zwei oder drei Gläser zu füllen und diese für 24 Stunden hinzustellen. In den Gläsern fehlt die natürliche Wasserzirkulation, bald herrscht in den untersten Sedimentschichten Sauerstoffmangel, die Tiere wandern nach oben. Nach einem Tag werden die oberen zwei bis drei Millimeter Sediment abpipettiert, in eine Petrischale gefüllt und unter einer Stereolupe betrachtet. Oft aber ist es ratsamer, schon am Strand die Konzentration der Organismen vorzunehmen. Das Sediment wird mit reichlich Wasser aufgeschwemmt und kräftig umgerührt. Die schweren Sandpartikel sinken sofort wieder zu Boden, das leichtere organische Material, Detritus, Algen, Tiere, verbleibt in der Schwebe. Nach einer Minute wird das überstehende Wasser, mit den Organismen, durch ein Sieb gegossen, dekantiert. Als Sieb empfiehlt sich Planktongaze von 60 oder 100 µm Maschenweite. Dieser Vorgang, Aufschwemmen, Umrühren, Dekantieren wird zwei- oder dreimal wiederholt. Der Siebinhalt mag auf den ersten Blick enttäuschend sein, einzelne größere Organismen, ein Polychaet, ein Amphipode, sonst so gut wie nichts. Der Siebinhalt, unter einer Stereolupe betrachtet, enthüllt eine große Artenfülle: Band- und schnurförmige Ciliaten, Archianneliden, Turbellarien, Gastrotrichen, Nematoden und Nemertinen, gestreckte Hydrozoenpolypen, Bryozoen, Copepoden, Ostracoden und Halacariden gleiten und wühlen zwischen den Detritus- und Sandpartikeln.

Schema des Körperbaus einer Meeresmilbe

Die Halacariden sind von geringer Körpergröße, die meisten Arten sind nur 300 bis 500 µm lang. Als Beispiel einer Meeresmilbe wird *Halacarellus subterraneus* abgebildet, es ist eine Art, die im Lücken- und Spaltensystem der Nord- und Ostsee verbreitet ist. Der Körper der Meeresmilben ist stets ungegliedert, in Aufsicht breitoval bis elliptisch, dorsoventral [2] etwas abgeplattet. Im Körperintegument sind Panzerplatten eingelagert (Bild 1). Dorsal sind es: eine unpaare Prädorsalplatte *(AD)*, zwei Okularplatten *(OC)* und eine meist einheitliche Postdorsalplatte *(PD)*. Marginal und ventral sind die Coxen [3] der Beine zu Epimeralplatten verschmolzen, zu einer — bei den meisten Arten einheitlichen — vorderen Epimeralplatte *(AE)* und zu hinteren Epimeralplatten *(PE)*. Ventral liegt die Genitalplatte mit der Genitalöffnung *(GÖ)*, die Genitalplatte ist meist mit der Analplatte vereinigt zu einer Genitoanalplatte *(GA)*. Auf den Okularplatten sind bei der Mehrzahl der Arten eine oder zwei hochgewölbte Hornhäute entwickelt. Zwischen den Panzerplatten liegt streifiges, dehnungsfähiges Integument.
Vom Körper abgesetzt ist das Maxillarorgan [4]. Es besteht aus einem Grundteil, der ventral in das Rostrum [5] übergeht, in diesem liegen die beiden Cheliceren [6]. Seitlich sitzen dem Rostrum die — bei den meisten Gattungen viergliedrigen — Palpen [7] an.
Von den vier Paar Beinen sind zwei Paar nach vorn, zwei Paar nach hinten gerichtet.

Meeresmilben im Sandlückensystem

Die Halacariden sind durch ihre geringe Körpergröße für ein Leben in einem engen Poren- und Lückensystem prädisponiert. Es ist also nicht weiter verwunderlich, daß viele Gattungen Vertreter ins Sandlückensystem entsandt haben. Zwei Gattungen, die ausschließlich im Sandlückensystem angetroffen werden, sind *Acaromantis* und *Anomahalacarus*. Beide Gattungen sind aber durch einen sehr unterschiedlichen Körperbau charakterisiert.

Acaromantis (Bild 2)

Acaromantis-Arten sind an den Küsten des Mittelmeeres, des Atlantiks und des Pazifiks gefunden worden. Die kleinste Art hat eine Körpergröße von 230 µm, die größte eine von 390 µm. Innerhalb einer Art sind die Größenunterschiede bei Weibchen und Männchen klein, meist beträgt die Differenz zwischen den größten und den kleinsten Exemplaren weniger als 10 µm.
Alle Arten sind stark gepanzert. Die dicken Panzerplatten sind mit großen, flachen Lochporen bedeckt, die tieferen Integumentschichten außerdem von winzigen Poren durchzogen. Zwischen den Panzerplatten liegen nur schmale Bänder streifigen Integuments. Die Okularplatten sind bis auf winzige Sklerite reduziert.

Das Maxillarorgan ist kurz, kegelartig; es sitzt dem Körper breit auf. Maxillarorgan und Körper bilden zusammen eine Einheit von eiförmiger Gestalt. Die Palpen schmiegen sich dem Rostrum dicht an, sie sind kurz, bei dieser Gattung nur zweigliedrig, sie überragen das Rostrum kaum.
Die Beine sind kräftig, mit breiten Muskelansatzflächen. An den dritten Beingliedern fallen die ventrolateral und ventromedial in ganzer Segmentlänge sich hinziehenden Lamellen auf, die zwischen sich eine Grube freilassen. Die vierten Beinglieder sind kurz und schmal, die fünften und sechsten Segmente basal stielartig verjüngt. Die distalen Beinglieder können also stark abgewinkelt und dank der kugelgelenkartigen vierten Beinsegmente weit zwischen den Gruben der dritten verborgen werden. Die dritten Beinglieder können sich ihrerseits dem Körper eng anschmiegen.

Anomahalacarus (Bild 3)

Arten der Gattung *Anomahalacarus* sind an den Küsten des Atlantiks sowie in den Randmeeren Mittelmeer, Nordsee, Ostsee und auch im Golf von Bengalen gefunden worden.
Die Körperlänge der kleinsten Exemplare übersteigt kaum 200 µm, von den Exemplaren der größten Art werden Körperlängen von mehr als 500 µm angegeben. Innerhalb einer Art treten erhebliche Größenunterschiede auf, Differenzen von mehr als 100 µm zwischen den größten und kleinsten Exemplaren sind bei fast allen Arten bekannt.
Der Körper der *Anomahalacarus*-Arten ist leicht gekrümmt. Die Panzerplatten sind sehr zart, fast glatt. Die Prädorsalplatte ist kurz und schmal, Okularplatten fehlen. Die Postdorsalplatte ist bei fast allen Arten unterteilt, die beiden Hälften sitzen als kleine Schuppen am Körperende. Die vordere Epimeralplatte ist in der Medianlinie durch ein breites Band streifigen Integuments unterteilt. Die hinteren Epimeralplatten sind wie die vorderen sehr klein, sie liegen weit zum Körperende hin verlagert. Die dorsalen und ventralen Panzerplatten nehmen also einen nur geringen Raum ein, zwischen ihnen finden sich weite Bezirke streifigen Integuments. Einige der dorsalen und ventralen Körperhaare sind auffällig lang, die marginalen dagegen sind kurz.
Das Maxillarorgan ist lang und schmal. Es setzt die Krümmung des Körpers fort. Die Palpen sind schlank und stets viergliedrig. Die Beine sind schmal. Die beiden vorderen Beinpaare inserieren weit vorn, die beiden hinteren fast am Ende des Körpers.
Die beiden Gattungen *Acaromantis* und *Anomahalacarus* unterscheiden sich — wie oben ausgeführt — stark in ihrer Gestalt. Die morphologischen Merkmale des Habitus zeigen jedoch, daß beide Gattungen an ein Leben im Sandlückensystem angepaßt sind. Bei beiden Gattungen fehlen Okularplatten, entsprechend auch Lichtsinnesorgane mit Cornea und Retinazellen. Bei beiden Gattungen liegt die Genitalöffnung in Nähe des Körperendes.
Die bedeutenden morphologischen Unterschiede weisen darauf hin, daß es sich um Repräsentanten von zwei „Lebensformtypen" handelt, die zwar beide — oft nebeneinander — im Sandlückensystem leben, in ihrer Lebens- und Fortbewegungsweise aber erheblich voneinander abweichen.
Die kräftige Panzerung bei den Arten der Gattung *Acaromantis*, die eiförmige Gestalt und die Fähigkeit, die Beine stark abzu-

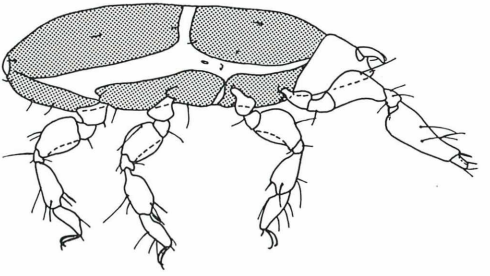


Bild 2: Seitenansicht einer *Acaromantis*-Art *(Acaromantis armatus).*

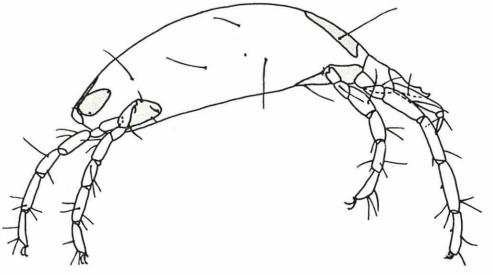


Bild 3: Seitenansicht einer *Anomahalacarus*-Art *(Anomahalacarus minutus).*

winkeln und sie dem Körper dicht anzulegen, bieten Schutz vor mechanischer Zerstörung, vor dem Zerdrücktwerden zwischen sich bewegenden Sandkörnern, vor dem Verlust der Extremitäten. Der Beinmuskulatur stehen breite Ansatzflächen zur Verfügung, die Beine sind kräftig, sie können den Körper in Spalten und Poren hineinzwängen und dabei die Sandkörner zur Seite schieben. Die — oft trägen — *Acaromantis*-Arten können somit zu den Sandwälzern (Remane 1952) gezählt werden.
Bei den *Anomahalacarus*-Arten dagegen sind die Panzerplatten stark reduziert; die vordere Epimeralplatte ist stets unterteilt, bei den meisten Arten auch die Postdorsalplatte; die Beine sind schlank. Diese weich-

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

häutigen Arten werden sich kaum zwischen Sandkörner zwängen und diese zur Seite schieben können. Auffällig ist die gekrümmte Gestalt der *Anomahalacarus*-Arten, die Tiere können also die konkaven Oberflächen kleiner Partikel — ein Sandkorn, ein Stück Detritus — gut umklammern, sich diesen eng anschmiegen. Auf ebenem Untergrund bewegen sich die Tiere nur unbeholfen fort, zwischen Sandkörnern aber eilen sie sehr geschickt und schnell dahin. Das spitze Vorderende — das Maxillarorgan und der Vorderkörper mit der vorderen Dorsalplatte —, das hinter der Prädorsalplatte abgeknickt werden kann, wird prüfend in die Porenräume zwischen den Sandpartikeln hineingesteckt, die langen dorsalen Körperhaare dienen dabei sicherlich zum Abtasten der Porenvolumina. Die Beweglichkeit des Körpers ist durch die Reduktion der Panzerplatten enorm gesteigert, das streifige Integument ist äußerst dehnungsfähig, es erlaubt den Tieren sich zusammenzuziehen und sich stark zu krümmen, und so auf kleinstem Raum zu wenden.

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Sonderforschungsbereich 94, Meeresforschung Hamburg).

Erläuterungen:

[1] Integument: Gesamtheit der Hautschichten.
[2] dorsal: zum Rücken gehörend, rückseitig; ventral: zum Bauch gehörend, bauchseitig; marginal: randseitig; distal: weiter vom Rumpf entfernt.
[3] Coxa: Hüftplatte.
[4] Maxillarorgan: Köpfchen.
[5] Rostrum: über das Vorderende des Tierkörpers herausragender Fortsatz.
[6] Cheliceren: Kieferklauen der Spinnentiere.
[7] Palpen: Taster.

Literaturhinweise:

1. *Noodt, W.:* Anpassung an interstitielle Bedingungen: Ein Faktor in der Evolution Höherer Taxa der Crustacea? Faun.-ökol. Mitt. **4**, 445 bis 452 (1974).
2. *Remane, A.:* Die Besiedlung des Sandbodens im Meere und die Bedeutung der Lebensformtypen für die Ökologie. Zool. Anz. Suppl. **16**, 327—359 (1952).
3. *Swedmark, B.:* The interstitial fauna of marine sand. Biol. Rev. **39**, 1—42 (1964).

Verfasserin: Dr. Ilse Bartsch, Sonderforschungsbereich 94, Universität Hamburg, Bundesstr. 55, 2000 Hamburg 13.

Klaus Hausmann

Bakteriengeißeln

Ein Teil der Bakterien besitzt Geißeln (=Flagellen), mit deren Hilfe sie sich fortbewegen können. Die Art der Begeißelung ist unterschiedlich. So kennt man mono- und bipolare Begeißelungen, d. h. an einem oder an beiden Polen der Zelle befinden sich Flagellen. Monotrich und lophotrich bedeuten, daß nur eine Geißel bzw. ein Geißelschopf vorhanden ist. Peritriche Bakterien schließlich zeigen in der Begeißelung keine Polarität, sondern sind gleichmäßig mit Flagellen bedeckt. Der Begeißelungsmodus wird neben anderen Kriterien als Artmerkmal herangezogen.

Die Bakterien werden zusammen mit den Blaualgen als Protokaryonten allen übrigen Zellen (Eukaryonten) gegenübergestellt. Die Protokaryonten zeichnen sich durch einen primitiven Organisationsgrad aus, der sich im Feinbau widerspiegelt. So besitzen sie beispielsweise keine echten Kerne, sondern nur DNA-haltige Bereiche, die Kernäquivalente oder Nucleoide genannt werden. Zellorganellen, wie Mitochondrien, Golgi-Apparat etc., fehlen ihnen. So nimmt es nicht Wunder, daß auch die Flagellen der Protokaryonten anders gebaut sind als die Geißeln der Eukaryontenzelle. Sie sind sogar derartig unterschiedlich strukturiert, daß ein Vergleich der beiden Bewegungsorganelle aus cytologischer Sicht unmöglich ist. Das einzige, was beide gemeinsam haben, ist die Fähigkeit, Bewegung zu erzeugen.

Abgesehen von Dimensionsunterschieden — Bakteriengeißeln haben einen Durch-

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



Bild: Bakterium mit bipolarer, lophotricher Begeißelung im elektronenmikroskopischen Bild (Vergr. 17 000×). Bei Bakterien wird der Begeißelungsmodus — neben anderen Kriterien — als ein Bestimmungsmerkmal herangezogen. Aufnahme: Dr. K. Hausmann.

messer von ca. 20 nm, Eukaryontengeißeln hingegen sind 0,2 µm dick — bestehen zwischen diesen beiden Organellen gravierende Unterschiede. Die Bakterienflagellen sind extraplasmatischer Natur, das heißt, sie sind nicht, wie die Eukaryontengeißeln, von einer Zellmembran umgeben. Lediglich ein kompliziert gebauter Basalkörper hat Kontakt mit dem Plasmalemma der Bakterienzelle. Die Kraft für die Geißelbewegung wird nur vom Basalkörper geliefert und nicht, wie bei den Eukaryontengeißeln, über das gesamte Flagellum. Schließlich wird die Bewegung dadurch erzeugt, daß der Basalkörper um sich selbst rotiert. Im Gegensatz dazu bewegt sich die eukaryontische Geißel bzw. Wimper aufgrund von regelmäßig angeordneten, aneinandervorbeigleitenden Mikrotubulipaaren (9+2-Muster). Die genauen Strukturverhältnisse der Eukaryontengeißeln und -wimpern sowie deren Funktionsweise wurden bereits vor einiger Zeit besprochen (K. Hausmann: Mikrokosmos **63**, 165—169, 1974).

Verfasser: Dr. K. Hausmann, Lehrstuhl für Zellenlehre, Im Neuenheimer Feld 230, 6900 Heidelberg.

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

Nahrungsaufnahme beim Pantoffeltier Paramecium caudatum

Versuche zur Phagocytose und Cyclose II

Im ersten Teil dieser Arbeit wurde die allgemeine Morphologie des Stoffaufnahme- und Verdauungstraktes von *P. caudatum* behandelt und die Anlage von Anreicherungs- und Dauerkulturen beschrieben. Ziel des ersten Versuchs war die Bestimmung der Vakuolenbildungsrate bei Verfütterung von verschiedenen Nahrungssubstanzen (Tusche, Karmin, gefärbte Hefe, Bakterien).

Versuch 2

Ziel des Versuches ist die Ermittlung des Einflusses der externen Calciumionenkonzentration einerseits und der Temperatur andererseits auf die Vakuolenbildungsrate (Bild 2).

a. **Calcium-Konzentration** (Bild 2 b)

Methode: In Chalkleylösung gewaschene Paramecien (30 min lang) werden für 1, 5, 10 und 20 Minuten in Chalkley-Medien unterschiedlicher Calciumionenkonzentration mit Tuschezusatz inkubiert. Um eine Koagulation der Tusche zu verhindern, müssen zwei Stammlösungen (A – Chalkley-Medium mit Tuschezusatz, B – Chalkley-Medium mit Calciumzusatz) hergestellt und kur vor Gebrauch vermischt werden. Empfehlenswert sind Calciumionenkonzentrationen von 0, 15, 20, 30 und 50 mM. Das normale Chalkley-Medium mit einer Konzentration von 0,03 mM Calcium kann dabei als Kontrolle dienen. Allerdings hat sich in anderen Blockkursen gezeigt, daß der Schwellenwert für die Caliciumempfindlichkeit der Versuchstiere schwanken kann. Vermutlich ist das darauf zurückzuführen, daß die Tiere stets einem nicht definierten Kulturmedium entnommen werden. Deshalb ist es ratsam, den jeweiligen Empfindlichkeitsbereich in einem Vorversuch abzuschätzen. Ergebnis: Eine Erhöhung der extrazellulären Calciumionenkonzentration bis 15 mM hemmte die Vakuolenbildungsrate nur geringfügig (Bild 2 b). Zwischen 15 und 20 mM sank die Vakuolenbildung dann deutlich ab, um bei Konzentrationen von 30 mM und mehr schließlich ganz eingestellt zu werden. Dieses Ergebnis stimmt mit Untersuchungen von Nilsson (1972) an *Tetrahymena pyriformis* überein und kann nach einer Theorie von Allison (1973) dadurch erklärt werden, daß extrazelluläres Calcium die

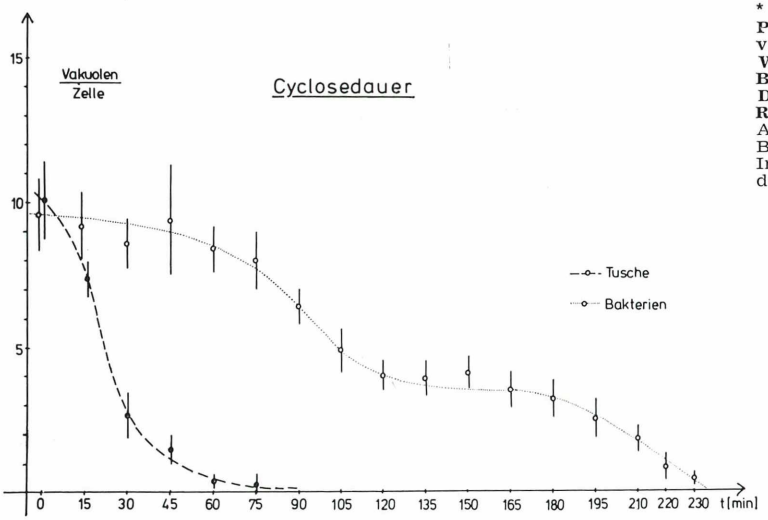


Bild 1: Cyclosedauer.

* Unter Anleitung von Prof. Dr. W. Stockem von E. Berghoff, W. Gawlitta, H. Jücker, B. Köster, D. Letschert und R. Meyer.
Aus dem Cytologischen Blockpraktikum des Instituts für Cytologie der Universität Bonn.

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

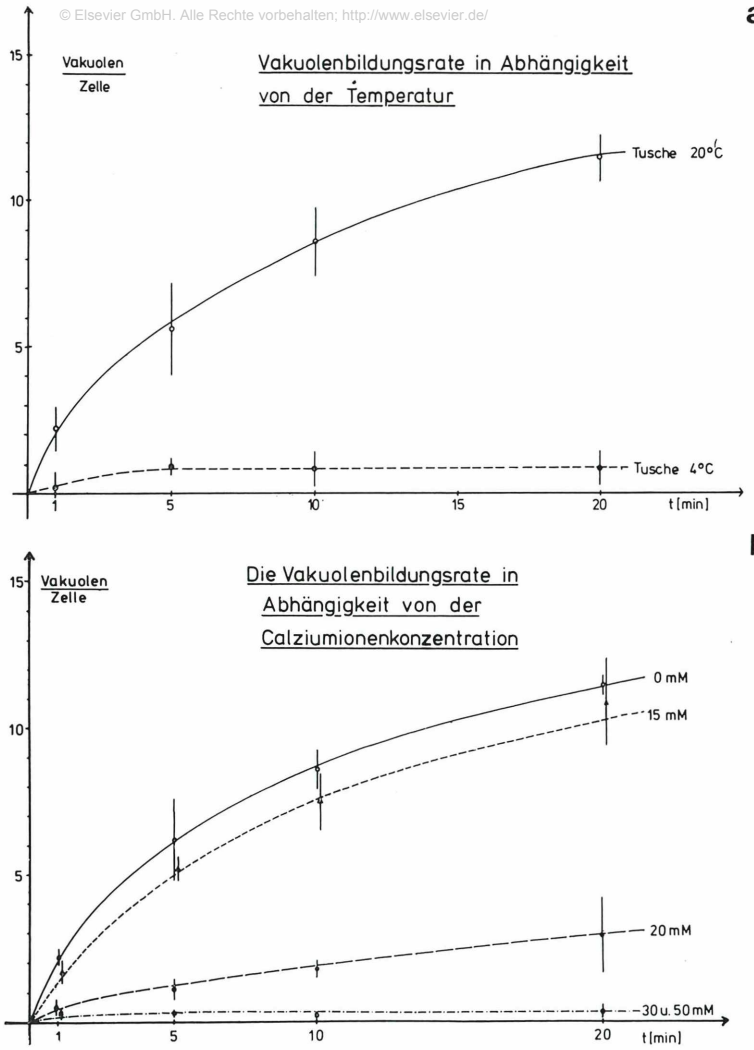


Bild 2: Vakuolenbildungsrate in Abhängigkeit von externen Faktoren.

Teil I dieser Arbeit erschien in Mikrokosmos 66, H. 6, 163—169, 1977.

Außenmembran stabilisiert und hierdurch die endocytotische Stoffaufnahme erschwert.

b. **Temperatur** (Bild 2 a)

Methode: Die Paramecien werden 30 min bei 4° C in Chalkley-Medium vorinkubiert und dann bei der gleichen Temperatur in Tusche markierte Chalkleylösung übertragen. Danach kann wie in Versuch 2 a die Abhängigkeit der Vakuolenanzahl von der Inkubationszeit ermittelt werden.
Ergebnis: Bei 4° C blieb die Vakuolenanzahl konstant auf einem niedrigen Niveau von durchschnittlich einer Vakuole pro Zelle; sie lag damit weit unter dem Kontrollwert von rund 12 Vakuolen bei Zimmertemperatur (Bild 7 des 1. Teils und Bild 2 a). Da die Endocytose ein aktiver Prozeß ist, der seine Energie aus der ATP-Spaltung bezieht, kann dieser Vorgang genau wie die Energie liefernden Lebensfunktionen der Zelle auch (z. B. Glykolyse und Zellatmung) durch niedrige Temperaturen gehemmt werden.

Versuch 3

Ziel des Versuches ist die Bestimmung der Cyclosedauer bei Verfütterung von verdaulicher und unverdaulicher Nahrung (Bild 1).
Methode: Wie in Versuch 1 und 2 werden die Tiere 30 Minuten in Chalkley-Medium vorinkubiert und danach für 10 Minuten in substrathaltiges Medium überführt (un-

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

verdauliche Nahrung: Tusche; verdauliche Nahrung: Kongorot-gefärbte Bakterien). Nach der Inkubation müssen die Zellen durch mehrmaliges Umsetzen in substratfreies Medium sorgfältig gewaschen werden, damit während der nun folgenden Beobachtungszeit keine weiteren Nahrungsvakuolen mehr gebildet werden können. Im Abstand von 15 Minuten sollen dann so lange jeweils 10 Tiere entnommen und deren Vakuolen (nach Fixation der Zellen) ausgezählt werden, bis die durchschnittliche Vakuolenzahl unter 0,5 abgesunken ist.
Ergebnis: Die Zellen nahmen während der 10 min dauernden Inkubation etwa 10 Vakuolen mit verdaulicher und unverdaulicher Nahrung auf (Bild 1). Die Tusche wurde sehr schnell (bereits nach 15—30 min) wieder ausgeschieden und war nach 90 min im Cytoplasma nicht mehr nachweisbar (kleine Cyclose). Im Gegensatz dazu gaben die Zellen die verdaulichen Bakterien sehr viel langsamer wieder ab. Selbst nach mehr als 3,5 Stunden konnten noch Bakterienvakuolen nachgewiesen werden (große Cyclose).
Diese Tatsache zeigt deutlich, daß die Paramecien offensichtlich in der Lage sind, während des intrazellulären Verdauungsprozesses zwischen verwertbarer und nicht verwertbarer Nahrung zu unterscheiden und letztere sehr schnell wieder ans Außenmedium abzugeben. Hierdurch kann die durch unspezifische Stoffaufnahme auftretende Belastung des Zellstoffwechsels bis zu einem gewissen Grad wieder ausgeglichen werden.

Versuch 4

Ziel dieses Versuches ist die Ermittlung unterschiedlicher pH-Werte in den Vakuolen während der Cyclose (Bild 3).
Methode: Kongorot-gefärbte Hefe wird auf einem Objektträger in einem Tropfen Tylose verrührt. In den Tylosetropfen werden dann Paramecien aus einer Anreicherungskultur einpipettiert und unter dem Mikroskop beobachtet.
Ergebnis: Etwa 30 min. nach Bildung der ersten Vakuolen trat bereits ein Farbumschlag des Vakuoleninhaltes von rot nach blau auf (Bild 3 b). Der pH-Wert in den Lysosomen war zu diesem Zeitpunkt demnach unter pH 5 gefallen (Bild 3 a). Das stimmt mit der in der Literatur vertretenen Auffassung überein (Grell 1968). Der zweite Umschlag des pH-Wertes, der eine erneute Verfärbung der Vakuolen von blau nach rot bedeuten würde, war unter Praktikumsbedingungen allerdings nicht zu beobachten.

Versuch 5

Ziel des Versuches ist der Nachweis des Enzyms saure Phosphatase in den Verdauungsvakuolen (Bilder 4 und 5).

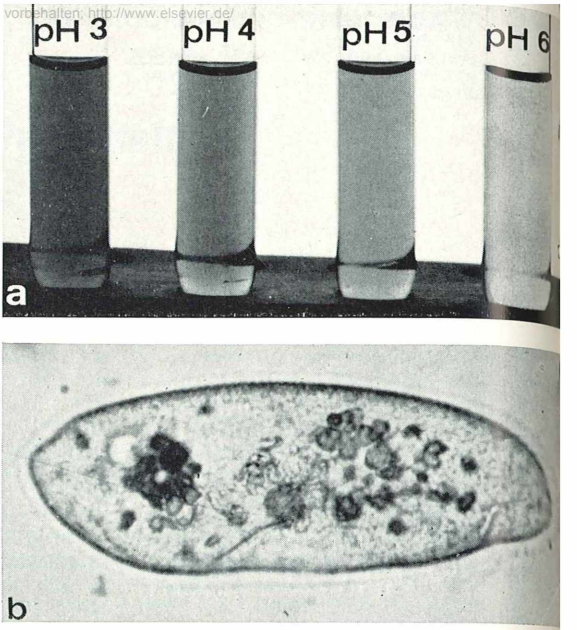


Abb. 3: a. Färbung des Indikatorfarbstoffes Kongorot bei pH-Werten von 3, 4, 5 und 6. Natürlich konnte die Farbskala nur in Grauwerten wiedergegeben werden. pH 6 entspricht Hellrot, pH 5 Dunkelrot, pH 4 Blau und pH 3 Violett.
b. Farbumschlag des Indikators in den Verdauungsvakuolen von *Paramecium caudatum*. Die Graufärbung der Vakuolen entspricht in ihrer Stärke den Abstufungen der pH-Reihe. Vergrößerung: b: 1500fach

Methode: Das Prinzip des histochemischen Nachweises beruht darauf, das Spaltprodukt eines Substrates am Wirkort des Enzyms sichtbar zu machen. Die saure Phosphatase spaltet vom Substrat (Na-β-Glycerophosphat) den Phosphatrest ab (Bild 4 a, b). Mit Hilfe von Bleinitrat wird das Phosphat als schwerlösliches Bleiphosphat ausgefällt (Bild 4 b, c). Das Bleiphosphat hat eine weißliche Färbung und ist nur im Elektronenmikroskop sichtbar. Um im Lichtmikroskop einen Kontrast zu erzeugen, wird das Phosphat durch Sulfid, das eine hohe Affinität zu Schwermetallen hat, ersetzt (Bild 4 d, e). Das Sulfid wird in Form von Ammoniumsulfid dem Reaktionsgemisch zugefügt. Das Bleisulfid ist als braunschwarzer Niederschlag lichtmikroskopisch gut sichtbar.
Paramecien aus einer Anreicherungskultur werden 30 min in Chalkleylösung mit Bakterien vorinkubiert. Danach müssen die Tiere 10 min lang bei 4° C in folgender Lösung fixiert werden: 2,5%iger Glutaraldehyd, gepuffert mit 50 mM Cacodylatpuffer und 10 mM Substrat (Na-β-Glycerophosphat). Der pH der Lösung soll 7,0 betragen. In diesem Präparationsschritt werden die Tiere abgetötet, ohne daß die Enzyme ihre Aktivität verlieren. Das Substrat lagert

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

sich an das Enzym an, wird jedoch aufgrund der niedrigen Temperatur nicht gespalten. Es dient als Fixierungsschutz für das Enzym.

Anschließend werden die Zellen 1,5 Stunden bei 4° C mit 50 mM Cacodylat-gepuffertem Aqua bidest. mehrmals gewaschen (pH=7,0), um das Fixierungsmittel möglichst vollständig zu entfernen.

Nun können die Zellen 1,5 Stunden bei Zimmertemperatur in folgendem Medium inkubiert werden: 10 mM Na-β-Glycerophosphat mit 2 mM Bleinitrat, gepuffert mit 20 mM Barbital-Natrium-Acetat-Puffer. Das Bleinitrat muß im Puffer bei Zimmertemperatur gelöst und dann filtriert werden. Das Na-β-Glycerophosphat soll in einem zweiten Gefäß ebenfalls im Puffer bei Zimmertemperatur gelöst werden. Anschließend gibt man das gepufferte Bleinitrat tropfenweise unter Schütteln der Na-β-Glycerophosphat-Lösung zu. Der pH-Wert von 5,0 läßt sich mit 1 N Salzsäure einstellen. Die Tiere werden in dieser fertigen Lösung inkubiert und nach 5 Minuten in frische, klare Lösung übertragen. Ein zweites Wechseln nach 30 Minuten ist vorteilhaft. Während dieser Inkubation finden die in Bild 4 a, b, c dargestellten Reaktionen statt.

Danach wird 15 Minuten bei Zimmertemperatur in 20 mM Barbital-Natrium-Acetat gepuffertem Aqua bidest. (pH=5,0) gewaschen, um das überschüssige Bleinitrat zu entfernen. Die Waschlösung muß mehrmals gewechselt werden.

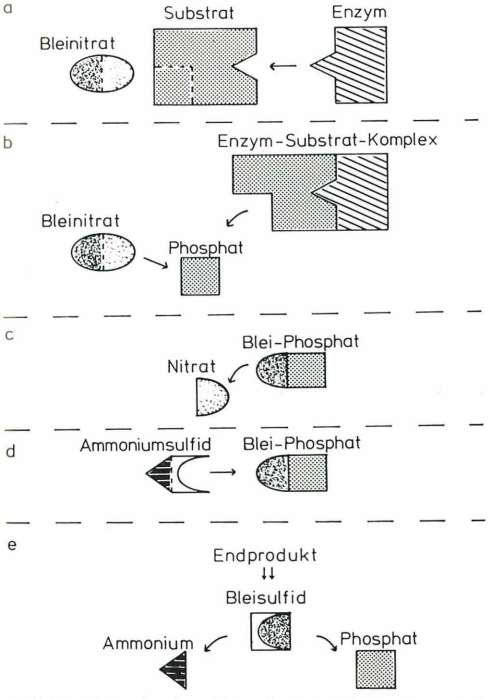


Bild 4: Prinzip des Phosphatase-Nachweises (nähere Beschreibung s. Text).

Schließlich folgt noch eine Behandlung der Zellen (5 Minuten) mit 5%igem Ammoniumsulfid. Während dieser Behandlung laufen die in Bild 4 d und e dargestellten Reaktionen ab.

Im Kontrollversuch werden alle Präparationsschritte wie beschrieben durchgeführt, jedoch wird dem Inkubationsmedium 10 mM Natriumfluorid zugesetzt.

Das Natriumfluorid denaturiert Enzyme mit einem Wirkungsoptimum von pH 5,0 und verhindert so eine Substratspaltung. Beim gesamten Versuch ist streng auf die Einhaltung des pH-Wertes zu achten. Außerdem soll mit größeren Mengen Paramecien gearbeitet werden.

Ergebnis: In den Paramecien fanden sich je nach physiologischem Zustand mehr oder weniger dunkel gefärbte Vakuolen (sek. Lysosomen), deren Inhalt sich in unterschiedlichen Stadien der Verdauung befand. Die primären Lysosomen wurden in Form kleiner schwarzer Vesikel lichtmikroskopisch ebenfalls dargestellt (Bild 5 a Inset, Pfeile).

Ein geeignetes Objekt zum Nachweis saurer Phosphatasen in Nahrungsvakuolen sind auch Amöben. Eine kleinere Menge *Amoeba proteus* kann als Ergänzung bei diesem Versuch deshalb mitgeführt werden (Bild 5 b).

Abschließend läßt sich feststellen, daß alle hier dargestellten Versuche bei Vorhandensein einer gewissen praktischen Veranlagung auch mit bescheidenen Mitteln von jedem biologisch interessierten Experimentator durchgeführt werden können. Ähnlich wie die schon an anderer Stelle beschriebenen Experimente (Mikrokosmos **60,** H. 2, 33—42, 1971) an Amöben vermögen sie einen sehr anschaulichen Einblick in die recht komplizierten zellphysiologischen Prozesse der Nahrungsaufnahme, intrazellulären Verdauung und Abgabe unverdaulicher Substanzen zu geben.

Literaturhinweise:

1. *Allison, A. C.:* The role of microfilaments and microtubules in cell movement, endocytosis, exocytosis. In: Ciba Foundation Symp. **14,** pp. 108—148, (R. Porter and D. W. Fitzsimons, eds.) Experta Medica, North-Holland, Scientific Publ., Amsterdam-London-New York (1973).
2. *Grell, K. G.:* Protozoologie. 2. Aufl., pp. 336 bis 337, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1968).
3. *Haberey, M.* und *Stockem, W.: Amoeba proteus*-Morphologie, Zucht und Verhalten. Mikrokosmos **60,** 33—42 (1971).
4. *Nilsson, J. R.:* Further studies on vacuole formation in *Tetrahymena pyriformis GL.* Comt. Rend. Trav. Lab. Carlsberg **39,** 83—110 (1972).
5. *Rasmussen, L.:* Nutrient uptake in *Tetrahymena pyriformis.* Carlsberg Res. Commun. **41,** 144—167 (1976).
6. *Stockem, W.:* Endocytose und intrazelluläre Verdauung. BIUZ **3,** 67—78 (1973).
7. *Wichtermann, R.:* The biology of *Paramecium.* p. 44, The Blakiston Company, Inc., New York-Toronto (1953).

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

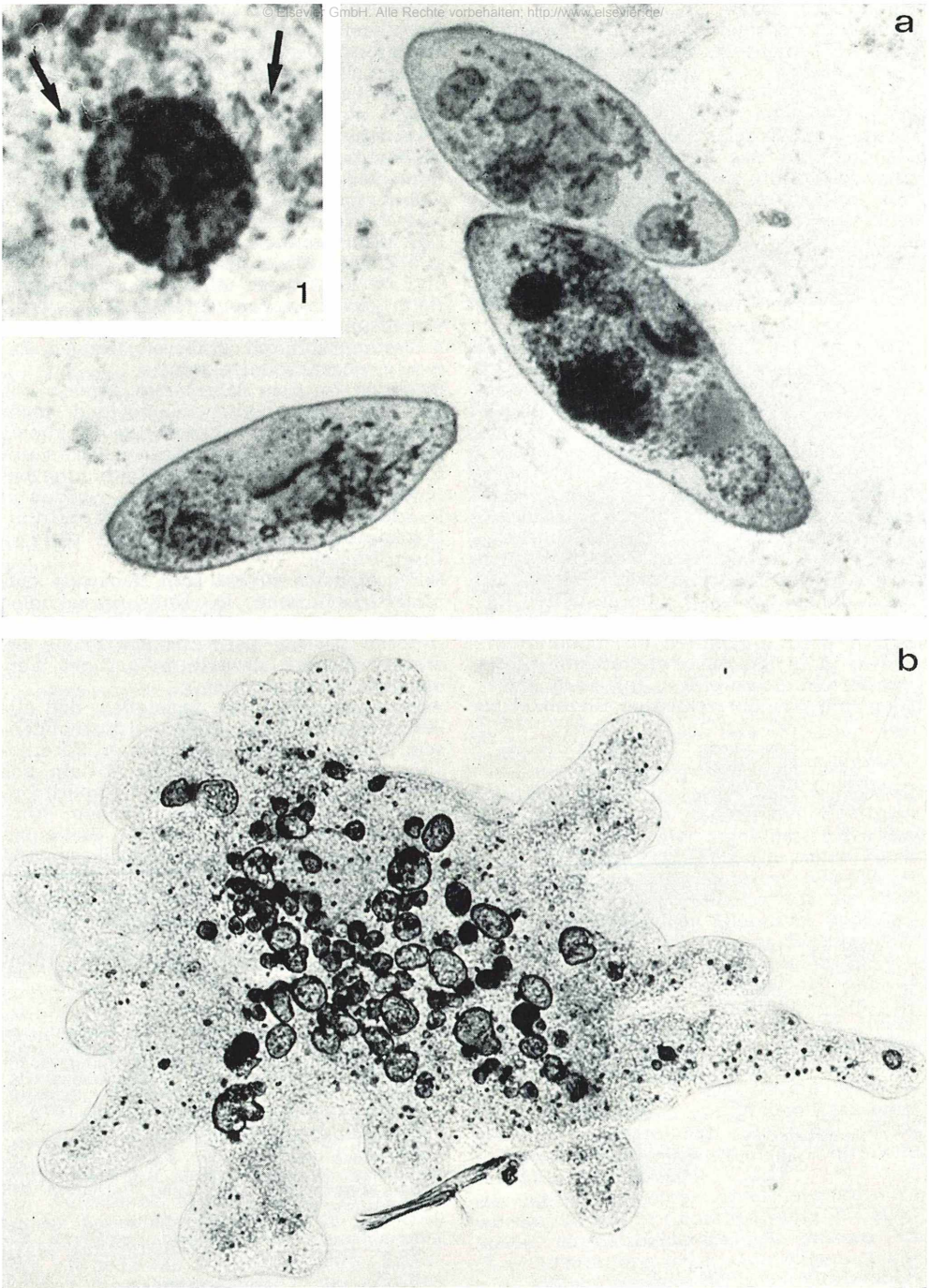


Bild 5: Phosphatase-Nachweis bei *Paramecium caudatum* und *Amoeba proteus*.
a. Paramecien. Vergr.: 1100fach.
a_1. Inset: Verdauungsvakuole mit primären Lysosomen (Pfeile). Vergr.: 3850fach.
b. *Amoeba proteus*. Vergr.: 750fach.

Verfasser: E. Berghoff, W. Gawlitta, H. Jücker, B. Köster, D. Letschert und R. Meyer. Institut für Cytologie der Universität Bonn. Ulrich Haberlandstr. 61 a, 5300 Bonn 1.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/
Hans-Jürgen Voß

Algen und biologische Abwasserreinigung

Untersuchungen über die Lebens- und Vermehrungsfähigkeit von Algen in Abwässern

Die biologische Selbstreinigung von Gewässern ist einer der wichtigsten ökologischen Prozesse in der Natur. Die biologische Abwasserreinigung ist ein technisch gesteuerter Spezialfall dieses in jedem natürlichen Gewässer ablaufenden Vorgangs.
Die Bakterien spielen bei der Selbstreinigung unumstritten die wichtigste Rolle. Neben ihnen könnten auch Wimpertiere (Ciliaten) an ihr beteiligt sein.
Da viele Algen organische Stoffe aufnehmen und verwerten können, ja sogar teilweise von ihnen abhängig sind, drängt sich die Frage nach ihrer Beteiligung an der Selbstreinigung auf. Die hier dargestellten Versuche von H.-J. Voß mit kommunalem Abwasser als Modell zeigen, daß sich gewisse, gegen Verschmutzung unempfindliche Algenarten in ungeklärtem Abwasser gewaltig vermehren können.

Redaktion

Kein in der Natur auftretendes Wasser ist völlig frei von gelösten Stoffen. Neben den im Wasser gelösten anorganischen Feststoffen und Gasen sind eine unübersehbare, erst in den letzten Jahren näher bekannt gewordene Zahl von organischen Verbindungen echt oder kollodial im Wasser gelöst: Aminosäuren, Kohlenhydrate, Huminstoffe, Vitamine, Enzyme u. a.
Die Herkunft der im Wasser gelösten organischen Verbindungen ist verschiedenartig: Ausscheidungen von Photosyntheseprodukten von Algen (Fogg et al. 1965, Watt 1966) und höheren Wasserpflanzen (Wetzel 1969) und sehr wahrscheinlich auch Exkrete von Bakterien. Organische Stoffe werden weiterhin aus abgestorbenen Organismen durch Hydrolyse und mikrobiellen Abbau frei, und schließlich gelangen große Mengen organischer Verbindungen durch die Zufuhr von ungereinigten Abwässern in die Gewässer.
Im Stoffwechselgeschehen der Gewässer spielen die organischen Verbindungen, besonders die reaktionsfähigen organischen Säuren, Stickstoffverbindungen und Kohlenhydrate, eine bedeutende Rolle. Sie sind eine wichtige Nahrungs- und Energiequelle für die heterotrophen Bakterien und Pilze und Algen sowie Wachstumsfaktoren für Algen (Pringsheim 1959). Besonders den Polypeptiden und Aminosäuren kommt eine wichtige Bedeutung im Stoffhaushalt der Gewässer zu (Gocke 1970); sie sind eine Nahrungsquelle für Bakterien und Wachstumsfaktor für autotrophe Produzenten. Erwähnenswert sei an dieser Stelle die Fähigkeit einzelner organischer Verbindungen (Polypeptide), anorganische Ionen komplex zu binden und damit deren Ausnutzungsgrad für die Algen zu erhöhen oder zu erniedrigen (Fogg & Miller 1958, Whitton 1965). Manche kokkalen Grünalgen sind sogar in der Lage, sich bestimmte organische Verbindungen als Kohlenstoff- oder Stickstoffquelle direkt nutzbar zu machen.
Diese Fakten legen die Vermutung nahe, daß bei der biologischen Selbstreinigung der Gewässer oder gar bei biologischer Elimination von Schadstoffen aus Abwässern den Algen eine gewisse Bedeutung zukommen könnte. Wären die Algen im Abwasser über einen längeren Zeitraum hinweg lebensfähig, könnten sie einmal die Abbautätigkeit der Bakterien, die fast ausschließlich die organischen abbaubaren Stoffe mineralisieren, unterstützen und zum anderen durch ihren Photosyntheseprozeß einen Beitrag zur zusätzlichen Sauerstoffversorgung des Abwassers leisten. Bekanntlich ist die biologische Aufbereitung von Abwässern ein aerober Vorgang; eine biologische Reinigung kommunaler Abwässer ist ohne künstliche Belüftung gar nicht möglich, da andernfalls ein anaerober Abbau einsetzen würde, bei dem höchst unerfreuliche Gerüche auftreten. Die Anwesenheit von Algen würde die Oxidationsvorgänge sehr erleichtern und wenn gar der gesamte Sauerstoffbedarf der beim oxidativen Abbau tätigen Bakterien von den Algen geliefert würde, würde sich eine zusätzliche Belüftung des Abwassers erübrigen.
In dem vorliegenden Beitrag wurde die Vermehrung und Lebensfähigkeit von Al-

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

Tabelle: Vermehrung der drei dem Abwasser zugesetzten Algenarten sowie einiger für verschmutztes Wasser typischen Tiere. Die Zahlen geben die Mittelwerte aus je drei Versuchen an.

Name	Anzahl der Organismen/10 ml												
	12 h	24 h	2.	3.	4	6.	8.	10.	12.	14.	16.	18.	22. Tag
Euglena gracilis	32	48	540	4 640	15 930	25 800	26 900	7 780	4 730	3 230	2 900	2 230	852
	25	14	324	3 520	3 830	4 680	6 290	3 490	3 250	3 050	2 830	1 180	538
	936	3 830	4 540	26 900	28 400	34 900	48 400	32 500	28 900	26 400	20 500	15 900	10 550
Scenedesmus obliquus	65	96	6 430	12 780	36 300	44 700	110 000	180 000	270 000	130 000	160 000	180 000	220 000
	43	85	50 400	100 000	120 000	150 000	180 000	210 000	340 000	310 000	170 000	190 000	240 000
	6 080	7 260	9 370	44 800	46 300	68 900	240 000	260 000	380 000	380 000	240 000	280 000	320 000
Chlorella pyrenoidosa	84	130	7 980	15 800	29 800	41 400	90 000	160 000	250 000	120 000	140 000	175 000	200 000
	72	127	27 200	140 000	160 000	160 000	180 000	240 000	380 000	340 000	190 000	230 000	260 000
	7 630	6 840	7 340	26 400	22 500	56 400	220 000	240 000	350 000	380 000	270 000	280 000	330 000
Bodo putrinus	78	155	580	1 940	420	—	—	—	—	—	—	—	—
	460	210	135	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	562	773	1 580	486	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Glaucoma scintillans	25	63	376	1 270	2 580	220	—	—	—	—	—	—	—
	376	482	11 650	7 780	673	—	—	—	—	—	—	—	—
	126	548	873	1 370	465	—	—	—	—	—	—	—	—
Vorticella microstoma	—	—	6	74	1 760	3 340	7 780	2 880	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	73	537	1 760	—	—	—	—	—	—
Colpidium campylum	—	8	550	2 340	875	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	544	2 580	2 340	827	—	—	—	—	—	—	—
Colpidium colpoda	—	—	—	364	1 780	1 250	547	—	—	—	—	—	—
Lionotus lamella	—	—	—	—	26	320	3 880	—	—	—	—	—	—
Cyclidium citrellus	—	—	—	—	6	49	—	—	—	—	—	—	—
Opercularia coarctata	—	—	120	770	2 330	2 570	720	57	3	—	—	—	—
Podophrya fixa	—	—	—	—	350	940	1 540	2 000	560	139	—	—	—
Trachelophyllum signoides	—	—	—	—	—	—	16	69	436	—	—	—	—
Dorylaimus stagnalis	—	—	—	—	58	163	540	1 250	324	—	—	—	—
	—	—	—	112	446	1 170	1 380	1 810	194	—	—	—	—
	—	—	198	214	460	938	1 890	237	8	—	—	—	—

gen in Abwässern untersucht, nachdem dieses mit Algen künstlich beimpft worden war. Regelmäßige Probeentnahmen und die mikroskopische Durchmusterung der Proben sollten einen Einblick in den Ablauf des biologischen Selbstreinigungsprozesses des Abwassers ermöglichen, wobei das Auftreten verschiedener Populationen von Abbauorganismen und die Vermehrung der Algen besonders beachtet wurde.

Methoden

Modellversuche zur Reinigung kommunaler Rohabwässer

Im Versuch wurde kommunales Rohabwasser verwendet. Das Abwasser wurde dem Zulauf einer Kläranlage entnommen und durch Papierfiltration von den gröbsten

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

Schmutz- und Schwebeteilchen befreit. Da die Zusammensetzung des Abwassers gemäß den menschlichen Gewohnheiten (Morgentoilette, Mittags- und Abendspülwasser) nicht konstant ist, wurden die Proben jeweils drei verschiedenen Tageszeiten (8 Uhr, 13 Uhr und 19 Uhr) entnommen.

Das mechanisch gereinigte Abwasser wurde in kleine Aquarien (10 Liter) gegeben und mit Hilfe einer Aquarienpumpe nebst Ausströmersteinchen künstlich belüftet. Pro Liter wurde das Abwasser mit je 20 ml einer dichten Algenkultur von *Euglena gracilis, Scenedesmus obliquus* und *Chlorella pyrenoidosa,* die als Versuchsalgen eingesetzt wurden, beimpft. Der Augenflagellat *Euglena gracilis* wurde in einer Erdlösung mit etwas Käse (Erd-Käse-Methode) gezüchtet; *Scenedesmus* und *Chlorella* wurden in flüssigem oder — zur Erhaltung von Stammkulturen — auf festem (Agar 1 g%) Kulturmedium folgender Zusammensetzung kultiviert:

KNO_3	0,02 g%
$(NH_4)_2HPO_4$	0,002
$MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$	0,002
$CaSO_4$ (ges.)	2 ml ad 100
Spurenelement-Stammlösung	0,5 ml

Aufgestellt wurden die Aquarien an einem hellen Standort; die Versuchsdauer betrug 22 Tage für jeden Einzelversuch.

Entnahme der Proben und deren Auswertung

Zur Probeentnahme wurde das Abwasser gründlich umgerührt, damit auch abgesetzte Organismen von den Beobachtungen erfaßt wurden. Mit einer Pipette wurde dem Rohabwasser eine Probe entnommen, in ein geeichtes Zentrifugenglas überführt und bei 1600 U/min. zentrifugiert. Nach ca. 90 Sekunden hatten sich die Organismen am Boden des Glases abgesetzt. Der Überstand wurde vorsichtig abgehebert und der Zentrifugenrückstand wurde dem Glas entnommen und bei 200facher Vergrößerung mikroskopiert. Nachdem die enthaltenen Organismen bestimmt worden waren, wurden sie mit Eisessig-Lugol fixiert und ausgezählt. Einzelfunde von Organismen wurden nicht in die Zählung aufgenommen und Zellkolonien von *Scenedesmus* wurden als Einzelorganismus gewertet.

Obwohl diese Methode der Zählung von Organismen fehlerhaft ist, da immer Organismen beim Überführen des Zentrifugenrückstands auf den Objektträger verloren gehen, so ist sie doch geeignet, orientierende Werte über die Anzahl der im Abwasser enthaltenen Lebewesen zu liefern.

Ergebnisse

Die Ergebnisse der durchgeführten Versuche sind in der Tabelle dargestellt; die

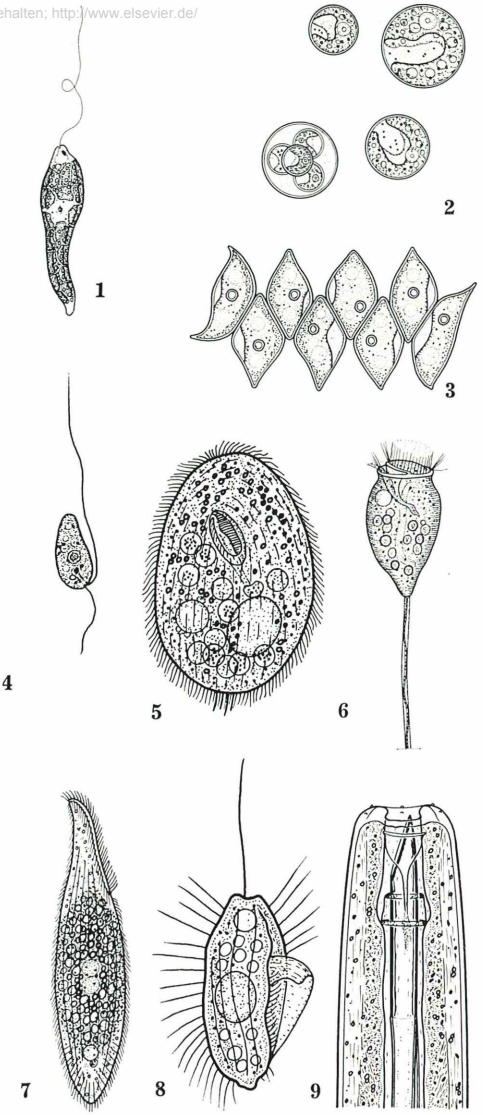


Bild 1: Das „Augentierchen" *Euglena gracilis.*

Bild 2: *Chlorella vulgaris.* Die in den Versuchen beschriebene *Chlorella pyrenoidosa* ist morphologisch sehr ähnlich.

Bild 3: *Scenedesmus obliquus,* eine koloniebildende Grünalge.

Bild 4: Der Zooflagellat *Bodo putrinus.*

Bild 5: Das Wimpertier *Glaucoma scintillans.*

Bild 6: Das Glockentier *Vorticella microstoma.*

Bild 7: Das ciliatenfressende Wimpertier *Lionotus lamellae.*

Bild 8: Das Wimpertier *Cyclidium citrullus.*

Bild 9: Der Fadenwurm *Dorylaimus stagnalis,* Vorderende.

Bilder 1—9 aus Streble-Krauter, Das Leben im Wassertropfen, Kosmos-Verlag.

eingetragenen Werte stellen aufgerundete Mittelwerte aus je drei Versuchsreihen dar.

Beim Ablauf des biologischen Selbstreinigungsprozesses des Abwassers lösen sich zeitlich aufeinanderfolgende Populationssukzessionen verschiedener Organismen ab. Die Ursache für diese Nahrungskettenbildung ist in der unterschiedlichen Ernährungsweise, der Stoffwechsel- und Wachstumsgeschwindigkeit sowie in der Nahrungskonkurrenz der einzelnen Arten zu erblicken.

In der Kette der Destruenten und Konsumenten sind populationsdynamisch gesehen die Bakterien die erste Stufe, auf der die gelöste organische abbaubare Substanz unmittelbar verwertet wird. Zunächst liegt ein Überangebot an organischen Nahrungsstoffen vor, die Vermehrung der abbauenden Bakterien dauert folglich solange an, bis sich ein Gleichgewicht zwischen aktiver Biomasse und Nährstoffangebot eingestellt hat. Durch weiteren Nährstoffverbrauch sinkt die Anzahl der Bakterien, da nicht mehr genügend Nahrung für alle Bakterien zur Verfügung steht. Im weiteren Verlauf des Abbaus der organischen Stoffe kommt es zur Ausbildung von Ciliatenpopulationen verschiedener Artzugehörigkeit, zunächst natürlich von Bakterienfressern. Bakterienfressende Ciliaten sind von geringer Körpergröße (z. B. *Glaucoma scintillans)* und schon aus diesem Grunde zu einer schnellen Teilung befähigt. Die Fähigkeit, sich schnell zu vermehren, setzt sie in der Lage, unmittelbar nach den Bakterien als typische Organismen aufzutreten. Die große Anzahl der bakterienfressenden Ciliaten schafft die ernährungsmäßige Voraussetzung für das Auftreten von ciliatenfressenden Ciliaten *(Lionotus lamella).* Die Vermehrung dieser „Räuber" ist sehr abhängig vom Nahrungsangebot und der Bevölkerungsdichte der Beutetiere.

Bei der Betrachtung der in den Tabellen wiedergegebenen Ergebnisse fällt auf, daß die Artzugehörigkeit der Ciliatenpopulationen bei jedem Versuch unterschiedlich ist; die charakteristische Ausbildung von Lebens- und Freßgemeinschaften hängt also von den zufällig im Abwasser enthaltenen Organismen ab.

Das Algenwachstum verhält sich wie folgt beschrieben: Das Auftreten des Maximums der Bevölkerungsdichte von *Euglena gracilis* liegt zwischen dem 7. und 9. Tag, bei *Scenedesmus* und *Chlorella* liegt das Maximum zwischen dem 10. und 12. Tag. Im weiteren Verlauf des Abbaus wird *Euglena* allmählich von den Grünalgen verdrängt, somit erweisen sich die Grünalgen als die abbauaktivsten Algen. Nach dem Auftreten eines Minimums im Wachstumsverlauf von *Chlorella* und *Scenedesmus* streben die Grünalgen am Ende des Versuchs (zwischen dem 19. und 21. Tag) erneut einem Maximum zu. Der Grund für diese Erscheinung ist wohl darin zu erblicken, daß zu diesem Zeitpunkt ein Großteil der Abbauorganismen abstirbt. Die dem Abwasser entnommenen Schadstoffe werden als mineralische „Schlacke" dem Abwasser wieder zugeführt. Die mineralischen Substanzen werden von den Grünalgen erneut aufgenommen und zum Aufbau der Zelle und zur Erhaltung der Lebensfunktionen verwendet (siehe Bild 10).

Während *Euglena gracilis* für die Ciliaten keinerlei Nahrung darstellte, sind die Grünalgen *Scenedesmus* und *Chlorella* Glieder einer Freßkette. Wiederholt konnten Algenreste im Zellkörper des Ciliaten *Colpidium campylum* beobachtet werden.

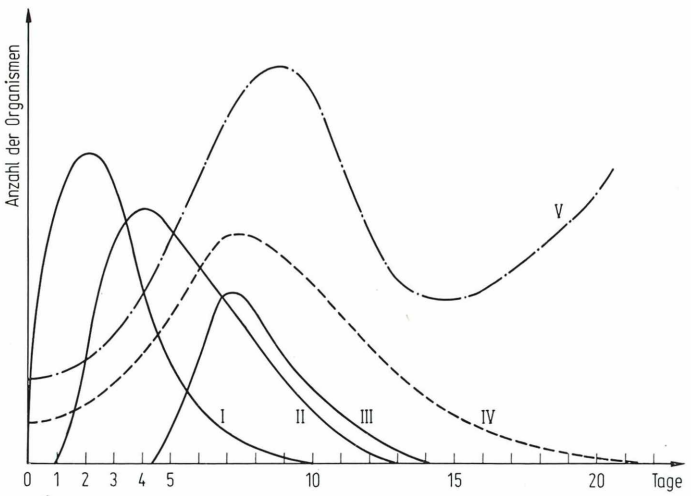


Bild 10: Vereinfachte graphische Darstellung der Entwicklung von Bakterien-, Ciliaten- und Ciliatenfresserpopulationen (Kurve I, II und III) sowie Wachstumskurven von *Euglena gracilis* (Kurve IV), *Scenedesmus* und *Chlorella* (Kurve V).

Literaturhinweise:

1. *Fogg, G. E.* and *Miller, J. D. A.:* The effects of organic substances on the growth on the fresh water alga Monodus subterraneus. — Verh. int. Ver. Limnol. 13, 892—895 (1958).
2. *Fogg, G. E., Nalewajko, C.* and *Watt, W. D.:* Extracellular products of phytoplankton photosynthesis. — Proc. R. Soc. London B 162, 517—537 (1965).
3. *Gocke, K.:* Untersuchungen über die Abgabe und Aufnahme von Aminosäuren und Polypeptiden durch Planktonorganismen. — Arch. Hydrobiol. 67, 285—387 (1970).
4. *Klee, O.:* Kleines Praktikum der Wasser- und Abwasseruntersuchung, Stuttgart 1970.
5. *Matthes/Wenzel:* Wimpertiere (Ciliaten), Stuttgart 1966.
6. *Pringsheim, E. G.:* Heterotrophie bei Algen und Flagellaten. Handbuch d. Pflanzenphysiol. 11, 303—326 (1958).
7. *Provasoli, L.* and *Pinter, I. J.:* Ecological implications on in vitro nutritional requirements of algal flagellates. Ann. N. Y. Acad. Sci. 56, 839—851 (1953).
8. *Streble/Krauter:* Das Leben im Wassertropfen, Stuttgart 1974.
9. *Watt, W. D.:* Release of dissolved organic material from the cells of phytoplanktonpopulations. — Proc. Roy. Soc. London A 164, 521—551 (1966).
10. *Wetzel, R. G.:* Excretion of dissolved organic compounds by aquatic macrophytes. — Biol. Science 19, 539—540 (1969).
11. *Whitton, B. A.:* Extracellular products of blue-green algae. — J. gen. Mikrobiol. 40, 1—11 (1965).
12. *Wuhrmann, K.:* Beitrag zur Kenntnis der Physiologie von Schmutzwasserorganismen. — Verh. Schweiz. Naturf. Ges. Zürich 126, 142 bis 143 (1945).

Verfasser: Hans-Jürgen Voß, Möllerstr. 44, 439 Gladbeck/W.

Friedhelm Göltenboth

Das Y-Chromosom in den Spermatocytenkernen der Taufliege Drosophila hydei

In den Spermatocytenkernen [1] vieler Tierarten kann man im Diplotän der Prophase I der Meiose [2] häufig ein diffuses Stadium der Chromosomen erkennen. Die Chromosomen erscheinen in dieser Phase wie „behaart". Sie durchlaufen nämlich hierbei einen Abschnitt, der wegen des Aussehens der Chromosomen wie eine „Lampenbürste" als Lampenbürstenstadium der Chromosomen bezeichnet wird. Besonders bei Amphibien-Oocyten [3] kann diese Lampenbürstenform der Chromosomen gut beobachtet werden. Für die Gattung *Drosophila* (Fruchtfliege) ist experimentell durch die Arbeiten von G. F. Meyer, Max-Planck-Institut für Biologie, Tübingen und O. Hess, Universität Düsseldorf im Verlauf der 60iger Jahre bewiesen worden, daß Chromosomen in den Spermatocyten ebenfalls eine Lampenbürstenphase durchlaufen.

In manchen Arten der Gattung *Drosophila* werden vor allem vom Y-Chromosom, dem geschlechtsbestimmenden Chromosom für Männchen, große Lampenbürstenschleifen ausgebildet. Eine dieser Arten, die besonders auffallende Schleifenbildung zeigt, ist *Drosophila hydei.*

Material und Methode

Zucht

Die Zucht von *Drosophila* kann in Plastikröhrchen erfolgen, die mit einem Schaumstoffstopfen verschlossen wird. Auch jede andere weithalsige Flasche kann verwendet werden (Bild 1 a). Als Futter empfiehlt sich ein Gemisch folgender Zusammensetzung:

75 g Maismehl + 15 g Agarpulver + 18 g Hefe mischen. 200 ml kaltes Wasser zugeben und rühren. 100 ml Zuckerrübensaft aus dem Reformhaus zurühren. 750 ml kochendes Wasser langsam unter Rühren zugeben. Das Gemisch 5 min bei mittlerer Temperatur kochen lassen. 6 ml Propionsäure zur Verhinderung von Schimmelbildung einrühren.

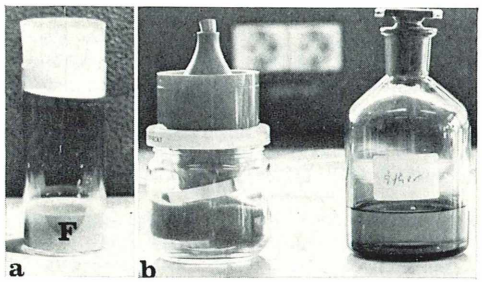


Bild 1: Ausrüstung für *Drosophila*-Zucht und Narkotisierung. *a* Plastikröhrchen mit Schaumstopfen und Futterbrei *(F)*. *b* Marmeladeglas, dessen Deckel von einem Plastiktrichter durchbohrt ist. Verschluß durch Gummihütchen.

Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten

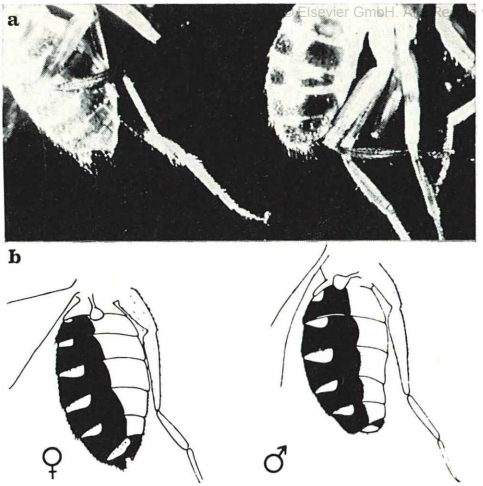


Bild 2: Abdomenende von *Drosophila hydei*. *a* Habitus von weiblichem und männlichem Abdomenende. Vergr. ca. 20 : 1. *b* Schemazeichnung.

Abfüllen des noch warmen Gemisches in Zuchtgefäße (ca. 2 cm/Gefäß) und abkühlen lassen. Filterpapiertüte in den noch warmen Futterbrei setzen.
Pro Zuchtgefäß 2—5 Pärchen *Drosophila hydei* einsetzen. Zuchttemperatur ist Zimmertemperatur. Der Futterbrei ist sowohl Nahrung für die Fliegen als auch für die Larven selbst. Die Zuchtdauer beträgt etwa 14 Tage, ist jedoch von der Anzahl von Nachkommen abhängig.

Präparation

1. Einige Tiere aus dem Zuchtgefäß in Narkoseglas schütten (Bild 1 b) und mit Äther narkotisieren.
2. Mit Hilfe einer Lupe oder eines Stereomikroskops männliche Tiere aussuchen (Bild 2 a). Die Männchen sind an ihrem abgerundeten Hinterleib zu erkennen. Die Weibchen haben als Erkennungsmerkmal am Ende des Abdomens eine Warze (Bild 2 b).
3. In einem Blockschälchen mit etwas *Drosophila*-Ringer [4] wird den narkotisierten Männchen das letzte Abdominalsegment mit Hilfe einer Präpariernadel und einer spitzen Pinzette abgetrennt. Zusammensetzung der *Drosophila*-Ringerlösung: 5,55 g NaCl + 0,22 g KCl + 0,44 g $CaCl_2$ werden in 1 Liter destilliertem Wasser gelöst. Mit NaOH auf pH 7,2 einregulieren.
   Die im Abdomen liegenden Hodenspiralen treten jetzt neben Malpighischen Gefäßen und Darmanteilen hervor (Bild 3 a—c).
4. In einen Tropfen *Drosophila*-Ringer auf einem bereitgelegten Objektträger eine isolierte Hodenspirale übertragen.
5. Deckgläschen auflegen und durch sanften Zeigefingerdruck Hodenspirale zum Platzen bringen.
6. Untersuchung der birnenförmigen Spermatocyten, die aus der Hodenspirale austreten, mit Hilfe eines Phasenkontrastmikroskops.

Ergebnisse und Beobachtungen

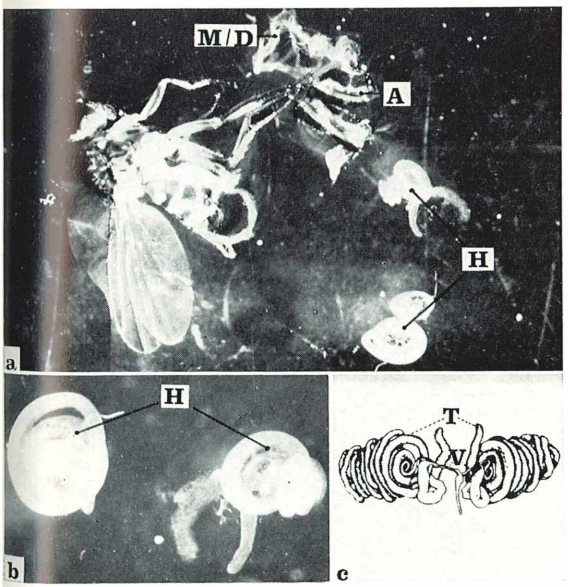
In einem Gewirr aus langen Spermienfäden und durch Brownsche Molekularbewegung in zitternder Bewegung gehaltener Hodenbestandteile sind die birnenförmigen Spermatocyten für diese Untersuchungen von Bedeutung.
In diesen Spermatocyten von *Drosophila hydei* sieht man bei starker Vergrößerung mehrere unterschiedlich gestaltete Strukturen (Bild 4 a). Der geübte Fachmann kann aus diesen diffus erscheinenden Bestandteilen die Hauptbestandteile eines solchen Spermatocytenkernes rekonstruieren (Bild 4 b). Durch die genaue Analyse vieler solcher Kerne konnte festgestellt werden, daß außer den schleifenartigen Strukturen *(K, F)* immer ein Nucleolus *(N)* vorliegt, der in diesem Spermatocytenstadium der Kernmembran *(KM)* innen anliegt. Dies bewirkt die birnenförmige Ausprägung des Kernes. Ferner ist ein Pseudonucleolus *(P)* vorhanden, der aus einem schaumförmigen Körper und zwei zapfenartigen Fortsätzen *(Z)* besteht. An weiteren Strukturen sind meist nur andeutungsweise Keulen zu erkennen *(K)*, die aus einer Grundsubstanz aus meist hohlen Granula bestehen. Diese Keulen können in ihrer Ausgestaltung sehr unterschiedlich sein. Ferner sind meist gut ein Paar kompakter Fäden *(F)* zu finden, die von der Nucleolusregion aus entspringen und distal in diffuses Material übergehen. Die Anteile des Spermatocytenkerns, die im Phasenkontrastmikroskop als graue diffuse Masse innerhalb des Kernes zu erkennen ist, konnte mit Hilfe der Elektronenmikroskopie als Tubuli *(T)* identifiziert werden. Diese Masse setzt sich aus einem Gewirr von bänderartigen und oft zu Knoten ineinander verwickelten Tubuli zusammen. Schematisch lassen sich all diese Strukturen wie in Bild 4 b darstellen. Es sind demnach fünf Hauptstrukturen in den Spermatocytenkernen zu finden: 1. Nucleolus, 2. Keulen, 3. Fäden, 4. Tubuli, 5. Pseudonucleolus.
Die Anordnung dieser Bestandteile ist artspezifisch. Auch variieren einzelne morphologische Anteile von Art zu Art.
Mit Hilfe von DNA [5] verdauenden Enzymen konnte nachgewiesen werden, daß bei Behandlung der Kerne mit diesem Enzym die Kernstrukturen weitgehend fraktioniert werden. Dies ist ein direkter Hinweis darauf, daß die Achsen dieser Schleifen aus DNA bestehen. Bei weiteren Versuchen zur

Klärung der Frage, woraus die Spermatocytenstrukturen bestehen, wurden radioaktiv markierte Bausteine der DNA (z. B. ^{3}H-Thymidin [6]) angewandt. Diese autoradiographischen Untersuchungen der Spermatocytenstrukturen bestätigten, daß die Schleifenachsen aus DNA aufgebaut sind. Eiweißverdauende Enzyme wie Trypsin und Pepsin, sowie das RNA [7] abbauende Enzym RNase greifen zwar die Hüllen der Schleifen an, die strukturelle Kontinuität der Schleife selbst wird aber durch solche Enzyme nicht verändert. Es kann also für den Aufbau der Spermatocytenschleifen ein ähnlicher Befund erhoben werden wie für die Lampenbürstenschleifen der Lampenbürstenchromosomen in Oocytenkernen von Amphibien. Um eine zentrale DNA-Achse ist sowohl eine beträchtliche Menge RNA als auch Protein als Hülle herumgelagert.

Nachdem dieser Aufbau klar geworden war, war die Frage, was diese Strukturen darstellen, evident. Besonders die Beziehung dieser Strukturen zu den Chromosomen war von großem Interesse.

Die Chromosomen sind bei allen Arten der Gattung *Drosophila* im Spermatocytenstadium so stark entspiralisiert, daß sie als Individuen mit dem Mikroskop nicht identifizierbar sind. Sofern also diese Schleifen zu einem ganz bestimmten Chromosom gehören sollten, konnte dies nicht direkt beobachtet werden. Auf rein morphologisch-deskriptive Weise war also eine Lösung dieser Frage nicht möglich.

Bild 3: Präparation der Hodenspiralen von *Drosophila hydei*. *a* Gesamtansicht des Präparats nach Entfernung des Abdomenendes in *Drosophila*-Ringer. Vergr. ca. 10 : 1. *b* Hodenspiralen. Vergr. ca. 28 : 1. *c* Schemazeichnung des männlichen Geschlechtsapparates. *A* Abdomenende, *D* Darmanteile, *H* Hodenspirale, *M* Malpighische Gefäßanteile, *T* Testis (Hoden), *V* Vas deferens.

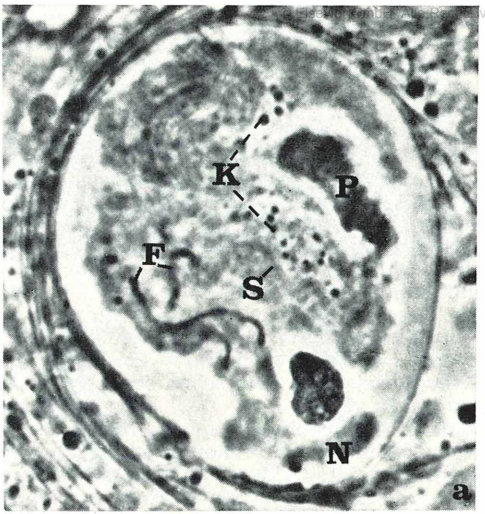


Ein erster Hinweis auf den Ort der Schleifenbildung wurde bei *Drosophila melanogaster* gefunden. Bei dieser Art fand man Männchen, in deren Spermatocytenkernen weder Keulen noch sonstige schleifenartige Gebilde zu finden waren. Von diesen Männchen wußte man, daß sie kein Y-Chromosom besitzen, also sogenannte X0-Männchen darstellen. Damit war ein erster Anhaltspunkt gegeben. Bei *Drosophila hydei*, die besonders große und deshalb bereits lichtmikroskopisch sichtbare Schleifen besitzen, war es möglich, durch eine spezielle Kreuzungstechnik Männchen ohne Y-Chromosom zu züchten.

Äußerlich oder phaenotypisch sind diese Y-losen Männchen von normalen Männchen nicht zu unterscheiden. Die Spermatocytenkerne solcher Männchen erscheinen jedoch bis auf den Nucleolus weitgehend leer. Dieser Effekt ist auch künstlich erreichbar. Unterbindet man nämlich experimentell die RNA-Synthese mit Hilfe von Actinomycin D, einem Antibiotikum, so erscheinen die Spermatocytenkerne ebenfalls als strukturlose Blasen. Ebenso läßt sich durch Bestrahlung der Männchen mit 5000 r (Röntgen) dieser Effekt erreichen (Bild 5). Durch solche Eingriffe in die RNA-Synthese kollabieren die Schleifenstrukturen innerhalb von einigen Stunden. Ungefähr 4 Stunden nach Injektion von 0,01 µg Actinomycin D/Tier, treten die ersten morphologischen Veränderungen auf. Zuerst verkürzen sich die Schleifen *(S)* und zeigen einzelne Aufblähungen. Nach 18 Stunden sind von den Fäden *(F)* nur noch zwei große ösenförmige Gebilde über dem Nucleolus zu sehen. 24 Stunden nach Injektion erscheinen die Spermatocytenkerne leer. Alle diese strukturellen Veränderungen sind reversibel. Ab der 36. Stunde beginnt eine Wiederbildung der Schleifenstrukturen, die etwa nach weiteren 40 Stunden beendet ist. Auch nach Röntgenbestrahlung werden die Strukturen innerhalb von 3 Tagen wiederhergestellt. Es können jedoch dabei auch irreversible Schädigungen auftreten.

Diese Versuche zeigen, daß die großen Strukturen des Spermatocytenkernes außer dem Nucleolus von der Anwesenheit des Y-Chromosoms abhängig sind, beziehungsweise von dessen voller Funktionsfähigkeit. Allerdings konnte damit noch nicht die Frage beantwortet werden, ob diese Strukturen tatsächlich vom Y-Chromosom selbst gebildet werden, oder ob das Y-Chromosom lediglich einen induzierenden Einfluß für ihre Ausbildung ausübt, ohne sich selbst dabei strukturell zu verändern.

Dieses Problem konnte gelöst werden, als man durch weitere Kreuzungsexperimente Männchen mit zwei Y-Chromosomen in ih-



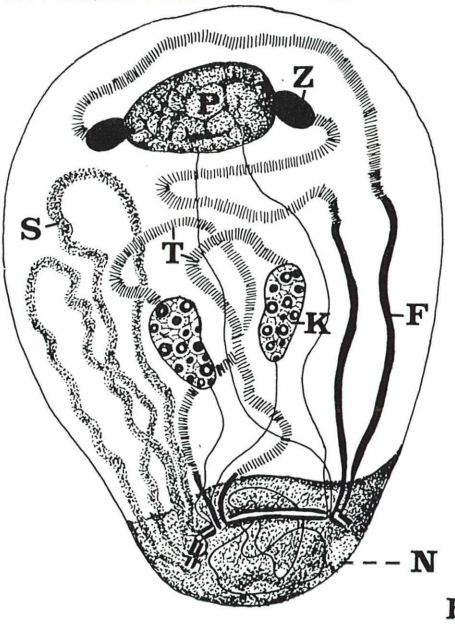


Bild 4: Spermatocytenkern von *Drosophila hydei*. *a* Phasenkontrastaufnahme in *Drosophila*-Ringer. Vergr. ca. 1800 : 1. *b* Schemazeichnung. *F* Fäden, *K* Keulen, *N* Nucleolus, *P* Pseudonucleolus, *S* Schleifen, *T* Tubuli, *Z* Zapfen des Pseudonucleolus.

rem Chromosomensatz gezüchtet hatte. In den Spermatocytenkernen dieser Tiere war die Anzahl aller Schleifenstrukturen verdoppelt. Dies war der Beweis dafür, daß diese Strukturen vom Y-Chromosom selbst gebildet werden.

Aber noch war nicht geklärt, ob diese Strukturen nur von einzelnen Stellen des Y-Chromosoms gebildet werden, oder ob sich das gesamte Y-Chromosom in dieser Art und Weise umformt. Zur Klärung dieses Problems war es notwendig, röntgeninduzierte XY-Translokationen [8] herzustellen. Dabei werden Teile des Y-Chromosoms an das X-Chromosom transloziert. Anschließend werden die Spermatocytenkerne dieser Art von Männchen untersucht und festgestellt, welche Strukturanteile vorliegen (Bild 6).

Auf diesem aus Kreuzungsgenetik und Cytogenetik kombinierten Weg konnte festgestellt werden, daß jede einzelne Schleife einen Bildungsort auf dem Y-Chromosom hat. Damit war es möglich, eine Kartierung der Bildungsorte auf dem Y-Chromosom vorzunehmen (Bild 7). Es war demnach klar, daß diese Spermatocytenkernstrukturen mit den Lampenbürstenschleifen der Lampenbürstenchromosomen in den Oocytenkernen von Amphibien vergleichbar waren, was für die cytogenetische Forschung von einiger Bedeutung ist.

Das univalente [9] Y-Chromosom durchläuft also während des Wachstums der Spermatocyten eine Lampenbürstenphase in der von einigen Bildungsorten, den Chromomeren, Schleifen entfaltet werden. Der Unterschied zu den Lampenbürstenchromosomen besteht dabei darin, daß bei *Drosophila* nur vom Y-Chromosom aus große Schleifen entfaltet werden. Auch die Anzahl der Schleifen ist im Vergleich zu einem Lampenbürstenchromosom relativ gering. Beim Kammolch z. B. beträgt die Zahl der Schleifenpaare bei 12 Chromosomen etwa 5000, das Y-Chromosom von *Drosophila hydei* zeigt hingegen lediglich 5 Schleifenpaare. Die Schleifen bei *Drosophila hydei* sind jedoch viel differenzierter und erheblich größer als der durchschnittliche Schleifentyp eines Lampenbürstenchromosoms eines Amphibiums.

Solche Schleifenbildung tritt bei *Drosophila* nur in den männlichen Keimbahnzellen auf und nur während des Spermatocytenstadiums. Es liegt daher die Vermutung nahe, daß ein Zusammenhang besteht zwischen der weiteren Differenzierung dieser Keimbahnzellen und der Schleifenausbildung.

Da die Männchen ohne Y-Chromosom voll lebensfähig sind, stand fest, daß keine lebenswichtigen Gene auf dem Y-Chromosom liegen können. Aufgrund von Fertilitätsuntersuchungen an translokationsdefizienten Männchen von *Drosophila hydei* konnte festgestellt werden, daß diese Männchen steril sind, sobald die Defizienz eine Region des Y-Chromosoms mit mindestens einem Bildungsort für eine Schleife umfaßt. Durch intensive kombinierte Kreuzungsexperimente mit translokationsdefizienten Männchen der verschiedenen Translokationsmutationen (s. Bild 6) konnte festgestellt werden, daß die erfolgreiche Auffaltung aller Schleifen von ganz entscheidender Bedeutung für den Ablauf der Spermiogenese [10]

ist. Dabei konnten drei Klassen von Defekten in der Spermiogenese festgestellt werden, die durch Defizienzen am Y-Chromosom von *Drosophila hydei* verursacht werden:

1. Sehr frühe Defekte: X0-Männchen, also Männchen ohne Y-Chromosom zeigen den Effekt, daß die Spermiogenese bereits im Spermatocytenstadium blockiert wird, so daß die Keimbahnzellen die restlichen meiotischen Stadien nicht mehr durchlaufen können, also keinerlei Spermatiden [11] gebildet werden können.
2. Frühe Defekte: Bei Defizienzen der Kinetochorregion des Y-Chromosoms treten in einem frühen Stadium der Spermatidendifferenzierung Blockierungen auf, da durch diese Defizienz Regionen mit den Bildungsorten für Schlingen *(S)*, Keulen *(K)* und Tubulibänder *(T)* verloren gehen. Dadurch wird eine Längsstreckung der Spermatiden unterbunden.
3. Späte Defekte: Effekte dieser Art findet man bei Männchen mit Defizienzen für die Bildungsorte für Fäden *(F)* und Pseudonucleolus *(P)*. Es werden zwar noch einige wenige Bündel von langgestreckten Spermatiden gebildet, aber die letzte Streckung ist gehemmt und eine Reifung der Spermien bleibt aus.

Es besteht demnach eine enge Korrelation zwischen Y-Konstitution und Wachstumskapazität der Spermatiden. Dies zeigt sich auch in dem Befund, daß die Spermien von Männchen mit 2 Y-Chromosomen etwa doppelt so lang werden wie normale Spermien. Dieses Ergebnis, zusammen mit den Befunden an defizienten Männchen geben den Eindruck, daß die Schleifen des Y-Chromosoms nicht Produktionsorte, sondern Sammel- und Koordinationsstellen für Substanzen sind, die in der Spermiogenese morphogenetisch wirksam werden.

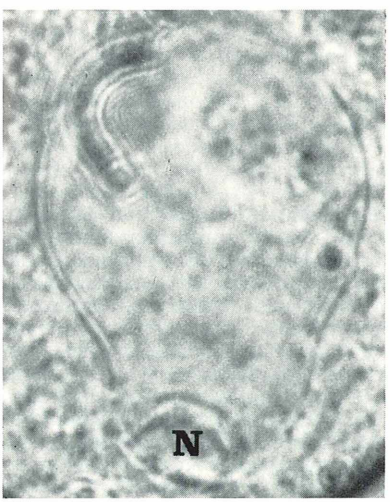


Bild 5: Spermatocytenkern von *Drosophila hydei* nach Bestrahlung der Männchen mit 5000 Röntgen (r). Phasenkontrast. Vergr. ca. 1500 : 1. *N* Nucleolus.

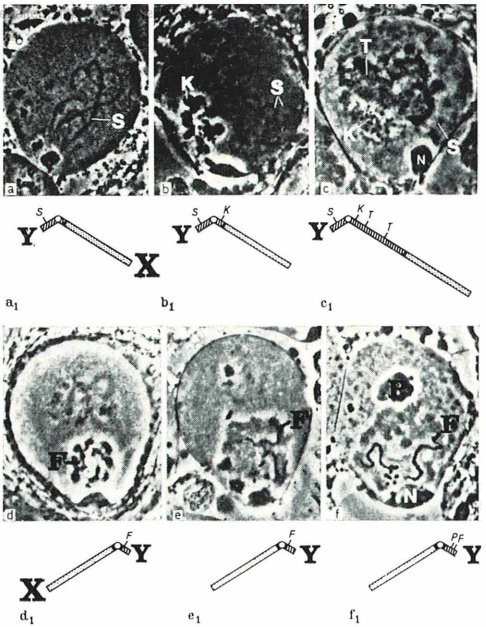


Bild 6: Spermatocytenkerne *(a—f)* von *Drosophila hydei* mit XY-Translokationschromosomen (a_1—f_1). *a* Translokationschromosom enthält nur den kurzen Y-Arm (Y^k). Im Spermatocytenkern die Schleifen *(S)*. *b* Translokationschromosom enthält den kurzen Y-Arm und ein kleines Fragment vom langen Y-Arm. Im Spermatocytenkern Schleifen *(S)* und Keulen *(K)*. c Translokationschromosom enthält den kurzen Arm und ein größeres Fragment vom langen Y-Arm. Im Spermatocytenkern Schleifen *(S)*, Keulen *(K)* und Tubulibänder *(T)*. *d* Translokationschromosom enthält nur ein sehr kleines Fragment vom langen Y-Arm. Im Spermatocytenkern Fäden *(F)* der *Drosophila hydei*-Mutanten „tubuliproximal". *e* Translokationschromosom enthält denselben sehr kleinen Fragmentanteil vom langen Y-Arm wie in *d*. Im Spermatocytenkern Fäden *(F)* des Wildtyps. *f* Translokationschromosom enthält ein etwas größeres Fragment des langen Y-Arms. Im Spermatocytenkern Fäden *(F)* und Pseudonukleolus *(P)*. Punktiert und schwarz: X-Chromosom (X). Schraffiert: Jeweilige Y-Chromosom-Anteile. Phasenkontrastaufnahmen. Vergr. ca. 600 : 1. Nach O. Hess, In: Hdb. d. allg. Path. Bd. 2, 1971, verändert.

Literaturhinweise:

1. *Beermann, W.:* Gen-Regulation in Chromosomen höherer Organismen. Jahrb. Max-Planck-Ges., 69—87 (1966).
2. *Göltenboth, F.:* Lampenbürsten-Chromosomen aus Oocytenkernen von Amphibien. Mikrokosmos, Jg. 62, 361—367 (1973).
3. *Hess, O.:* Strukturdifferenzierungen im Y-Chromosom von Drosophila hydei und ihre Beziehungen zu Gen-Aktivitäten. III. Sequenz und Lokalisation der Schleifenbildungsorte. Chromosoma (Berl.) 16, 222—248 (1965).
4. *Hess, O.:* Veränderungen der Chromosomenstruktur und ihre Beziehungen zur genetischen Funktion. Rev. Suisse Zool., Tome 76, Fascicule 3, 603—641 (1969).

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

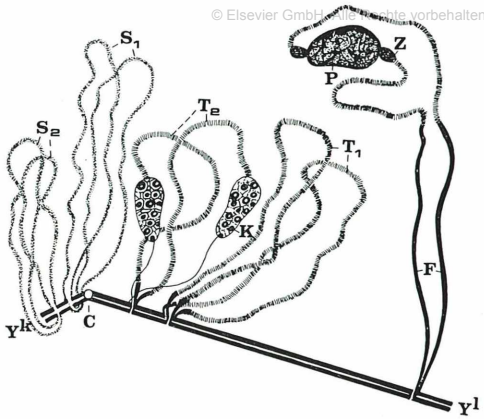


Bild 7: Lampenbürstenschleifen des Y-Chromosoms von *Drosophila hydei* mit Schleifenbildungsorten. *C* Centromer oder Kinetochor, *F* Fäden, *K* Keulen, *P* Pseudonukleolus mit Zapfen *(Z)*, S_{1-2} Schleifenpaar 1 und 2, T_{1-2} Tubulibänder 1 und 2, Y^l langer Arm des Y-Chromosoms, Y^k kurzer Arm des Y-Chromosoms.

5. *Hess, O.:* Lampenbürstenchromosomen. In: Hd. d. allg. Path. Bd. 2, 215—281, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1971.

6. *Meyer, G. F., Hess, O.:* Strukturdifferenzierungen im Y-Chromosom von Drosophila hydei und ihre Beziehungen zu Gen-Aktivitäten. II. Effekt der RNS-Synthese-Hemmung durch Actinomycin. Chromosoma (Berl.) 16, 249—270 (1965).

Erläuterungen:

1. Spermatocytenkern (n. La Valette St. George, 1886): Kern jeder Spermienmutterzelle
2. Diplotän der Prophase I der Meiose: Zellstadium bei der Keimzellenreifung während der ersten Reifeteilungsphase
3. Oocyte (n. Boveri, 1891): Eimutterzelle
4. Drosphila-Ringer: Ein in seiner Zusammensetzung der Körperflüssigkeit von Drosophila entsprechende Lösung zur Lebenderhaltung präparierter Zellen
5. DNA: Desoxyribonukleinsäure, Kernsäure
6. ^{3}H-Thymidin: Durch Tritium (^{3}H) radioaktiv markiertes Thymidinmolekül
7. RNA: Ribonukleinsäure, Kernsäure
8. XY-Translokation: Anteile des Y-Chromosoms sind in das X-Chromosom eingebaut
9. Univalent: Ein in der ersten meiotischen Reifeteilung ungepaartes Chromosom, da kein homologes Partnerchromosom vorhanden ist.
10. Spermiogenese: Samenzellbildung
11. Spermatide: Zellen mit haploidem Chromosomensatz als Ergebnis zweier aufeinanderfolgender Reifeteilungen

Verfasser: Dr. F. Göltenboth, Universitas Kristen dan IKIP Satya Wacana, Department of Biology, Institute of Cytogenetics and Microbiology, Salatiga/Central Java, Jl. Diponegoro 54—58, Indonesia.

Biologie in der Schule

Kurt-Rainer Roeser

Untersuchungen an isolierten Chloroplasten

Die Oberstufenreform in den Gymnasien stellt dem Biologielehrer neue Aufgaben: So hat er mit besonders interessierten Schülern Experimente auszuführen, die an aktuelle Forschungsprobleme heranführen. Im vorliegenden Bericht schlägt unser Mitarbeiter Kurt-Rainer Roeser Experimente zur Photosynthese vor, die den Schüler nicht nur mit einem der wichtigsten Lebensprozesse vertraut machen, sondern die auch Anlaß geben, die zukünftige technische Nutzung der Sonnenenergie zu diskutieren. Redaktion

Die Isolierung von Chloroplasten ist unerläßlich, wenn die Photosynthese detailliert untersucht werden soll. Im allgemeinen ist die Isolierung pflanzlicher Zellorganellen schwieriger als die Isolierung tierischer Zellorganellen. Die starre Zellwand aus Zellulose erschwert einen schonenden Aufschluß. Bei einigen Pflanzen gelingt jedoch die Isolierung von Chloroplasten sehr leicht. Häufigst verwendete Versuchspflanzen sind Spinat und Grasarten. Bei eigenen Untersuchungen habe ich sehr gute Erfahrungen mit *Tradescantia virginiana* (Virginisches

Spinnenkraut, bzw. Dreimasterblume) gesammelt, einer Versuchspflanze, die sich als winterfeste Staude sehr leicht im Garten halten und vermehren läßt. Die Isolierung der Chloroplasten ist bei diesem Objekt mit geringem Laboraufwand durchzuführen. Eine einfache Laborzentrifuge — mit regulierbarer Drehzahl — stellt das teuerste erforderliche Gerät dar. Darüberhinaus lassen sich die Chloroplasten tiefgefroren bei −20° C etwa 4 Wochen mit sehr geringem Aktivitätsverlust bei der Hillreaktion in einer gewöhnlichen Kühltruhe aufbewahren. Vorausgesetzt, die Isolierungspuffer sind vorbereitet, werden etwa 15 Min. für die Isolierung benötigt. Die Summe der positiven Eigenschaften ermöglicht es, mit *Tradescantia*-Chloroplasten auch in der Schule eindrucksvolle Versuche zur Photosynthese zu machen.

Isolierung: Für unsere Versuche stellen wir zweckmäßig einen Liter Isolierungspuffer her. Der Puffer kann tiefgefroren unbegrenzt lange aufbewahrt werden. Im Kühlschrank ist er wegen Schimmelpilzbefall nur einige Tage haltbar. Er ist wie folgt zusammengesetzt:

EDTA (Äthylendiamintetraessigsäure)	300 mg
KH_2PO_4	600 mg
KNO_3	200 mg
$MgCl_2 \cdot 6\,H_2O$	200 mg
$MnSO_4$	300 mg
Saccharose	100 g
NaCl	500 mg
ad H_2O	1000 ml

pH eingestellt mit HCl auf $6{,}0 \pm 0{,}5$

Einige Substanzen liegen bereits in hemmender Konzentration vor. Für die Isolierung stellt dies keinen Nachteil dar. Der hier verwendete Phosphatpuffer ist nicht ideal — Phosphationen zeigen in dieser Konzentration Hemmeffekte und können bei der Untersuchung der Photophosphorylierung stören —, der hohe Preis der anderen geeigneten Puffersubstanzen verbietet jedoch ihre Anwendung in der Schule.

In der Zeit von April bis November sind die *Tradescantia*-Pflanzen in gutem Wachstum. Wir entnehmen etwa 10 g kräftig grüne Blätter, bündeln sie, schneiden sie mit einer Schere in möglichst schmale Streifen und übertragen diese Streifen in ein Becherglas, das 150 ml Isolierungsmedium enthält, dem 50 mg Ascorbinsäure hinzugefügt wurden. Dieser Schritt und alle folgenden sollen bei 0° C erfolgen. Wir stellen daher unser Becherglas zur Vorkühlung in ein Eisbad. Vor Versuchsbeginn haben wir bereits ein Küchenmixgerät (Starmix oder gleichwertig) bis zum Eisansatz im Tiefkühlschrank vorgekühlt. Dies Gerät wird jetzt auf eine Arbeitsplatte gestellt, der Inhalt des Becherglases hineingegossen und dreimal je 20 Sek. mit etwa 10 Sek. Pause homogenisiert. Das Homogenat wird durch einen Nylonstrumpf (vor Gebrauch sorgfältig mit klarem Wasser gewaschen, in doppelter Lage verwandt) gepreßt, wobei der Preßsaft in ein vorgekühltes Becherglas tropft. Er wird dann sofort in Zentrifugenbecher überführt. In der vorgekühlten Zentrifuge (nach Möglichkeit wird die Zentrifuge auch während des Laufes in den Kühlschrank gestellt) wird zunächst 60 Sek. bei 200 g zentrifugiert. Hierbei sedimentieren die Zellkerne, Zelltrümmer und ein Teil der Chloroplasten. Sedimentieren zu viele Chloroplasten, muß die Drehzahl noch weiter verringert werden. Dieser Schritt ist der kritischste. Man probiert zweckmäßig nur mit einer kleinen Menge des Homogenats. Der Überstand wird in ein neues Zentrifugenglas überführt und nun bei 2000 g nochmals 60 Sek. zentrifugiert. Jetzt sedimentieren praktisch alle Chloroplasten. Das Sediment können wir wieder mit wenig Isolierungsmedium suspendieren. Jeder Schritt wird mikroskopisch kontrolliert. Nach dem zweiten Zentrifugenlauf haben wir schon recht gut gereinigte, durch den hohen Zuckergehalt etwas geschrumpfte Chloroplasten erhalten. Häufigste Verunreinigung stellen Calciumoxalatkristalle dar, die aber keine Nachteile hervorrufen. Daneben finden wir vereinzelte Mitochondrien (die aber im Rahmen dieser Versuche nicht stören), da Mitochondrien erst bei etwa 6000 g genügend rasch sedimentieren. Wir erfassen bei 2000 g und 60 Sek. nur die Mitochondrien, die sich im Zentrifugenglas in Bodennähe befinden, und „verdünnen" ihren Anteil im Sediment daher durch Wiederholung des Laufes. Bei richtiger Arbeitsweise sollten die Chloroplasten für unsere Zwecke je-

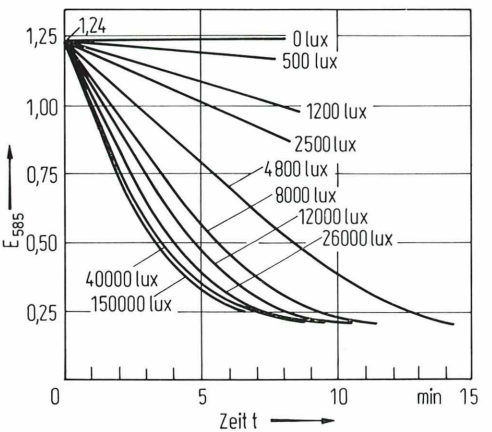


Bild 1. Reduktion von DCPIP durch eine stark verdünnte Chloroplastensuspension bei verschiedenen Lichtintensitäten bei Raumtemperatur. Bedingungen suboptimal. Bei optimalen Bedingungen etwa doppelte Geschwindigkeit erreichbar.

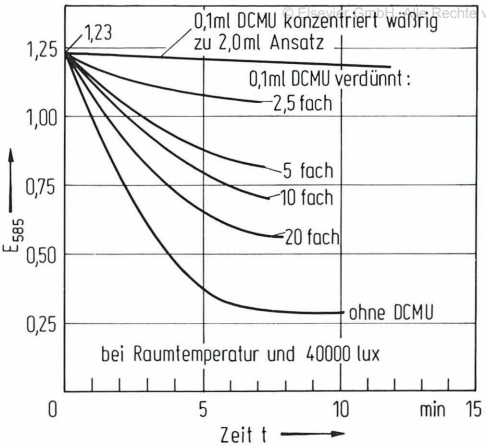


Bild 2: Wirkung von DCMU auf die chloroplastenkatalysierte lichtabhängige Reduktion von DCPIP.

doch bereits so gut sein, daß wir weitere Arbeitsgänge Reinheitsfanatikern überlassen können, zumal schädliche Diffusionsprozesse auftreten können. Bei anderen Pflanzen oder verfeinerten Zielsetzungen können allerdings sehr viele zusätzliche Schritte erforderlich werden, z. B. Dichtegradientenzentrifugation.

Unsere Chloroplastensuspension frieren wir zunächst bei etwa -20° C ein. Dieser Schritt ist nicht etwa nur eine Erholungspause für den Experimentator, sondern sogar notwendig, um höchste Aktivität aus den Chloroplasten herauszuholen. Nach diesem Schritt sind sie in bezug auf die Lichtreaktionstests etwa zweimal so aktiv wie im lebenden Gewebe. Lichtmikroskopisch besteht kein Unterschied zwischen Chloroplasten vor und nach dem Einfrieren. Das Einfrieren scheint jedoch die Membranen so verändert zu haben, daß kleine Moleküle schneller diffundieren können. Bei anderen Pflanzen lassen sich die Chloroplastenmembranen durch andere Methoden erschließen, z. B. osmotischer Schock, mechanische Behandlung, Zentrifugation oberhalb 10 000 g. Die Chloroplasten sind dann meist teilweise oder völlig fragmentiert. *Tradescantia*-Chloroplasten machen sich nichts aus solch rabiater Behandlung, sie reagieren weder schneller noch langsamer; nur Tiefgefrieren, das sie gleichzeitig lagerfähig macht, hat positiven Effekt. Bei anderen Pflanzen scheint Tiefgefrieren meist einen negativen Effekt zu haben. Das hängt wohl mit der unterschiedlichen Frostempfindlichkeit im Freiland zusammen.

Wir können auch schnell herausfinden, warum *Tradescantia*-Chloroplasten gegen hohe Drehzahlen unempfindlich sind. Machen wir den Jodstärketest, so werden wir mikroskopisch keine Stärkekörner erkennen. Nach meinen bisherigen, mehr flüchtigen Untersuchungen scheint *Tradescantia* zu den Pflanzen zu gehören, die Di- oder Oligosaccharide als überwiegende Photosyntheseprodukte erzeugt. Es sind nun die Stärkekörner in den Chloroplasten, die aufgrund der hohen angreifenden Beschleunigungskräfte den Chloroplasten bei hohen Drehzahlen zerstören. Fehlen sie, bleiben die Chloroplasten stabil.

Die Aktivität unserer Chloroplasten können wir mikroskopisch mit Tetrazoliumsalzen testen. Noch geeigneter ist aber die Anwendung von Dichlorphenolindophenol (DCPIP). Setzen wir unserer Chloroplastensuspension nach entsprechender Verdünnung eine geeignete Menge DCPIP zu, so wird die Suspension die blaue Farbe des oxidierten DCPIP annehmen. Bei Zimmerlichtstärke werden wir keine nennenswerte Ausbleichung beobachten, im Dunkeln überhaupt keine. Erhöhen wir die Beleuchtungsstärke dagegen auf den noch recht geringen Wert von etwa 5000 lux, so wird das DCPIP durch die Tätigkeit der Chloroplasten in etwa 4 bis 5 Min. ausgebleicht sein. Ein Blindversuch ohne Chloroplasten zeigt, daß das DCPIP dann nicht ausbleicht, der Effekt also auf einer von den Chloroplasten ausgehenden Reduktionswirkung beruht.

Unsere Versuche werden wir zweckmäßig quantitativ verfolgen. Viele Schulen besitzen bereits ein Photometer oder ein Kolorimeter, manche sogar ein Spektralphotometer. Soweit solche Geräte nicht zur Verfügung stehen, empfiehlt sich der optische Vergleich mit einer unbelichteten Vergleichsküvette, die DCPIP nur in der Hälfte der Anfangskonzentration der belichteten enthält. Gemessen wird dann die Zeit, die nach Belichtung vergeht, bis beide Küvetten optisch gleich in bezug auf Farbe und Dichte erscheinen. Der Äquivalenzpunkt ist gut erkennbar, da die grüne Eigenfärbung der Chloroplasten mit DCPIP eine charakteristische Mischfarbe ergibt. Die nachstehenden Ausführungen beziehen sich auf Verwendung eines Spektralphotometers. Sie sind jedoch so gefaßt, daß sie auch bei weniger günstigen Voraussetzungen erfolgreich durchgeführt werden können. Gemessen wird bei einer Wellenlänge von 585 nm (± 15 nm). DCPIP hat bei dieser Wellenlänge nach eigenen Messungen bei pH 7 einen Extinktionskoeffizienten von $E_{585} = 13{,}2\ \mathrm{cm^2/\mu Mol}$, im Alkalischen steigt der Extinktionskoeffizient bis auf einen Wert von $14{,}6\ \mathrm{cm^2/\mu Mol}$, im Sauren fällt er wesentlich ab, da die konjugierte Säure schwach rot gefärbt ist. Als pK-Wert ermittelte ich 5,8 (der pK-Wert ist der pH-Wert, bei dem die Hälfte einer amphoteren Substanz als Base, die andere Hälfte als konjugierte Säure vorliegt). Die Literaturangaben stimmen zum Teil mit diesen Werten überein, andere Angaben weichen

wesentlich davon ab. Vermutlich sind diese Abweichungen durch unterschiedliche Verunreinigungen von Farbstoff und Lösungsmittel (z. B. komplexbildende Metallionen) verursacht. Für unsere Versuche muß eine Stammlösung mit einer Konzentration von 1 mMol/l angesetzt werden. Dies entspricht bei der Verwendung des Natriumsalzes 29 mg/100 ml H_2O. Bei zwanzigfacher Verdünnung sollte diese Lösung eine Extinktion von 0,66 in einer 1-cm-Küvette besitzen. Man kann natürlich auch eine hochkonzentrierte Stammlösung herstellen, deren Extinktion durch Verdünnung bestimmen und die Stammlösung dann auf eine rechnerische Extinktion von 13,2 verdünnen. Dadurch wird die Wägung umgangen, wenn keine ausreichend genaue Waage zur Verfügung steht. Einen Teil der konzentrierten Chloroplastensuspension verdünnen wir mit dem Isolierungspuffer, bis sie bei 585 nm eine Extinktion von etwa 0,25 besitzt, und bewahren sie im Kühlschrank auf.

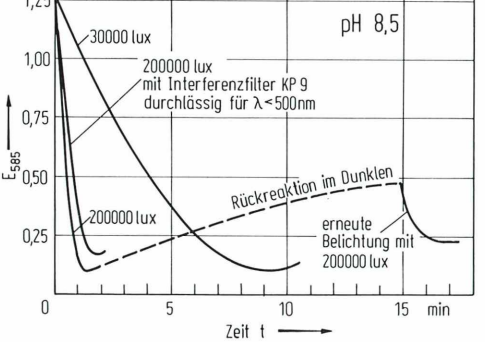
Für die photometrischen Messungen muß eine Lösung gefunden werden, die Küvette zwischen den Meßzeitpunkten (mindestens alle 30 Sek.) zu beleuchten. Mit Lichtleiterkabeln und in einem abgedunkelten Raum gelingt es wohl bei jedem Photometer, einen Aufbau zu schaffen, bei dem nahezu kontinuierlich gemessen werden kann. Da die Bedingungen bei jedem Fabrikat verschieden sind, muß die geeignete Lösung dem Geschick des Experimentators überlassen werden.

In eine Küvette pipettieren wir 2 ml unserer verdünnten Chloroplastensuspension und 0,2 ml DCPIP. In die Vergleichsküvette kann Wasser eingefüllt werden. Wir werden eine Extinktion von etwa 1,25 messen. Im Dunklen ändert sich die Extinktion nicht. Bei Beleuchtung fällt sie rasch ab, da die eingestrahlte Lichtenergie von den Chloroplasten zur Wasserspaltung (erkennbar an aufsteigenden O_2-Bläschen) und zur Anhebung von Elektronen auf ein Energieniveau verwendet wird, das zur Reduktion von DCPIP ausreicht.

Bild 1 zeigt eine Schar von Meßreihen mit wechselnden Beleuchtungsstärken. Man erkennt, daß bis zu einer Lichtstärke von etwa 8000 lux die Geschwindigkeit der Reduktion annähernd linear mit der Lichtstärke zunimmt. Oberhalb etwa 40 000 lux ist eine Steigerung kaum noch feststellbar (Lichtsättigungsbereich). Alle Kurven streben dem gleichen Endwert von etwa E= 0,22 zu, der der Extinktion der Chloroplastensuspension alleine entspricht. Das bedeutet, daß das Gleichgewicht völlig auf der Seite der Reduktion liegt. Unter etwas abweichenden Versuchsbedingungen (Fehlen verschiedener Ionen des Isolierungspuffers) kann auch im Dunkeln eine Rückreaktion ablaufen. Wir können die Reaktion durch Zugabe von DCMU (Dichlorphenyldimethylharnstoff) sehr spezifisch hemmen. Dazu stellen wir eine wäßrig konzentrierte Lösung von DCMU her. Da die Substanz schwer löslich ist, müssen wir die Lösung im Wasserbad bei etwa 40° C beschleunigen. Von dieser Stammlösung stellen wir verschiedene Verdünnungen her (bis etwa 1 : 20) und fügen dem im vorigen Versuch beschriebenen Ansatz jeweils 0,1 ml verdünnte DCMU-Lösung vor Beleuchtung hinzu. Bild 2 zeigt eine auf diese Weise gewonnene Kurvenschar, die sehr deutlich die starke Hemmung der Reaktion durch DCMU zeigt. Eigenartig ist, daß auch die Gleichgewichtslage der Reaktion verschoben wird. Möglicherweise lagen aber bei dieser Meßreihe andere Einflüsse vor, die dieses nicht ohne weiteres mit der Thermodynamik vereinbarte Ergebnis verursachten.

Leider ist es nicht mit ausreichender Genauigkeit möglich, die Energie der Lichtstrahlung von lux in Wattsec. umzurechnen. Dazu muß die genaue Charakteristik des Luxmeters und die Abhängigkeit des Strahlungsanteils je Wellenlängenbereich bekannt sein. Durch Vergleich mit der Strahlung eines schwarzen Körpers gleicher Farbtemperatur wie die Lichtquelle und Annahme, das Luxmeter sei der Empfindlichkeit des Normalauges entsprechend geeicht, errechnet sich in komplizierter Weise bei 4800 lux eine erstaunlich hohe Quantenausbeute. Wegen der Fragwürdigkeit des Berechnungsganges läßt sich dies jedoch nur als Abschätzung verwenden. Immerhin zeigt sich, daß die Chloroplasten in vitro hoch reaktiv sind. Für sorgfältige Messungen muß eine Thermosäule als Strahlungsenergieempfänger, monochromatische Strahlung und ein aufwendiger Versuchsaufbau verwendet werden.

Bild 3: DCPIP-Reduktion mit PMS. Durch pH-Verschiebung ins schwach Saure läßt sich die Reduktionsenergie speichern. Bei mäßiger Alkalisierung wird sie in wenigen Sekunden freigesetzt. Der geringe Energieinhalt der Reaktion und die Unbeständigkeit der Chemikalien gestattet jedoch, abgesehen vom Modellcharakter, keine Nutzanwendung.



© Biologie in unserer Zeit; Reproduktionsvorbehalt; Verwertung in Datenbanken

Die Berechnungen zeigen aber auch, daß Chloroplasten einen von der Technik unerreichten Wirkungsgrad der Umwandlung von Lichtenergie in gespeicherte Energie erzielen. Es wäre nützlich, die Lichtreaktion der Chloroplasten technisch nachzuahmen. Wichtig ist nur die Nachahmung des Prinzips, das folgende Positionen erfordert: 1. Einen Elektronen- und Wasserstoffdonator (bestgeeignet wäre Wasser), 2. Einen Farbstoff, der Licht absorbiert, energetisch angehobene Elektronen an einen Acceptor abgibt und dafür Elektronen von einem Donator aufnimmt. 3. Einen Endakzeptor, der die Elektronen auf Protonen überträgt und Wasserstoff in status nascendi bildet. 4. Vermittelnde Redoxsysteme, die den Elektronentransport zwischen den unter 1 bis 3 genannten Substanzen ermöglichen. Der Wasserstoff könnte dann in der bereits von der Technik beherrschten Weise zur Herstellung von Kohlenwasserstoffen odgl. verwendet werden. Sonnenenergie wäre dadurch in Form einer energiereichen Verbindung gespeichert. Der Schwerpunkt liegt dabei auf dem Wort „gespeichert". In der oft nicht sehr fachkundig geführten Energiediskussion in der Öffentlichkeit wird nämlich meistens das eigentliche Problem der Nutzung der Sonnenenergie verkannt. Die Umwandlung in Wärme und mechanische Energie bereitet keine grundsätzlichen Schwierigkeiten, fraglich ist lediglich die Wirtschaftlichkeit wegen der großen Anlagekosten. Wichtiger wäre eine Lösung, bei der die in günstiger Jahreszeit oder Lage eingestrahlte Energie gespeichert und zu anderer Zeit und, oder in anderer Lage wieder freigesetzt wird. Letzten Endes liegt aller fossilen Energie dieses Prinzip zugrunde.

Es ist nicht allzu schwer, Systeme aufzubauen, die einen Teil der o. g. Voraussetzungen erfüllen. Ein kleiner Demonstrationsversuch sei genannt. Wir stellen eine Phenazinmethosulfatlösung mit einer Konzentration von 0,1 mMol/l her und pipettieren 2 ml dieser Lösung in eine Küvette, in die wir weiterhin 0,2 ml unserer 1 mM DCPIP-Lösung hineinpipettieren. Im Dunklen zeigt diese Lösung im Photometer eine Extinktion von etwa 1,25. Die Extinktion bleibt zeitlich konstant. Bei Beleuchtung fällt sie sehr schnell ab, bei 150 000 lux sehr viel schneller als bei unserer Chloroplastensuspension, bei 30 000 lux jedoch bereits langsamer (Bild 3). Dies zeigt, daß die Reaktion bis 150 000 lux kein Lichtsättigungsphänomen aufweist, andererseits aber gegenüber der Chloroplastensuspension nur einen Teil der Strahlung ausnutzt. Schalten wir ein Interferenzfilter in den Strahlengang, das nur die Strahlung mit einer kürzeren Wellenlänge als 500 nm durchläßt, so verläuft die Reaktion fast genauso schnell wie ohne Interferenzfilter, d. h. nur die blaue Strahlung ist wirksam und wir können vermuten, daß Phenazinmethosulfat Strahlungsakzeptor und Elektronendonator ist. Im Dunklen und Alkalischen verläuft die Reaktion begrenzt reversibel. Offensichtlich erleidet das System aber auch durch die Beleuchtung Zerstörungen. Daher ist es letzten Endes uninteressant für die komplette Zielsetzung. Meines Erachtens dürfte es aber sinnvoller sein, an der technischen Nachahmung der Photosynthese zu arbeiten, statt Millionenbeträge in die vom physikalischen Prinzip her verhältnismäßig simplen und anlageaufwendigen Solarheizungen zu investieren, deren Eignung sich bei der bisher angewandten Technik auf die Warmwasserbereitung im Sommer beschränkt.

Verfasser: Kurt-Rainer Roeser, Luisenstr. 20 a, 5014 Kerpen.

Wasserstoffsuperoxid und Essigsäure als Hilfsmittel zur Herstellung von Häutchenpräparaten von Koniferen-Nadeln

Gegenüber früheren Methoden erlaubt das hier beschriebene Verfahren die Anfertigung von Häutchenpräparaten hoher Qualität, die frei von Harz- und Tannin-Einschlüssen sind. Ganze Nadeln — ob frisch, konserviert oder getrocknet, spielt keine Rolle — werden für 12—20 Stunden in ein Gemisch aus gleichen Teilen 30%igen Wasserstoffsuperoxids (H_2O_2) und Eisessigs bei 80 bis 100° C gelegt. Wenn die Nadeln ganz weiß sind, werden sie herausgenommen und in Wasser gewaschen, bis keine Spuren von Säure mehr wahrzunehmen sind. Jede Nadel wird nun einzeln unter Wasser in einer Petrischale unter einem Präpariermikroskop mit Hilfe einer feinen Pinzette an einem Ende festgehalten und mit einer Rasierklinge an einer Seite längs aufgeschnitten; mit einer weiteren Pinzette läßt sich die Nadel jetzt wie eine Tasche aufklappen und ihr Inhalt ganz leicht herauswischen. So erhält man ein sehr gutes Häutchenpräparat der gesamten adaxialen und abaxialen Epidermis. Gefärbt wird in einem Uhrglas in einer Mischung aus gleichen Teilen 0,5%iger, wäßriger Lösungen von Safranin und Säurefuchsin. Nach Entwässerung über die aufsteigende Alkoholreihe werden die Präparate mit Euparal eingeschlossen. Gute Ergebnisse wurden außer bei *Juniperus recurva* und *Abies forrestii* auch bei den kleinen Schuppenblättern bzw. Nadeln von *Cupressus-* und den großen von *Podocarpus*-Arten erzielt. Wesentlich für die Anwendbarkeit dieses Verfahrens ist die Anwesenheit einer robusten Kutikula, wie sie bei den Nadeln der Koniferen vorliegt, die den Epidermiszellen den nötigen Zusammenhalt gibt.

Jain, K. K.: Hydrogen peroxide and acetic acid for preparing epidermal peels from conifer leaves. Stain Technol. 51, 202—204 (1976).

Alexander Pareto

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

Frieder Sauer

Mit dem Mikroskop am Meer

Seit vielen Jahren gehören Mikroskop, Aufsetzkamera und Mikroblitz zu meinem normalen Urlaubsgepäck, wenn es zum Badeurlaub an das Meer geht. Wenn andere sich dann im Sand herumlangweilen und sich in die pralle Sonne legen, bis sie durch Überhitzung in die Lethargie fallen, kann ich unter dem Deckglas auf Entdeckungsreise gehen.

Man kann die Motive am Strand in drei Gruppen einteilen. Die erste umfaßt Teile größerer Tiere und Pflanzen, z. B. die manchmal zu „Kirchenfenstermustern" angeordneten Zellen der Algenthalli, die Facettenaugen der Krebse, ihre Mundgliedmaßen, die vielgestaltigen Borsten der Meeresborstenwürmer, Kalk- und Kieselsäurenadeln der Schwämme, Fischschuppen und vieles mehr. Das alles betrachtet man meist mit schwacher Vergrößerung.

Die zweite Gruppe enthält die Mikroorganismen der Uferzone, des Algenaufwuchs und des Lebensraumes in den Sandlücken. Die Tiere des Schlammbodens findet man in der obersten Schicht vom Schlammproben, die man in einem Bottich absitzen läßt. Tiere des Sandlückensystems findet man durch Schlämmen von Sandproben im Überstand. Festsitzende Tiere lassen los, wenn man den Sand etwa mit 3%iger Magnesiumchloridlösung durchschüttelt. Nach Absitzen der Sandkörner filtriert man dann die im Überstand treibenden betäubten Kleinstorganismen durch ein Planktonnetz. Man findet Kieselalgen, Bärtierchen, Wimpertiere und vieles mehr, was in der Gestalt der Süßwasserfauna und -flora sehr ähnlich ist. Die Anpassung an Salz- oder Süßwasser erfordert offenbar keinen Umbau der Körpergestalt.

Größere Tiere des Sandlückenraumes findet man, indem man nahe an der Wasserlinie ein möglichst tiefes Loch im Sand aushebt und das darin zusammenlaufende Wasser ausschöpft und durch ein Planktonnetz gießt. Ideal zum Bau eines Planktonnetzes ist übrigens feinste Müllergaze, wie man sie wohl in jeder Mühle bekommen kann.

Ein auffallender Bestandteil aller Proben aus dem Uferbereich sind die Gehäuse der Foraminiferen, sandkorngroß, immer vielkammerig und oft an Schneckenhäuser erinnernd. Man findet seltener auch die lebenden Tiere, die recht bunt sein können. Ihre Pseudopodien sind aber immer bis zur Unkenntlichkeit mit Schmutz behängt. Überhaupt beeinträchtigt der allgegenwär-

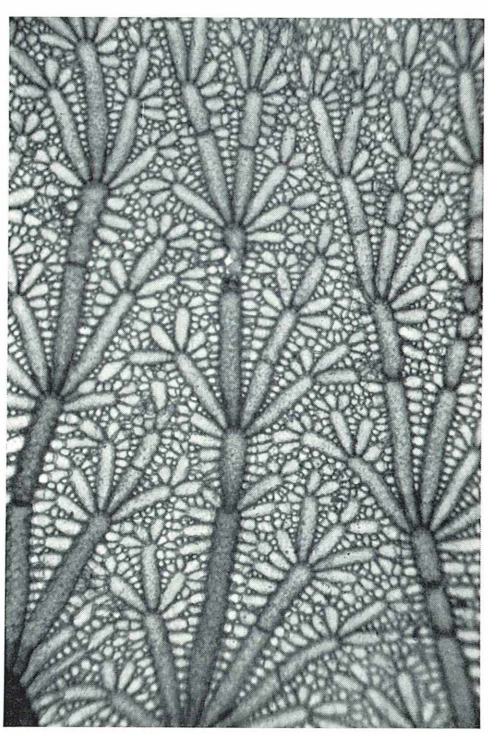


Bild 1: Ausschnitt aus dem Thallus der marinen Grünalge *Anadyomene stellata*.

tige Dreck oder, vornehmer ausgedrückt, der Detritus die Freude am Schauen. Eine Ausnahme macht der Sand selber, vor allem, wo in Stillwasserwinkeln seine leichtesten Bestandteile zusammengetrieben wurden. Hier besteht der Sand manchmal zu einem großen Teil aus mehr oder weniger zertrümmerten und abgeschliffenen winzigen Muschel- und Schneckenhäusern, Gehäusen von Kalkröhrenwürmern, Korallen und weiteren Bestandteilen, deren Herkunft nicht mehr zu erkennen ist.
Die dritte Motivgruppe umfaßt die Organismen, die im offenen Meer schweben, also die Mitglieder der Lebensgemeinschaft, die als Plankton zusammengefaßt wird. Das Meeresplankton ist weitaus formenreicher als das des Süßwassers, und seine Mit-

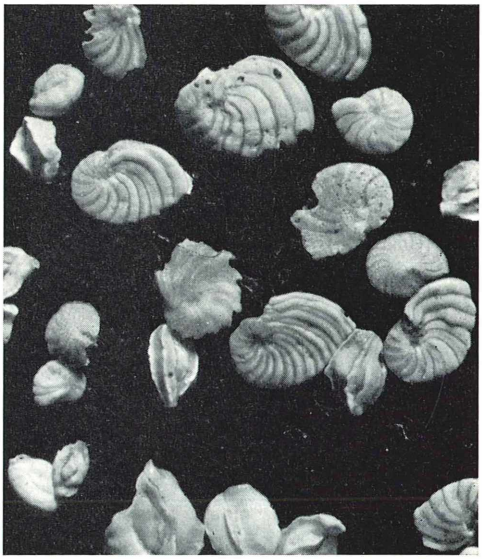


Bild 2: Foraminiferenschalen aus der Adria.

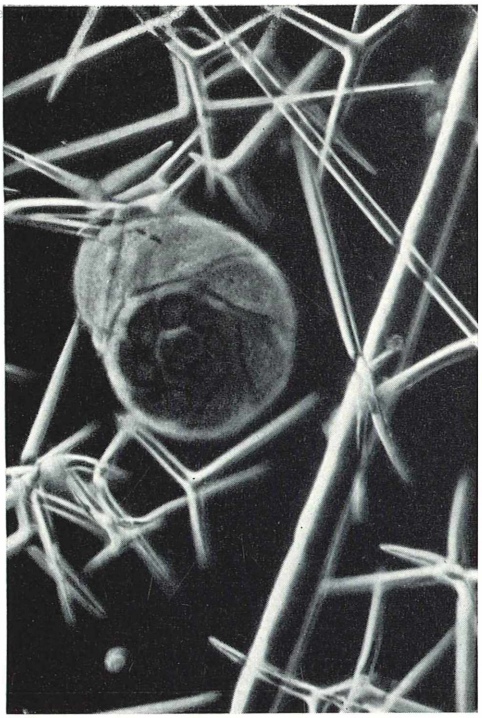


Bild 3: Lebende Foraminifere zwischen Nadeln eines Kalkschwammes.

glieder sind teilweise raffinierter an das Leben in der Schwebe angepaßt. Seine Zusammensetzung schwankt stark nach Ort und Zeit. Nachts kommen Tiere an die Oberfläche, die tagsüber lichtscheu in die Tiefe fliehen.
Wohl in jeder Planktonprobe sind leuchtende Organismen. Wenn man ein Glas mit Meerwasser im Dunkeln anstößt, so flimmert ein Sternenhimmel von Lichtblitzen auf.
Das Nordseeplankton besteht hauptsächlich aus Kieselalgen. Leider sind sie fast überall stark mit Torfpartikeln vermischt, die ständig aus unter dem Wasserspiegel liegenden Torflagern ausgespült werden, ein Hinweis darauf, daß die südliche Nordsee erst vor etwa 6000 Jahren das Land überflutet hat.

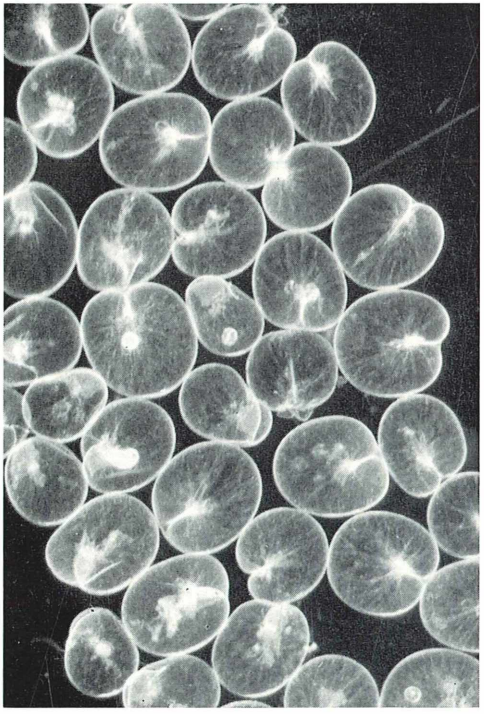


Bild 4: Meeresleuchttierchen *Noctiluca miliaris*.

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

Das Plankton des Mittelmeers enthält fast nur tierische Bestandteile, hauptsächlich Hüpferlinge, zum Teil mit bis Zentimeterlänge wahre Riesen ihrer Verwandtschaft. Teils sind sie leuchtend farbig in Rot, Grün oder Blau. Ein wesentlicher Bestandteil des Meeresplanktons entfällt auf Jugendstadien von später festsitzenden oder bodenbewohnenden Tieren. Manchmal bleibt im Planktonnetz ein Bodensatz von „Sandkörnern", die sich unter dem Mikroskop als winzige Schneckenhäuser zu erkennen geben, aus denen die Larve einen Doppellappen mit schlagendem Wimperkranz hervorstreckt. Dazu kommen Larven von Borstenwürmern, Stachelhäutern, Krebsen und vieles mehr. Ein Großteil der Larven hat keiner-

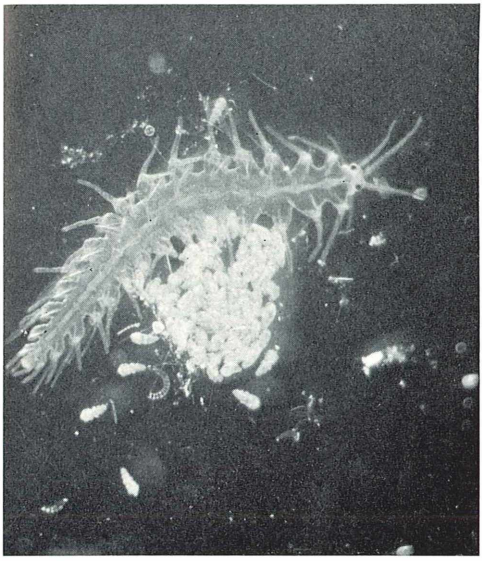


Bild 5: Der planktische Meereswurm *Autolytus prolifer* treibt Brutpflege, er trägt seine Jungen im Brutsack.

lei Ähnlichkeit mit dem erwachsenen Tier. Fast alle wurden folglich zuerst als eigene Arten mit wissenschaftlichen Namen benannt.

Meeresplankton ist durchaus nicht auf mikroskopisch kleine Formen beschränkt. Dazu gehören auch die Quallen und Rippenquallen mit manchmal imposanter Größe. Man gewinnt die Planktonproben am besten durch Schöpfen von Oberflächenwasser mit dem Planktonnetz, von einem Bootssteg oder einer Hafenmole aus und am besten von einem Boot. Die Proben enthalten meist 100% biologisches Material, darunter auch die abgestreiften Häute verschiedener Plankter. Je nach Maschenweite



Bild 6: Planktische Larve der Strandkrabbe *Carcinides maenas*.

erhält man das Plankton sortiert. Die feinsten Netze bringen einen höheren Anteil Meeresalgen, die gröberen nur tierisches Material. Einmal gefangen sterben die meisten Plankter noch im Laufe eines Tages. Viele, die im Meer schweben, setzen sich in einem Gefäß bald am Bodengrund ab. Aber auch als Bodensatz auf den Objektträger pipettiert behalten sie noch ihren Reiz.

Verfasser: Dr. Frieder Sauer, Eichenweg 8, 8047 Karlsfeld.

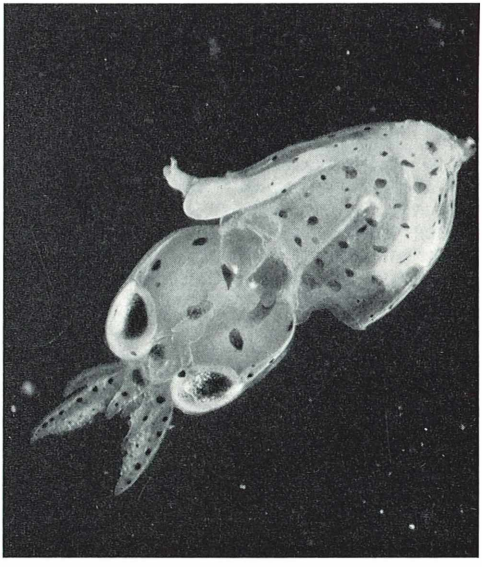


Bild 7: Planktische Larve des Kraken *Octopus vulgaris*.

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

Heinz Appelt
Jürgen R. Meyer-Arendt

Farbkontraste in mikroskopischen Präparaten mit Hilfe von Verlaufinterferenzfiltern

Phasenobjekte stellen sich bekanntlich normalerweise bei der mikroskopischen Beobachtung kontrastlos dar. In früheren Jahren bestand nur eine Möglichkeit, diese Objekte kontrastreich zu beobachten. Man bediente sich der chemischen Färbung. Seit der Erfindung des Phasenkontrastverfahrens kann man Phasenobjekte ungefärbt kontrastreich im Schwarzweißbild beobachten. Das war ein großer Fortschritt in der Geschichte der mikroskopischen Technik.
Dem Phasenkontrastverfahren haften aber noch einige Mängel an: Um die Konturen der Objekte entstehen Lichtsäume, sog. Halos. Das Verfahren ist über die Schwarz-Weiß-Kontrastierung trotz vielfacher Versuche nicht entscheidend hinausgekommen. Viele behaupten, die Farbdarstellung sei reiner Luxus und bringe keine neuen Erkenntnismöglichkeiten, sie bringe dem Mikroskopiker einzig und allein die Freude an der Farbe. Es genüge völlig, Phasenobjekte im Schwarzweißbild kontrastreich zu sehen. An diesen Behauptungen ist viel Wahres. Aber auch die Freude an der Farbe ist ein Grund, sich damit zu beschäftigen, Farbkontraste in Phasenobjekten zu erzeugen.
Dies geschah in der Entwicklung der Interferenzkontrastmikroskopie. Hier besteht die Möglichkeit, Phasenobjekte im Schwarz-Weiß-Kontrast darzustellen, wobei keine Halos Fehlerquellen in der Deutung der Objektstruktur entstehen lassen. Ebenso wie in der Phasenkontrastmikroskopie lassen sich positive (Objekt dunkel auf hellem Grund) und negative (Objekt hell auf dunklem Grund) Schwarz-Weiß-Kontraste erzeugen. Von entscheidendem Vorteil ist bei der Interferenz-Kontrastmikroskopie außerdem noch, daß eine Reliefdarstellung möglich ist, so daß man die Objekte annähernd räumlich sieht, daß man Höhen- und Tiefenunterschiede im Objekt wahrnehmen kann.
Darüber hinaus besteht aber bei der Interferenzkontrastmikroskopie die Möglichkeit, die Objekte optisch zu färben, so daß man sie in den verschiedenen Farben des Spektrums (Interferenzfarben) sehen kann. Diese Farben lassen sich außerdem variieren.
Durch all diese Möglichkeiten hat die Interferenzkontrastmikroskopie das Phasenkontrastverfahren in den Hintergrund treten lassen.
Die technischen Einrichtungen zur Interferenzkontrastmikroskopie sind aber verhältnismäßig teuer. Der Liebhaber-Mikroskopiker wird deshalb nach Verfahren suchen, mit einfachen Mitteln ähnliche Farbeffekte zu erzeugen, wie sie im Interferenzkontrastmikroskop möglich sind.
Ich möchte deshalb eine einfache, nicht zu kostspielige Methode beschreiben, mit der es möglich ist, optische Färbungen in Phasenobjekten herbeizuführen, die den optischen Färbungen im farbigen Interferenzkontrastverfahren sehr ähnlich sind. Das Prinzip besteht darin, die Farben eines Interferenzverlauffilters durch einen Kondensor so in der Präparatebene zu vereinigen, daß ein weißes Sehfeld entsteht. Dickenunterschiede, Höhenunterschiede und Konturen der Phasenobjekte erscheinen in allen Farben des Spektrums, ganz ähnlich wie im farbigen Interferenzkontrastverfahren. Blendet man einzelne Partien des Interferenzverlauffilters aus, so entstehen andere Farben und außerdem ein farbiges Sehfeld, je nachdem, welche Partien des Interferenzverlauffilters ausgeblendet werden. Dieser Effekt ähnelt sehr dem, wenn man Farbänderungen im Interferenzkontrastverfahren durch Drehen des Polarisators erzielt.
Technisch ist folgendes notwendig, um dieses Verfahren zu realisieren:

1. Im Durchlicht

Man bestellt sich bei der Firma Schott in Mainz ein kleines Interferenzverlauffilter von der Größe 6×1 cm. Dieses kostet etwa 100,— DM.

Der üblicherweise gebrauchte Kondensor des Mikroskops wird entfernt. Als Kondensor beschafft man sich eine Sammellinse von etwa 5—6 cm Brennweite, die man unterhalb des Mikroskoptisches montiert. Auf dieser Sammellinse zwischen ihr und der Präparatebene wird das Interferenzverlauffilter befestigt. Die Sammellinse muß so angebracht werden, daß sie die Strahlen der Mikroskopier-Leuchte in der Präparatebene vereinigt, gleichzeitig aber auch die Farben des Interferenzverlauffilters zu Weiß werden läßt. Oberhalb des Interferenzverlauffilters kann man eine etwa 0,5 cm breite, hin- und herschiebbare Blende montieren, so daß Teile des Interferenzverlauffilters ausgeblendet werden können.

Das Verfahren läßt sich im Durchlicht nur mit Objektiven bis zu einer numerischen Apertur von 0,30 durchführen. Höher vergrößernde Objektive liefern kein kontrastfarbiges Bild im Sehfeld. Außerdem wird das Sehfeld durch den einfachen, hier verwendeten Sammellinsenkondensor bei höher vergrößernden Objektiven zu dunkel. Der Farbkontrast wird außerdem geringer, wenn die Vergrößerung höher wird.

Als Beobachtungsobjekte eignen sich besonders Einzeller im Wassertropfen, Diamantritzer auf Objektträgern, Schlieren in zähflüssigen Flüssigkeiten und Kristalle jeglicher Art. Wichtig ist, daß die Präparate ohne Deckglas beobachtet werden. Deckgläser verschlechtern die Farbgebung. Bis zur numerischen Apertur der Objektive von 0,30 spielt bekanntlich das Deckglas optisch keine entscheidende Rolle, so daß man die Präparate mit und ohne Deckglas im Durchlicht beobachten kann.

2. Im Auflicht

Die Schwierigkeit besteht im Auflichthellfeld darin, daß das Objektiv zugleich Kondensor ist. Ferner besteht eine weitere Schwierigkeit auch darin, daß das Interferenzfilter zu groß ist. Versuche haben ergeben, daß die Kombination des Verlaufinterferenzfilters mit Polarisator und Kompensator lambda/4 im Beleuchtungsstrahlengang eine sehr gute Farbkontrastierung herbeiführt. Es wurde folgender, gut durchführbarer Weg gefunden:

Zwischen Leuchte und Opakilluminator kommt ein drehbarer Polarisator. Zwischen ihm und der Lichteintrittsöffnung des Opakilluminators bringt man einen Kompensator lambda/4 an. Unmittelbar vor die Lichteintrittsöffnung des Opakilluminators wird das Farbfilter angebracht. Ein Analysator wird wie beim Polarisationsmikroskop im Beobachtungsstrahlengang montiert.

Da die Firma Schott keine Interferenzverlauffilter von einer Breite herstellt, die der Lichteintrittsöffnung des Opakilluminators entspricht, muß ein Diapositiv des Interferenzverlauffilters angefertigt werden, das gerade so breit ist, wie der Durchmesser der Lichteintrittsöffnung des Opakilluminators. Dieses Dia wird dann unmittelbar vor der Lichteintrittsöffnung des Opakilluminators befestigt.

Die feinen Konturen eines Auflichtphasenobjektes, wie z. B. einer Metallplatte, erscheinen dann in den Farben des Spektrums, die bei Drehen des Polarisators geändert werden können.

Das Verfahren ist im Gegensatz zum Durchlichtverfahren mit Objektiven aller Vergrößerungen bis hinauf zu den Ölimmersionen durchführbar. Bei höheren Vergrößerungen erscheinen die Konturen farbintensiver als bei niedrigen Vergrößerungen. Die Präparate dürfen nicht mit einem Deckglas bedeckt sein. Im Auflicht ist das ohnehin eine Selbstverständlichkeit.

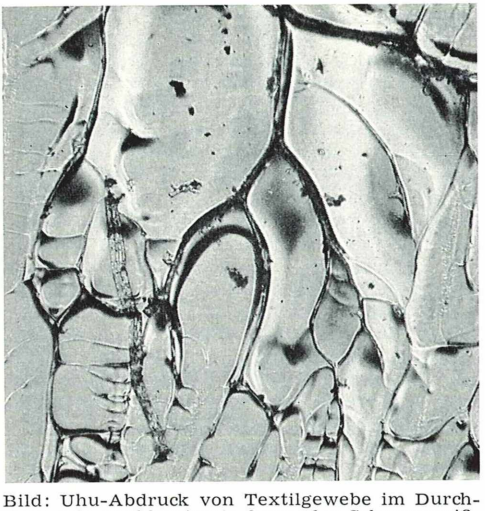


Bild: Uhu-Abdruck von Textilgewebe im Durchlicht. Die Farbkontraste kann das Schwarzweißbild leider nicht wiedergeben.

Literaturhinweise:

1. *Maddox, A. R.* und *R. C. Binder,* Appl. Opt. **10,** 474 (1971).
2. *Meyer-Arendt, J. R.,* Introduction to Classical and Modern optics (Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N. J., 1974), p. 325.
3. *Meyer-Arendt, J. R.* und *H. Appelt,* Microscopic Color Schlieren System using wedge-type interference filter. Appl. Opt. **15,** 2017, (1976).
4. *Schardin, H.* and *G. Stamm,* Glastechn. Ber. **20,** 249, 474 (1942); G. S. Settles, Tenn. Engr. (Dez. 1970), pp. 4—9.

Verfasser: Dr. Heinz Appelt, St. Elisabethen-Krankenhaus, 7980 Ravensburg; Prof. Dr. Jürgen R. Meyer-Arendt, Pacific University, Physics Department, Forest Grove, Oregon 97116, USA.

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

Fritz Bode

Schnitt durch die Kopfhaut des Menschen

Das Präparat wurde 1942 im Berliner Histologischen Institut (Prof. Fahrenholz) angefertigt. Die Kernfärbung erfolgte mit Hämatoxylin. Bindegewebe, Drüsen und Haare wurden mit Pikroindigokarmin und Carmin dargestellt. Die Kopfhaut ist besonders gut geeignet, die Differenzierungsmöglichkeiten von Epidermiszellen (die prospektive Potenz) zu demonstrieren. Es entsteht ein vielfältiges Bild von Haaren, Talgdrüsen und kleinen Schweißdrüsen. Dabei ist die Haarentwicklung an mehreren verschieden hohen Querschnitten zu begreifen. Das Haar entwickelt sich, indem ein Epithelzapfen bis zur Subkutis vordringt. Von dort aus wächst dem Zapfen eine Bindegewebspapille entgegen, stülpt ihn auf und wächst in ihn hinein, so daß eine „Haarzwiebel", ein Bulbus entsteht, der Entstehungsort des Haares.

Dieses zukünftige Haar, das schon bald zu verhornen beginnt, wird von Zellen des Epithelzapfens (der äußeren Wurzelscheide) bis zur Epidermis und dann über diese hinaus geschoben. Besondere Zellen des Epithels übernehmen die Bildung des Pigmentes.

Andere Epithelzellen haben die Talgdrüsen gebildet, großzellige Verbände, deren Sekret die innere Wurzelscheide stoppt und in den Haarbalg mündet. Eine wolkige Auflockerung der großen Talgdrüsenzellen zeigt (neben histochemischen Reaktionen) den Fettgehalt der Zellen, deren Sekret aus ganzen Zellen besteht, deren Zellkerne von den Fetttröpfchen, die zum Haar hin zunehmen, mehr und mehr zerstört werden. Mehr und mehr reißen auch die feinen Cytoplasmawände, die die Fetttropfen umgeben und die Zellen wolkig erscheinen lassen, ein, so daß im Haarbalg eine relativ gleichförmige Talgsubstanz zur Verfügung steht, von der die Haare eingefettet werden. Kollagene und elastische Fasern umgeben die Talgdrüsen und Muskelgewebe (Mm. arrectores pilorem), vermögen neben ihrer haaraufrichtenden Wirkung das Sekret auszupressen. Kleine Schweißdrüsenformationen, erkennbar an ihrem relativ einfachen Bau, geben dagegen ihr Sekret unversehrt aus dem Cytoplasma ab. Häufig findet man noch typisches Fettgewebe.



Verfasser: Dr. Fritz Bode, Leipzigerstr. 46, 6000 Frankfurt.

Bild: Schnitt durch die Kopfhaut des Menschen. *H* Haar, *iW* innere Wurzelscheide, *äW* äußere Wurzelscheide, *B* bindegewebiger Haarbalg, *S* Schweißdrüse, *T* Talgdrüse.

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

Bücherschau

Todt, D., Hrsg.: Funkkolleg Biologie 1 und 2. Zwei Bände mit 269 Abbildungen, 2 Tabellen, Verlag Chemie, Weinheim, Taschentext 49+50, je DM 13,80.

In diesen beiden Taschenbüchern wurden die Texte zusammengefaßt, die 1973/74 den Teilnehmern des Funkkollegs Biologie als Begleitmaterial für zwei Semester Fernstudium zur Verfügung standen. Die Texte wurden überarbeitet und gestrafft. Auf die Übungsaufgaben und ihre Lösungen sowie auf die zwei Hausarbeiten, die als Voraussetzung zur Teilnahme an den beiden Klausuren eingeschickt werden mußten, wurde verzichtet. Bei den Funkkollegs handelt es sich um Fernlehrgänge, die im Medienverbund bestimmte Themen darstellen und bearbeiten. Hier arbeiteten zusammen: Das Deutsche Institut für Fernstudien, die Rundfunkanstalten der beteiligten Bundesländer, die Volkshochschulen mit Begleitzirkeln und die Kultusministerien (Prüfungen!). Es hat sich gezeigt, daß auch die Begleittexte allein noch einige Bereiche dieses Fernlehrgangs abdecken können. So kann der damals angesprochene Personenkreis vergrößert werden; allerdings werden sich die ehemaligen Teilnehmer am Funkkolleg die Taschenbücher sicher nicht anschaffen.

Die Mitarbeiter an diesem Kolleg konnten auf die Erfahrungen zurückgreifen, die mit anderen Themen im Funkkolleg gesammelt worden waren (Mathematik, Erziehungswissenschaft, Linguistik usw.). Mit dem Kolleg Biologie wurde jedoch das erste Mal ein Fernstudienlehrgang in einer naturwissenschaftlichen Disziplin ausgearbeitet. Weder das Kolleg noch die vorliegenden beiden Taschenbücher konnten und wollten als biologischer Grundkurs angesehen werden. Es mußte von den Autoren eine exemplarische Anlage gewählt werden, in der wichtige und interessante Teilbereiche des Faches dargestellt werden. Über aktuelle Ergebnisse und Zusammenhänge sollte unterrichtet werden, vor allem auch interessierte „Nicht-Biologen" waren und sind angesprochen.

Folgende Themenkreise sind aufbereitet: Übergreifende Aspekte der Biologie, Entwicklung des Individuums und Evolution, Stoffwechsel und -transport, Biomechanik, Information im Organismus, Immunbiologie, Genetik, Mikrobiologie, Parasitismus und Symbiose, Leistungen pflanzlicher Organismen, Ökologie, Lebewesen und Umwelt, Verhalten und seine Grundlagen, Methodik und Fortgang der Forschung.

Die einzelnen Kapitel sind übersichtlich gegliedert. Sehr oft wird die Bedeutung dieser Wissenschaft für den Menschen — von der Seite des Betroffenen und der des Nutznießers — verdeutlicht.

Die Möglichkeiten, einzelne Sachverhalte durch Bilder zu veranschaulichen, sind natürlich in einem preiswerten Taschenbuch gering. Gerade deshalb erhalten die ausgewählten Fotos, Zeichnungen, Schemata und Tabellen eine besondere Bedeutung. Wie im Begleitmaterial sind die Abbildungen auch in den Taschenbüchern schwarzweiß gedruckt. Gerade aus dem Bereich der Mikroskopie werden viele Abbildungen vorgestellt. Im Teil XI werden in einem Kapitel „Moderne Methoden" am Beispiel der Zellbiologie erläutert. Nach einer Einführung und einer kurzen Übersicht über die Geschichte der Mikroskopie werden schnell die Grenzen der Lichtmikroskopie aufgezeigt. Dann werden die weiterführenden Möglichkeiten beschrieben, die das Elektronenmikroskop bietet. Von den Präparationstechniken bis hin zu den neuesten Ergebnissen dieser Forschung wird der Leser kurz informiert. Außerdem wird er auf weitere Literatur verwiesen, um nach dem exemplarischen Überblick seine eigenen Schwerpunkte zur Weiterbildung zu finden. Das Literaturverzeichnis am Schluß des zweiten Bandes gibt zu jedem Kapitel eine knappe Auswahl greifbarer und preiswerter Titel an. So ist es auch den jüngeren Lesern möglich, sich eine eigene Handbibliothek anzuschaffen.

Wenn man die Möglichkeiten, die Ziele und den Aufwand an dieser schwierigen Arbeit mit dem Ergebnis vergleicht, kann man das Kolleg und die vorliegende Ausgabe der Texte als gelungenen Versuch betrachten. So sind nicht nur Biologen und Lehrer, die dieses Fach unterrichten, angesprochen, sondern vor allem werden interessierte Naturforscher, Umweltschützer und auch Mikroskopiker ermuntert, sich mit den beiden Bänden einen beispielhaften Überblick über den heutigen Stand der Biologie zu verschaffen.

Hansjürgen Bahr

Christen, H. R. und Kurt Freytag: Chemie organischer Naturstoffe. 128 S., zahlreiche Strichzeichnungen im Text. Reihe Studienbücher. Diesterweg-Salle-Sauerländer Frankfurt / Aarau 1974. Kart. DM 9,80

Das Büchlein wählt aus der fast unübersehbaren Fülle der Biochemie und Physiologischen Chemie diejenigen Stoffgruppen exemplarisch aus, die Voraussetzung für das Verständnis der Lebensvorgänge sind. So versucht es die Verbindung zwischen Organischen Chemie und Biologie den Studenten (und Lehrern) der Sekundarstufe II nahezubringen. Es ist damit auch für Studierende der Chemie, Biologie und Medizin an Hochschulen interessant, zumal auch Fermente, Coenzyme, Hormone und Nukleinsäuren behandelt werden.

Es gliedert sich in zwei getrennte Abschnitte:

1. Theoretischer Teil über Lipoide, Terpene, Steroide, Kohlenhydrate, Aminosäuren, Proteine und Proteide.

Der 2. Experimentelle Teil schließt sich an die Themenfolge des 1. Teils eng an; er ist von dem bewährten Schulpraktiker K. Freytag (Treysa) gestaltet.

Zum 1. Teil ist zu sagen, daß er sich mit entsprechenden Kürzungen an dem bekannten Lehrbuch „Grundlagen der Organischen Chemie" v. Christen orientiert.

Der 2. Teil, eine Versuchsauswahl für die Schulpraxis, bringt rund 50 Experimente, wobei auf die Seitenzahlen von Teil 1 Bezug genommen wird. Dieser 2. Teil wird vor allem dem Chemie- bzw. Biologie-Lehrer für die Gestaltung von Leistungskurven der Kollegstufe eine willkommene Anregung bieten.

Ein entsprechender Gerätestand des mathematisch-naturwissenschaftlichen Gymnasiums und Vorkenntnisse aus der Allg. und Organischen Chemie sind für Studenten bzw. Schüler zur sinnvollen Benutzung des Buches Voraussetzung. Eine Reihe von Experimenten lassen sich aber auch an der Sekundarstufe I (Real- und Hauptschule) bei entsprechender Fachlehrerbetreuung erfolgreich durchführen.

Franz Bukatsch

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

Kleine Mitteilungen

Hydroxyäthyllactamid als Lösungsmittel für Vitalfarbstoffe

Bei dem Versuch, die Mikroanatomie von Nacktkiemenschnecken mit neuen Vitalfarbstoffen zu untersuchen, bereitete die sehr geringe Löslichkeit vieler Farbstoffe in Seewasser große Schwierigkeiten. Auch ein vorheriges Auflösen der Farbstoffe in Leitungswasser nützte nichts, da sich die Farbstoffe nur sehr langsam auflösten und das Meerwasser durch die Zugabe des Leitungswassers zum Nachteil der darin gehaltenen Tiere verändert wurde. Starke Lösungsmittel für Farbstoffe wie Dimethylformamid und andere Dialkylamide, Dimethylsulfoxid, Acetonitril, Butyrolacton, kurzkettige Ketone usw. schieden entweder wegen ihrer Reizwirkung auf die Tiere oder wegen ihrer Toxizität aus. Dagegen bot sich Hydroxyäthyllactamid oder 2-Lactamidoäthanol (chemische Struktur $HO\text{-}CH(CH_3)\text{-}CONH\text{-}CH_2\text{-}CH_2OH$, eigentlich 1-Hydroxyäthan-1-(2′-hydroxyäthyl)-carbonamid), eine geruch- und farblose Flüssigkeit von niedrigem Dampfdruck, als sehr gutes Lösungsmittel an. Es hat die Eigenschaften eines sekundären Amids und eines Äthylenglykols; als Amid ist es ein gutes Lösungsmittel für Farbstoffe und mit den meisten polaren Lösungsmitteln in jedem Verhältnis mischbar. Das handelsübliche Produkt (Bowmans Chemicals Limited, Moss Bank, Widnes, England) ist eine 70%ige, wäßrige Lösung. Das Mittel wird auch in reiner Form von den Tieren gut vertragen, denn bei Vorversuchen, wo es mit einer untergetauchten Pipette direkt auf die Rhinophoren, die bekanntlich besonders empfindlich sind, von *Pulchaeolidia rosacea* getropft wurde, löste es keinerlei Abwehrreaktion aus. Da Hydroxyäthyllactamid die meisten Farbstoffe sehr gut löst, kommt man mit sehr kleinen Mengen aus, eine Konzentration von etwa 2—5%, bei der es einen milden Betäubungseffekt ähnlich wie Äthylurethan zeigt, wird so in dem Behälter mit den vital zu färbenden Tieren nicht erreicht. Eine Spatelspitze eines auf seine Eignung für die Vitalfärbung in Seewasser zu prüfenden Farbstoffes wird mit Hilfe eines Glasstabes in einem Tropfen Hydroxyäthyllactamid verrieben und seine Löslichkeit durch Eintauchen des Objektträgers in 10—50 ml Seewasser getestet: Ist der Farbstoff völlig unlöslich, so fällt er jetzt aus; ist er nur beschränkt in Seewasser löslich, so erhält man sofort eine gesättigte Lösung des Farbstoffes in Seewasser, wozu man bei anderen Lösungsmitteln Stunden oder Tage benötigt. Eine konzentrierte Lösung des Farbstoffes in Hydroxyäthyllactamid wird in einer Pipettenflasche aufbewahrt; die Konzentration des Farbstoffes wird dabei danach festgesetzt, wieviel Tropfen der Farbstofflösung für eine bestimmte Menge Seewasser benötigt werden und hängt von dem Ergebnis der Vorversuche ab, in denen die Toxizität des Farbstoffes, die notwendige Farbstoffkonzentration, um innerhalb eines bestimmten Zeitraumes eine erfolgreiche Vitalfärbung zu erzielen, und die Löslichkeit und der Sättigungsgrad des Farbstoffes in Seewasser bestimmt wurden. Da die einzelnen Farbstoffe ein sehr unterschiedliches Verhalten zeigen, müssen die optimalen Werte für jeden Farbstoff durch Ausprobieren gefunden werden. Auf diese Weise konnte eine Dauer-Vitalfärbung mit Astrazon Orange G (Basisches Orange 21, C.I. No. 48035) erreicht werden, einem Farbstoff, der in Seewasser nahezu unlöslich und in Leitungswasser nur gering löslich ist.

Risso-Dominguez, C. J.: Hydroxyethyl lactamide, a dye solvent useful in vital staining. Stain Technol. **51**, 115—117 (1976).

Alexander Pareto

Tieffrieren statt Fixieren beschleunigt die Herstellung von mit Baumwollblau gefärbten, pflanzlichen Totalpräparaten

Bei Kreuzungsversuchen von Rassen des Korbblütlers *Cichorium intybus* war es notwendig, das Eindringen der ausgekeimten Pollenschläuche in das Griffelgewebe zu verfolgen. Gefärbt wurde entweder mit Baumwollblau für normale lichtmikroskopische Betrachtung oder aber mit Anilinblau zur Untersuchung im Fluoreszenzmikroskop. Dabei zeigte es sich, daß man durch Tieffrieren des frischen Untersuchungsmaterials gegenüber einer herkömmlichen Fixierung Zeit sparen kann, ohne daß die Qualität der Präparate darunter leidet. Durch das Tieffrieren wird das Gewebe erweicht und ist nach dem Auftauen zu einem gewissen Grad entpigmentiert. Frisches Material wird eine Stunde bei —20° C tiefgefroren und eine halbe Stunde in H_2O dest. aufgetaut; für normale lichtmikroskopische Untersuchungen wird es anschließend in Lactophenol (1 Teil Milchsäure, 1 Teil Phenol, 2 Teile Glyzerin, 1 Teil H_2O dest.) bei 70° C eine Stunde oder länger, falls notwendig, aufgehellt und mit Baumwollblau (C.I. No. 42780, 1 g in 100 ml Lactophenol gelöst) gefärbt, und zwar bei 60—70° C, eine Stunde lang. Entfärbt wird mit reinem Lactophenol bei Zimmertemperatur eine Stunde lang und mit reinem Lactophenol eingeschlossen, wobei man mit dem Deckglas das Gewebe noch etwas flachdrücken kann, um die einzelnen interessierenden Strukturen besser sichtbar zu machen. Auf diese Weise wurde auch die Embryonalentwicklung bei *Capsella bursa-pastoris, Arabidopsis thaliana* und *Cardamine* sp. untersucht, ohne daß es notwendig wurde, die Embryonen herauszupräparieren. Ferner wurde so der Leitbündelverlauf in Knotenabschnitten von Sproßstücken von *Coleus blumei* verfolgt, und bei intakten Blüten von *Primula, Coleus blumei* und *Penstemon* konnte so der gesamte Blütenaufbau studiert werden. Embryonen der Gerste *(Hordeum vulgare)* müssen allerdings nach 24stündigem Wässern erst herauspräpariert werden; bei ihnen dauert die Aufhellung in Lactophenol bei 60° C 10 Stunden, gefärbt wird bei 60° C mit Baumwollblau 3—4 Stunden und bei 60° C in reinem Lactophenol 3—4 Stunden entfärbt. Ergebnis: Pollenschläuche, Embryonen und Leitbündel sind dunkelblau gefärbt. Für eine Untersuchung im Fluoreszenzmikroskop wird das frische Material wie üblich eine Stunde bei —20° C tiefgefroren, eine Stunde in H_2O dest. aufgetaut und in normalem NaOH erweicht, 8—24 Stunden lang, eine Stunde in Wasser gewaschen und 4 Stunden in 0,1%igem Anilinblau gefärbt und in der Anilinblaulösung eingeschlossen.

Parker, K. J.: Freezing in the preparation of cleared plant material. Stain Technol. **51**, 61—62 (1976).

Alexander Pareto

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

E 20877 E

MIKROKOSMOS

66. Jahrgang · Heft 8/August 1977

Eine Zeitschrift aus dem Kosmos-Verlag

ISSN 0026-3680 66. 1977, Nr. 8, S. 229–260

Wipfeltrieb der Fichte, quer



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

Heinz Schneider

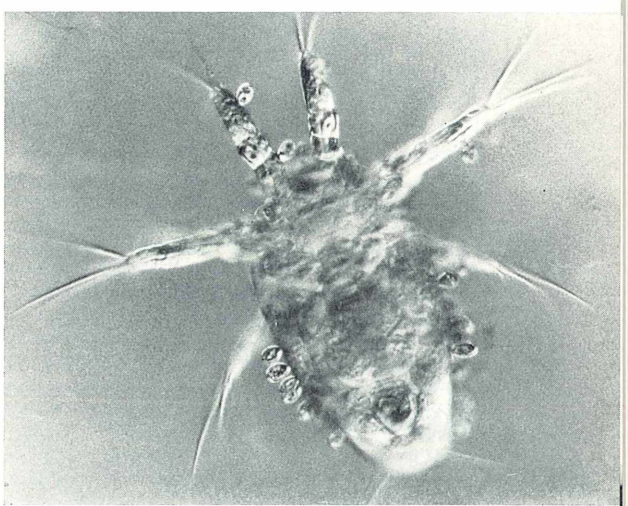
Massenauftreten des Flagellaten Colacium vesiculosum in einem Stadtparkweiher

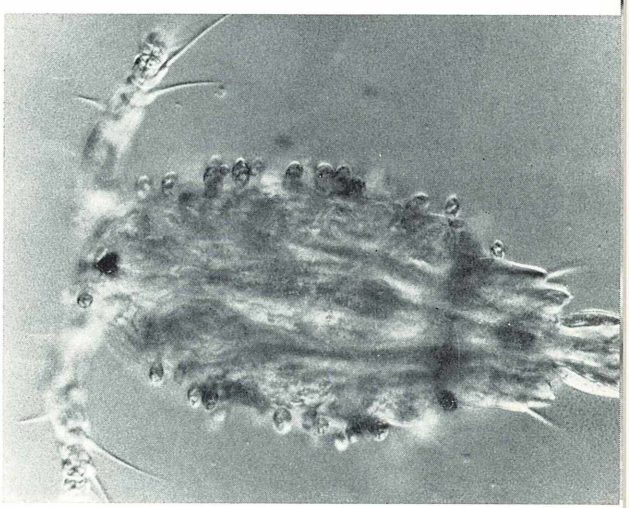
In Planktonproben aus dem Ostparkweiher in Landau i. d. Pfalz fand ich ab Anfang September 1974 *Colacium* als Aufsitzer auf Cyclopiden und deren Nauplius-Larven (Bilder 1 und 2), auf *Bosmina longirostris* und — seltener — auf den Panzern der Rädertiere *Keratella quadrata* und *Brachionus*. Die *Colacium*-Zellen waren 24—27 µm lang, unregelmäßig eiförmig, in der Draufsicht rundlich, hatten eine dünne Gallerthülle und saßen auf hyalinen, unverzweigten, am unteren Ende sockel- oder lappenförmig verbreiterten Gallertstielchen. Im Zellinnern waren stets wenige peripher angeordnete Chloroplasten, zahlreiche farblos erscheinende Körperchen (Paramylon) und das seitlich stielwärts, d. h. dem morphologischen Vorderende der Zelle genäherte orangerote Stigma sichtbar. Diese Merkmale treffen zusammen mit weiteren Eigentümlichkeiten auf die Art *Colacium vesiculosum* zu, deren Lebensgeschichte dank der Arbeit von Johnson 1934 gut bekannt ist. Auf Grund seiner Befunde hat dieser Autor nachfolgendes Entwicklungsdiagramm erstellt, aus dem zu ersehen ist, wie die verschiedenen Lebensstadien von *Colacium vesiculosum* auseinander hervorgehen können (Bild 3).

Die *Colacium*-Flagellaten (G) sind grundsätzlich wie das Augentierchen *Euglena* gebaut und besitzen auch wie dieses eine sog. gegabelte Geißel. Anderslautende Befunde (auch die Darstellung in diesem Entwicklungsdiagramm) beruhen auf einem Irrtum infolge unzulänglicher Präparation, wie Pringsheim und Hovasse nachgewiesen haben. Während nun bei *Euglena* die Flagellaten die eigentliche vegetative Form sind, stellen diese bei *Colacium* nur ein Schwärmstadium dar. Die freischwimmenden *Colacium*-Flagellaten setzen sich nämlich schon nach wenigen Stunden an Planktonorganismen fest (H). Sie schmelzen dann ihre Geißel ein, umgeben sich mit einer dünnen Gallerthülle und sondern an ihrem Vorderende einen Ring von Gallert-

Das Inhaltsverzeichnis finden Sie in diesem Heft auf S. 260.

Bilder 1 und 2: Nauplius-Larve und Cyclopide, mit *Colacium*-Stadien besetzt. Die hier gezeigte Besiedlungsdichte entspricht etwa dem durchschnittlichen Besatz im Frühjahr 1975.





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

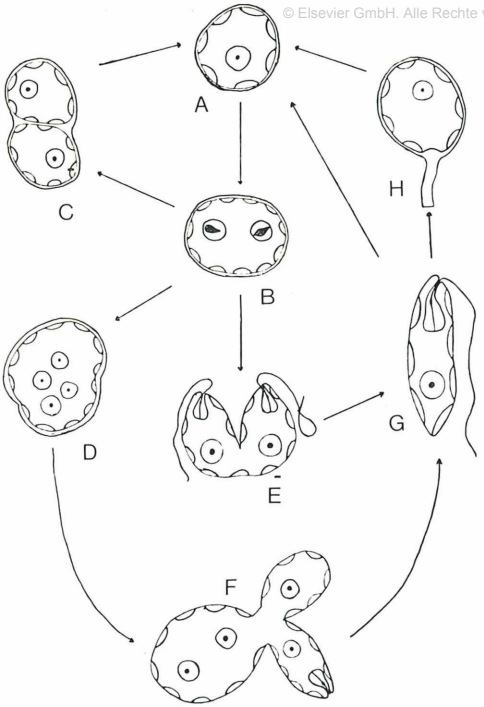


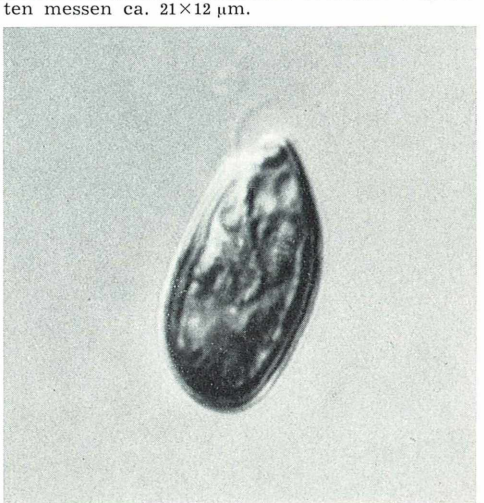
Bild 3: Entwicklungsdiagramm von *Colacium vesiculosum* aus Johnson 1934. (Erläuterungen im Text).

kügelchen ab, aus dem, wie Johnson annimmt, der bei *Colacium vesiculosum* meist wohlausgeprägte Gallertstiel hervorgeht. Währenddessen verschwinden die weiteren *Euglena*-Merkmale, der Schlund und das Reservoir; nur das Stigma (der „Augenfleck") bleibt sichtbar. Freischwimmende, begeißelte *Colacium*-Stadien können aber auch unmittelbar in Palmella-artige Stadien übergehen (d. h. gallertalgenartige, unbewegliche Form annehmen). Sie werden dann zu ca. 16 µm großen, rundlichen oder ovoiden Zellen mit gelatinösen Hüllen, in denen nur noch die Chromatophoren und Paramylonkörner an das Flagellatenstadium erinnern (A). Die Palmellen sinken entweder zu Boden oder bilden Überzüge auf dem Substrat, in denen die Zellen in pflasterartigen Lagern vereint sein können. Diese ruhenden Stadien vermehren sich rasch unter Längsteilung (B), wobei entweder erneut Palmellen (C) oder aber *Euglena*-artige, d. h. begeißelte Stadien entstehen (E). Johnson beobachtete auch, daß in seinen Kulturen bei den Palmella-Stadien nach vollzogener Kernteilung die Zellteilung unterblieb, wodurch es dann zur Bildung mehrkerniger plasmoidaler Formen kam (D). Diese brachten oft durch Knospung *Euglena*-Stadien hervor (F).

Wenn auch die Flagellatenformen weitgehende Übereinstimmung zeigen, so trennt doch der oben beschriebene Lebenszyklus die Gattung *Colacium* klar von *Euglena*. Als typische *Colacium*-Merkmale gelten das Überwiegen unbeweglicher Stadien gegenüber der Flagellatenform, die Bildung von Plasmodien und deren Vermehrung durch Knospung sowie das Auftreten gestielter *Colacium*-Stadien. Hierfür gibt es in der Gattung *Euglena* keine Parallele.

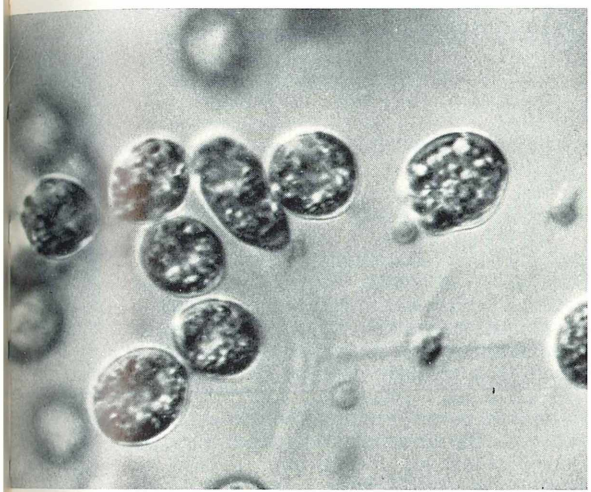
Obwohl der Aufwuchsflagellat *Colacium* als häufig gilt, kann man u. U. in einem Gewässer jahrelang Plankton fischen, ohne diesen „Raumparasiten" anzutreffen. Das zeigen meine seit 1965 laufenden Beobachtungen über den Planktonbestand des eingangs erwähnten Stadtparkweihers. In den ziemlich regelmäßig entnommenen Proben fand ich erstmals im September 1974, als Kleinkrebse die beherrschenden Planktonformen waren, Colacien als Aufsitzer. Von da an nahm ihr Bestand rasch zu. In Proben vom 5. und 6. November 1974 waren die meisten der zu dieser Zeit massenhaft vorhandenen Nauplius-Larven mit Colacien besetzt. Außerdem fanden sich einzelne Palmella- und Flagellaten-Stadien (Bild 4). Manche, offensichtlich soeben erst an den Kleinkrebschen angeheftete Individuen, hatten ihre Geißel noch nicht eingeschmolzen. Diese Stadien zeigten sich außerordentlich formveränderlich. Die Mehrzahl der unbeweglichen Stadien hatte Gallertstielchen ausgebildet, die auf der Körperoberfläche oder auf Borsten des Wirtes in einem rundlichen (Bild 5) oder lappenartig ausgezogenen (Bild 6) Sockel endeten. Kolonien auf verzweigten Stielchen konnte ich nie finden. Nicht selten trugen Kleinkrebschen aus älteren Proben verlassene *Colacium*-Stielchen, und in solchen Präparaten fand ich dann auch freie Flagellaten. Die begeißelten Stadien waren, wie die Bilder 4

Bild 4: Die freischwimmenden *Colacium*-Flagellaten messen ca. 21×12 µm.



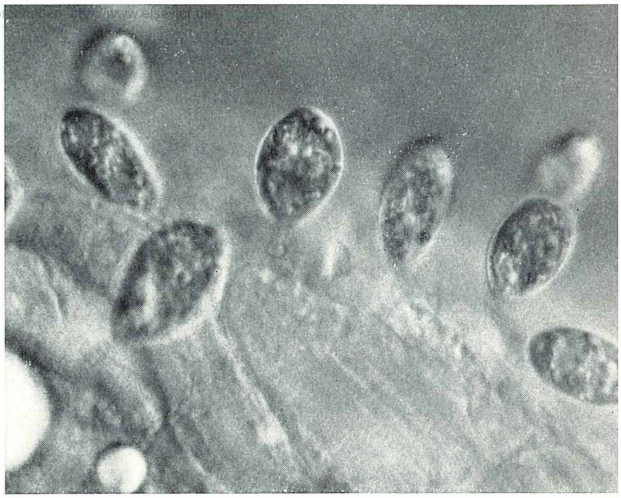
und 7 ausweisen, unsymmetrisch gebaut. Sie schwammen unter schwankenden Bewegungen, was nach Pringsheim auf die Asymmetrie des Flagellatenkörpers zurückzuführen ist.

Mitte November hatte in dem untersuchten Stadtparkweiher der Bestand an Cyclopiden und Nauplien stark abgenommen und die mit den Proben eingetragenen Krebschen waren nur mehr schwach von Colacien besiedelt. Dieser Zustand blieb während des Winters nahezu konstant. Das Frühjahr 1975 brachte dann eine Massenentfaltung von *Colacium*, die Anfang Mai zu einer intensiven Vegetationsfärbung des Wassers durch colaciumbesetzte Cyclopiden und Nauplien führte. Um diese Zeit traten auch massenhaft *Euglena*-Stadien auf (Bild 7). Ein solches Massenauftreten wurde auch von Green 1952 geschildert. Auch zur weiteren Auswertung bereitgestellte Proben mit



colaciumbesetzten Cyclopiden enthielten nach einigen Tagen viele freischwimmende *Euglena*-Stadien. Während der ganzen Vegetationszeit hielt sich im Parkweiher ein reicher *Colacium*-Bestand, der erst im November auf ein Minimum absank, um im folgenden Jahr wieder eine Massenentfaltung mit Vegetationsfärbung zu erfahren. Im Winter 1976/77 schien die Population endgültig erloschen, jedoch zeigt sich seit Mitte März wiederum eine stetig zunehmende *Colacium*-Besiedlung auf *Keratella* und *Brachionus*. Bemerkenswert erscheint, daß gleichzeitig mit dem Auftreten von *Colacium* in dem Parkweiher manche Plankton-Arten, wie z. B. *Volvox aureus, V. globator, Dinobryon sertulariae* und *Microcystis aeruginosa* fast völlig verschwanden. Ob hier irgendwelche Zusammenhänge bestehen, vermag ich nicht zu sagen.

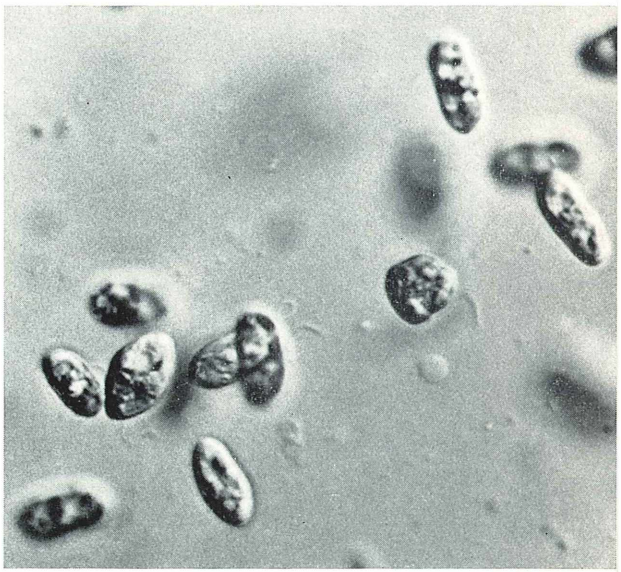
Die geschilderten Beobachtungen mögen mit zur abschließenden Klärung der Frage beitragen, welche Erscheinungsform von



Bilder 5 (oben) und 6 (links): *Colacium*-Stadien auf dem Panzer eines Cyclopiden. Die 24—27 µm langen Zellen sitzen auf Gallertstielchen, deren Sockel entweder rundlich (Bild 5, oben Mitte) oder lappenartig verbreitert (Bild 6, oben links)

Colacium als die dominierende anzusehen ist. Die seinerzeit von Schiller vertretene Ansicht, daß das *Euglena*-Stadium überwiege, und daß die gestielte *Colacium*-Form nur deshalb häufiger gefangen werde, weil sie zusammen mit den von ihr besetzten Planktonkrebschen im Netz zurückgehalten werden, während die freilebenden Flagellaten durch die Maschen des Netzes entschlüpfen, dürfte durch die in Bild 7 do-

Bild 7: Im Mai 1975 enthielten die Planktonproben massenhaft freischwimmende Euglena-Stadien.



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

kumentierten Fangergebnisse endgültig widerlegt sein. Johnson hat anhand der Beobachtungen in seinen Zuchten mit Recht geschlossen, daß das Euglena-Stadium von *Colacium vesiculosum* deshalb kaum gefunden wird, weil es im Lebenszyklus der Art nur einige Stunden oder höchstens Tage währt.

Literaturhinweise:

1. *Huber-Pestalozzi, G.:* Das Phytoplankton des Süßwassers. Bd. XVI, 4. Tl., Stuttgart 1955.
2. *Johnson, D. F.:* Morphology and life-history of Colacium vesiculosum. Arch. Protistenkde. Bd. 83, S. 211, 1934.
3. *Lemmermann, E.:* Engleninae in: Die Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs u. d. Schweiz, Jena 1913.
4. *Pringsheim, E. G.* u. *Hovasse, R.:* Les relations de parenté entre Astasiacées et Euglénacées. Arch. Zool. Expér. Bd. 86, S. 499, 1950.
5. *Pringsheim. E. G.:* Notiz über Colacium. Österr. Bot. Z., Bd. 100, S. 270, 1953.
6. *Schiller, J.:* Beitrag z. Kenntnis d. Pflanzenlebens mitteleurop. Gewässer, II. Über Colacium vesiculosum. Österr. Bot. Z. Bd. 73, 1924.

Verfasser: Prof. Dr. Heinz Schneider, Oberer Steinweg 21, 674 Landau-Godramstein.

Alfred Jentzen

Aufgaben einer Mikrobiologischen Vereinigung

Beispiel: Die Mikrobiologische Vereinigung Hamburg

Kaum beachtet, so gut wie unbekannt, bestehen in einigen Städten Vereinigungen von Mikroskopikern. Es sind meist keine Vereine im üblichen Sinne, sie bieten den Mitgliedern nicht nur Geselligkeit oder irgendein bestimmtes Leistungsziel. Die Mikroskopie ist eben ein besonderes Gebiet. Hat ein Anfänger die ersten Hürden geschafft — der Anfang ist hier bekanntlich mit besonderen Schwierigkeiten gepflastert — sucht er Kontakt mit Gleichgesinnten.

Der übliche Weg: Der werdende Mikroskopiker erliegt den Lockungen der Kaufhausmikroskope und begegnet dem dann unabweichlichen Ärger durch die Anschaffung einer wirklich brauchbaren Ausrüstung. Mit Hilfe eines Einführungsbuches fertigt er die ersten Präparate. Mit zunehmendem Wissen und technischer Fertigkeit wächst der Wunsch, den Überblick zu erweitern. Die Fachbibliothek wird größer, man abonniert den Mikrokosmos. Wo ist aber der Partner, mit dem Erfahrungen ausgetauscht, dem eigene Arbeiten vorgelegt werden können? Die Erfahrung zeigt: Diesen Partner zu finden, ist fast nicht möglich. Hier liegt die erste Aufgabe einer Vereinigung.

Die Mikrobiologische Vereinigung in Hamburg bietet ihren Mitgliedern und Gästen nicht nur Kontaktmöglichkeiten. Die monatlichen Veranstaltungen sind bewußt auf die vielfältigen Belange der Teilnehmer ausgerichtet. Im ersten Teil eines Arbeitsabends werden mikroskopische Praktika durchgeführt. Es stehen Einrichtungen zur Verfügung, die sich der Liebhaber sonst kaum leisten kann (schon des Anschaffungspreises wegen); so u. a. Mikroprojektion, Mikrotome, Episkop und selbstverständlich auch Mikroskope. Dem Anfänger werden Fragen beantwortet, Präparationstechniken nicht nur erklärt, auch vorgeführt — die Praxis ist wichtig. Eine Bücherei steht zur Verfügung, ebenso eine Sammlung von Dauerpräparaten, Dia-Serien — eigentlich alles, was zum Mikroskopieren gehört. Im zweiten Teil eines jeden Abends werden Vorträge aus verschiedensten naturwissenschaftlichen Gebieten gehalten, von Mitgliedern oder geladenen Referenten.

Es hat sich vielfach erwiesen, daß auch der Berufsmikroskopiker aus der Tätigkeit in einer solchen Gesellschaft Nutzen ziehen kann. Der Verfasser führt schon ein paar Jahre die Geschäftsstelle der Vereinigung. Ihm ist bewußt, daß die mikroskopischen Vereinigungen viel zu wenig bekannt sind. Es ist aber schwierig, für sie zu werben. Sie sind auf die Mitwirkung ihrer Mitglieder angewiesen, aber auch auf die Unterstützung von Firmen, Instituten, Schulen, um ihren Aufgaben nachkommen zu können.

Interessenten steht der Verfasser für Rückfragen gerne zur Verfügung.

Verfasser: Alfred Jentzen, Sülldorfer Knick 79 b, 2000 Hamburg 55.

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

Gerhard Göke

Polarisationsmikroskopie in der Biologie

1. Einführung und qualitative Beobachtungen

Geschichtlicher Überblick

E. L. Malus, der Entdecker der Polariastion des Lichtes, hat bereits im Jahre 1811 biologische Objekte mit seinem „Polarisationsapparat" beobachtet. Noch im gleichen Jahrzehnt begann D. Brewster mit der planvollen Untersuchung von Gebilden organismischer Herkunft. Als H. F. Talbot 1834 das Mikroskop mit zwei von W. Nicol 1833 erfundenen Polarisationsprismen aus Kalkspat ausgerüstet und damit ein brauchbares Polarisationsmikroskop geschaffen hatte, konnten auch mikroskopisch kleine Strukturelemente im polarisierten Licht untersucht werden.

Es ist wenig bekannt, daß eigentlich B. G. Amici (um 1830) das erste Polarisationsmikroskop benutzt hat, doch wurde dieses Instrument erst 1844 vollständig beschrieben. Sein Polarisator bestand aus einem Glasplattensatz, der Analysator aus einem Kalkspatkristall oberhalb des Okulars. Von den beiden Teilbildern, die infolge Doppelbrechung des Kristalls entstanden, konnte das eine oder andere durch eine drehbare Lochblende ausgeschaltet werden.

Das Polarisationsbild der quergestreiften Muskelfaser, der Markscheide der Nervenfaser, der Grundmasse des Knochengewebes und viele andere polarisationsoptische Erscheinungen waren bereits in der zweiten Hälfte des vorigen Jahrhunderts bekannt. Auch über die möglichen Ursachen der Doppelbrechung wurde damals lebhaft diskutiert. Die verwickelte Sachlage wurde jedoch erst in den Jahren 1910 bis 1919 durch die Untersuchungen H. Ambronns geklärt. Er gelangte zu einer Trennung von photoelastischem Effekt und Orientierungsdoppelbrechung und konnte sogar bei letzterer zwei ganz verschiedene Anteile unterscheiden: Die Texturdoppelbrechung (Formdoppelbrechung) und die Eigendoppelbrechung. Aufgrund dieser Erkenntnisse ließ sich die Polarisationsoptik von Zell- und Gewebestrukturen befriedigend deuten und für die Analyse des Feinbaus verwenden.

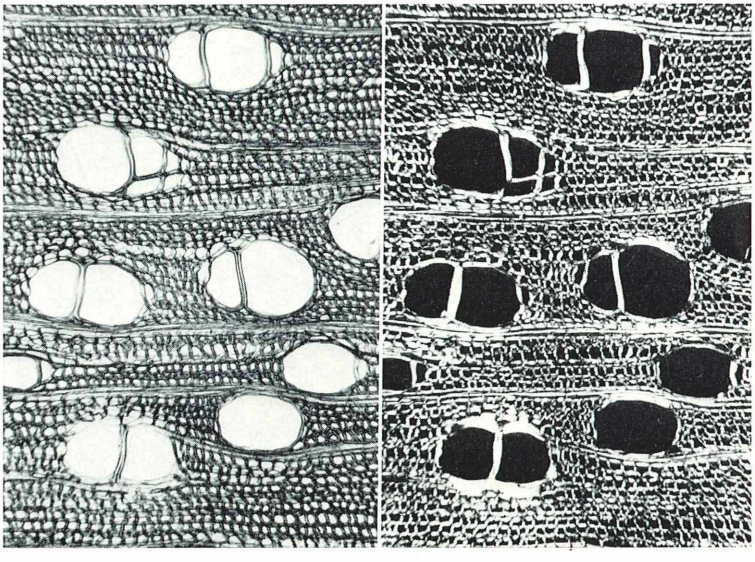


Bild 1: Afrikanisches Teakholz (quer) im gewöhnlichen und polarisierten Licht. Achromat 10×/0,24: Projektiv 8×.

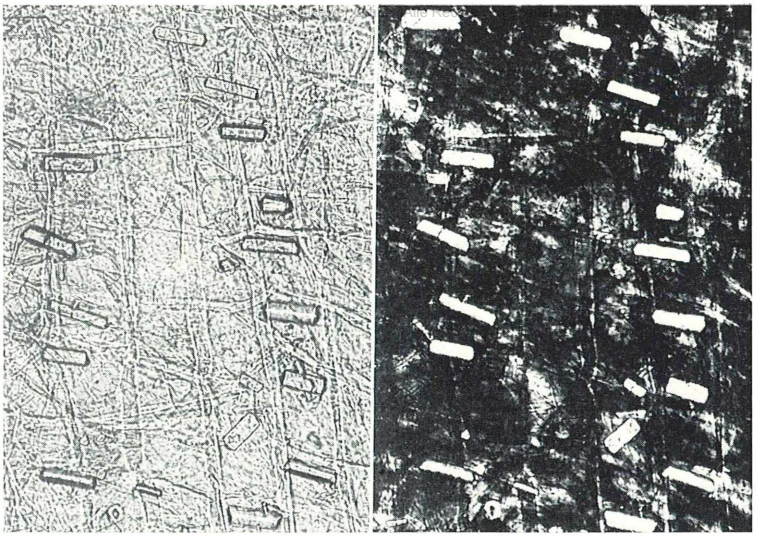


Bild 2: Kristalle von Kalziumoxalat in der Epidermis der Küchenzwiebel. Links im gewöhnlichen, rechts im polarisierten Licht. Achromat 10×/0,24; Projektiv 8×.

Während sich das Polarisationsmikroskop in der Mineralogie und Petrographie rasch zum bedeutendsten Meßinstrument entwickelt hat, ist es im wesentlichen das Verdienst von W. J. Schmidt (1929—1959), daß die moderne polarisationsoptische Methodik auch in die biologische Forschung eingeführt wurde. Die Histophysik ist ein Arbeitsgebiet, das mit Hilfe physikalischer Methoden zur Erforschung der molekularen Struktur und stofflichen Zusammensetzung des Gewebes beiträgt. Dabei spielt das Polarisationsmikroskop eine wichtige Rolle. Die polarisationsoptischen Methoden der Histophysik haben G. Scheuner und J. Hutschenreiter 1972 ausführlich beschrieben. Mit diesem Beitrag sollen nur einige Anwendungsmöglichkeiten des Polarisationsmikroskops gezeigt werden.

Polarisiertes Licht

Die Polarisation des Lichtes wird in allen einschlägigen Lehrbüchern ausführlich beschrieben. Man kann die elektromagnetische Wellenbewegung des Lichtes mit den Gesetzen der Wellenbewegung besser vergleichen, wenn man sich einen hypothetischen „Lichtäther" vorstellt, dessen „Teilchen" von der Wellenbewegung erfaßt werden.

Unter polarisiertem Licht versteht man allgemein nur sichtbare Strahlung, die in *einer einzigen* Richtung schwingt. Im ge-

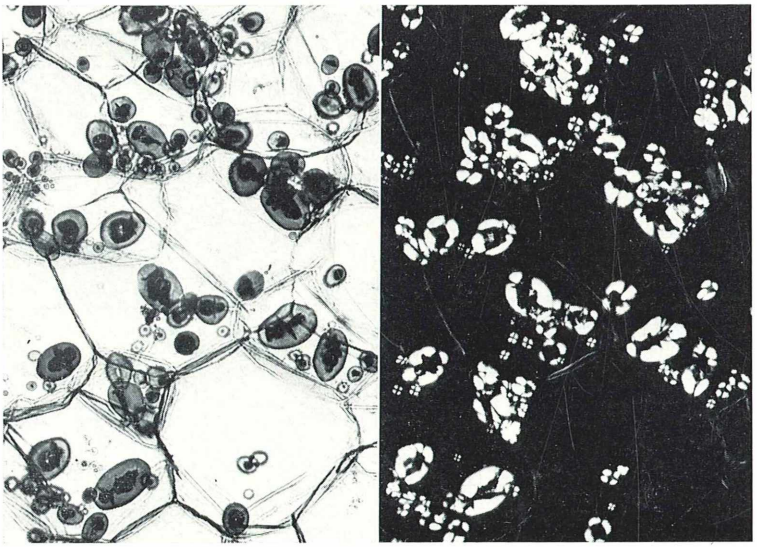


Bild 3: Stärkekörner in der Kartoffelknolle. Links im gewöhnlichen Licht (gefärbt); rechts im polarisierten Licht. Achromat 20×/0,40; Projektiv 10×.

wöhnlichen Licht sind hingegen die verschiedensten Schwingungsrichtungen des Lichtvektors mit gleicher Größe vorhanden. Zwischen den einzelnen Wellenzügen bestehen die verschiedensten Phasenverhältnisse. Bei polarisiertem Licht schwingt der Lichtvektor *regelmäßig* in bestimmten, ausgezeichneten Richtungen. Neuerdings findet auch polarisiertes ultraviolettes und infrarotes Licht in der Mikroskopie Anwendung. Da jedoch hierfür besondere Polarisatoren erforderlich sind, werden diese Verfahren hier nicht behandelt.

Man unterscheidet zwei Arten von polarisiertem Licht:

1. das *linear* polarisierte Licht. Sein Lichtvektor schwingt in einer Ebene, die sich zeitlich und räumlich nicht verändert.
2. das *elliptisch* polarisierte Licht. Sein Lichtvektor schwingt in einer zur Ausbreitungsrichtung der Lichtwelle senkrechten Ebene, die sich mit gleicher Winkelgeschwindigkeit dreht. Der Endpunkt des Lichtvektors beschreibt eine Ellipse. Als Spezialfall des elliptisch polarisierten Lichtes gilt das *zirkular* polarisierte Licht. Hier beschreibt der Endpunkt des Lichtvektors einen Kreis.

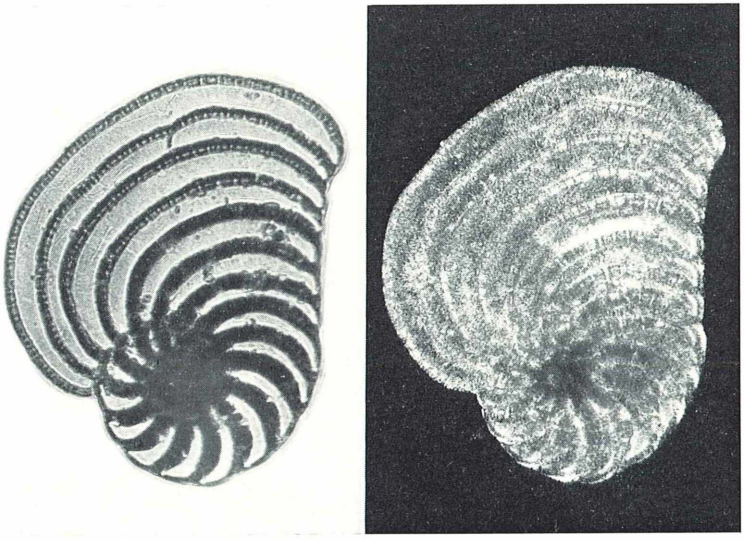


Bild 4: *Peneroplis planatus* (Foraminiferengehäuse) im gewöhnlichen und polarisierten Licht. Achromat 10×/0,24; Projektiv 8×.

Polarisationsfilter

Für die Erzeugung polarisierten Lichtes benutzte man früher zusammengesetzte Teilprismen aus optisch einachsigen Kristallen (z. B. Nicolsche Prismen aus Kalkspat). Da solche Kristalle sehr kostspielig sind und keine Ausnutzung der Kondensorapertur ermöglichen, verwendet man heute fast ausschließlich Polarisationsfilter. Es handelt sich dabei um hochpolymere Kunststoff-Folien, die durch mechanisches Strecken molekular gleichgerichtet und neutralgrau eingefärbt sind. Die polarisationsoptisch wirksame Schicht ist, wenn sie als ungefaßte Folie verwendet wird, beidseitig mit Zelluloseacetobutyrat überzogen. Die Folien lassen sich schneiden und stanzen. Sie sind mechanisch stabil, thermisch bis 80° C belastbar, jedoch nicht kratzfest. Für orientierende Untersuchungen genügen sie den Anforderungen.

Für höchste Ansprüche kittet man unbeschichtete, polarisationsoptisch wirksame Folien zwischen spannungsfreie, planparallel geschliffene, feinpolierte Deckgläser. Optimale technische Daten sind erreichbar:

Durchlässigkeit für unpolarisiertes weißes Licht: 28%

Durchlässigkeit zweier Filter in Hellstellung: 15%

Durchlässigkeit zweier Filter in Dunkelstellung: 0,00015%

Löschungsvermögen: 1 : 100 000

Polarisationsgrad: Annähernd 100%

Thermische Belastung: 70° C.

Diese hochwertigen Polarisationsfilter sind relativ teuer. Billigere Typen können bei Dunkelstellung eine Durchlässigkeit von maximal 0,5% haben. Der Bilduntergrund ist dann dunkelblau bis blau statt schwarz. Die verkitteten Filter können bei qualitativen Untersuchungen ungefaßt verwendet werden. Sie sollen jedoch randversiegelt sein. Beim Einfassen in normale Filterfassungen treten oft Randspannungen auf, wodurch das Löschungsvermögen der Hochleistungsfilter um mehr als eine Zehnerpotenz absinken kann. Durch gewisse Kunstgriffe werden die Randspannungen beim Bau von Polarisationsmikroskopen weitgehend vermieden.

Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

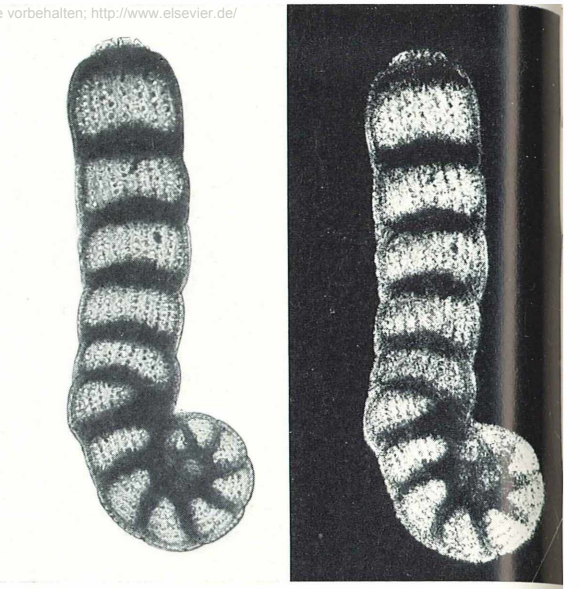


Bild 5: *Spirolina cylindracea* (Foraminiferengehäuse) im gewöhnlichen und polarisierten Licht. Achromat 10×/0,24; Projektiv 8×.

Das Mikroskop

Für einfache polarisationsoptische Untersuchungen ist jedes Mikroskop geeignet. Als Polarisator legt man ein verkittetes Pol-Filter oder eine Pol-Folie in den Filterträger zwischen Lichtquelle und Kondensor. Ein kleineres Pol-Filter (18—20 mm) wird auf die Sehfeldblende des Okulars gelegt oder mittels einer Steckfassung auf die Augenlinse aufgesteckt bzw. vor der Tubuslinse des binokularen Schrägtubus angebracht. Ein drehbarer Objekttisch ist erforderlich, doch braucht dieser nicht unbedingt eine Gradteilung zu besitzen. Es werden nur achromatische Objektive benutzt, da Planachromate und Apochromate in der Regel nicht frei von Innenspannungen sind. Wünschenswert ist auch eine Vorrichtung, die das Einfügen eines Kompensators Rot I (Gips- oder Quarzplättchen) in den Strahlengang zwischen Präparat und Analysator ermöglicht.

Mit einem so ausgerüsteten Mikroskop wurden die hier gezeigten Aufnahmen hergestellt. Die Bilder beweisen, daß auch mit minimalem Aufwand gute Resultate möglich sind.

Das spezielle Polarisationsmikroskop unterscheidet sich von dem gewöhnlichen durch folgende zusätzliche Bauteile:

Der Polarisator besitzt eine Gradteilung und manchmal auch eine Klinke, die alle 45° einrastet. Auch der Drehtisch ist mit einer Gradteilung versehen, die mit Hilfe von Nonien auf 0,1° genau abgelesen werden kann. Die spannungsfreien achromatischen Objektive haben eine Zentrierfassung. Zwischen Objektiv und Okulartubus befindet sich das Analysator-Zwischenstück, das einen Analysator mit Gradteilung, eine Amici-Bertrandlinse, eine Irisblende und eine verschließbare Öffnung zum Einschieben von Kompensatoren besitzt. Am Tubus des Mikroskops befinden sich Kerben für die Arretierung von Fadenkreuzokularen. Im Gegensatz zum oben beschriebenen improvisierten Polarisationsmikroskop ist dieses Instrument für quan-

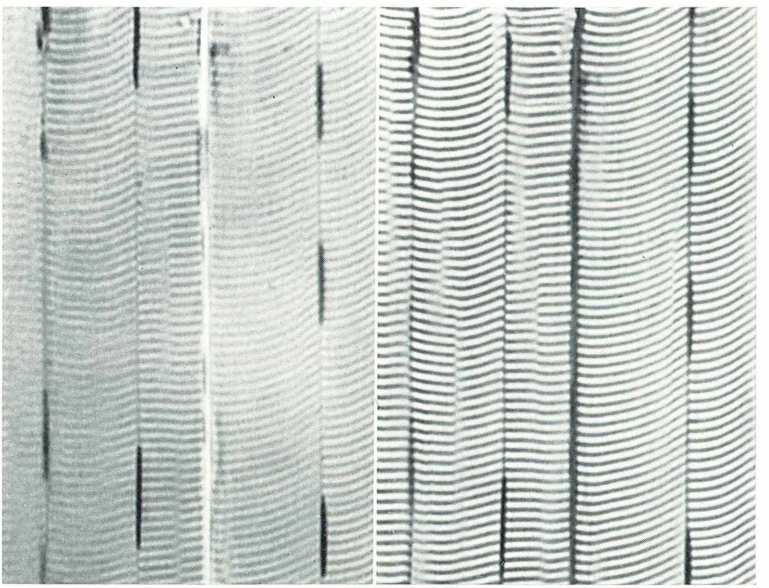


Bild 6: Quergestreifter Skelettmuskel des Menschen (gefärbt). Links im gewöhnlichen, rechts im polarisierten Licht. Achromat 40×/0,65; Projektiv 10×.

titative polarisationsoptische Analysen geeignet. Bei schwierigen Untersuchungen sind starke Lichtquellen, z. B. eine 12 V/100 W Halogenleuchte, erforderlich.

Wirkungsweise: Das von der Glühbirne emittierte Licht wird vom Kollektor der Mikroskopierleuchte konvergent gemacht und von der Feldblende begrenzt. Es schwingt in allen möglichen Ebenen. Zwischen den einzelnen Wellenzügen bestehen die verschiedensten Phasenverhältnisse. Vom Polarisator wird nur das in einer einzigen Richtung schwingende Licht (Schwingungsrichtung des Filters) durchgelassen. Das andere (etwa 75%) wird absorbiert. Der Kondensor leitet dieses linear polarisierte Licht zum Präparat. Hier wird es von einem anisotropen Objekt in zwei linear polarisierte Teilwellen aufgespalten, deren Schwingungsebenen senkrecht aufeinander stehen. Isotrope und in Richtung zur optischen Achse durchstrahlte anisotrope Objekte, sowie das ebenfalls isotrope Umfeld (Glas, Einschlußmittel) verläßt das polarisierte Licht jedoch unverändert. Es fällt ins Objektiv und trifft dann auf den Analysator, dessen Schwingungsrichtung mit der des ankommenden unveränderten Lichtes einen Winkel von 90° bildet und es deshalb auslöscht. Das Gesichtsfeld ist an diesen Stellen vollkommen dunkel. Hingegen schwingt das aus den anisotropen Objekten kommende Licht in anderen Richtungen. Fallen diese mit der Schwingungsrichtung des Analysators zusammen, so herrscht maximale Helligkeit. Bilden sie mit ihr einen Winkel von 90°, so wird das Bild des Objektes völlig gelöscht. In den anisotropen Objekten pflanzen sich die polarisierten Teilwellen mit unterschiedlicher Geschwindigkeit fort. Der Brechungsindex ist in beiden Schwingungsrichtungen unterschiedlich. Sie treten sie mit einer gewissen zeitlichen Verzögerung (Gangunterschied) aus dem Objekt aus und interferieren miteinander. Aus diesem Grunde ist das Objekt in Hellstellung bei Verwendung von weißem Licht meistens farbig. Die Interferenzfarbe ist von der Größe der Doppelbrechung und der Dicke des Objektes abhängig. Alle Bilder werden mit Okularen üblicher Bauart beobachtet, die nicht spannungsfrei sein müssen.

Anwendungsbeispiele

Bereits mit dem einfachen Polarisationsmikroskop lassen sich an biologischen Objekten viele interessante Erscheinungen beobachten, von denen hier nur wenige aufgeführt werden können. In botanischen Schnitten ist der Gefäßbündelverlauf im polarisierten Licht sehr eindrucksvoll zu sehen. Besonders die Xylemelemente erscheinen leuchtend hell, während die übrigen Gewebe dunkel sind. Die stark doppelbrechende Wirkung verholzter Zellwände zeigt Bild 1. Auch die Speichertracheiden treten durch ihre Doppelbrechung deutlich hervor. Die kristallinen Inhaltsstoffe in manchen Zellen, z. B. Kalziumoxalat, Inulin, Alkaloide usw., können von den amorphen Anteilen sehr gut unterschieden werden (Bild 2). Über Stärkekörnern verschiedenster Art beobachtet man im polarisierten Licht das Sphaeritenkreuz, das auf eine radiäre Anordnung hinweist (Bild 3). Viele Hartgebilde, wie Foraminife-

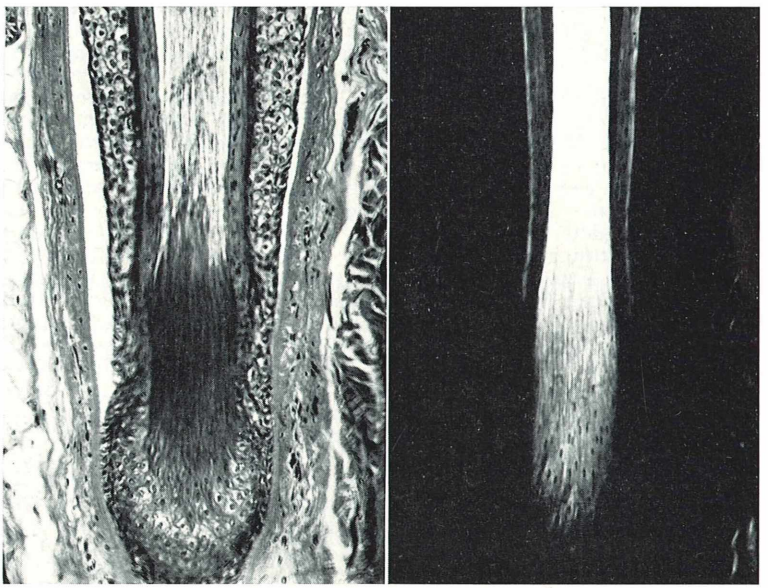


Bild 7: Haar in der Kopfhaut des Menschen (Azanfärbung). Links im gewöhnlichen, rechts im polarisierten Licht. Achromat 40×/0,65; Projektiv 8×.

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

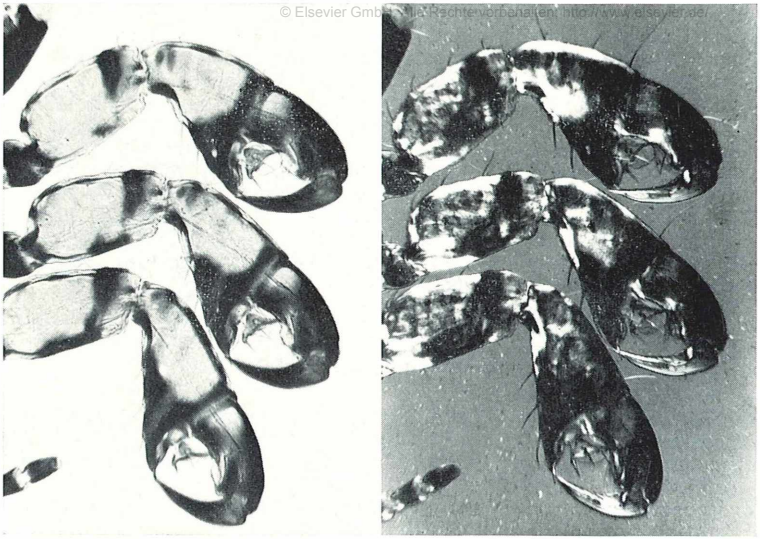


Bild 8: Beine der Schweinelaus im gewöhnlichen und polarisierten Licht. Planachromat 2,5×/0,08; Projektiv 8×. (Der Planachromat ist nicht frei von Spannungen und ermöglicht keine totale Auslöschung des isotropen Umfeldes.)

renschalen, Holothuriensklerite, Nadeln von Kalkschwämmen, Coccolithenplättchen usw., bestehen aus Kalzit oder Aragonit und drehen die Ebene des polarisierten Lichtes (Bilder 4 und 5). Einer Radiolariengruppe mit Gehäusen aus feinmodellierten Cölestinnadeln (Strontiumsulfat) gab Enriques den Namen „Birefrangentia". Im Gegensatz zu den kieselschaligen Radiolariengehäusen sind sie doppelbrechend. Das ist der einzige Fall in der zoologischen Nomenklatur, daß sich die Aufteilung einer Ordnung auf ein polarisationsoptisches Merkmal stützt.

Vielfältig ist die optische Anisotropie der Proteinstrukturen (Bild 6), zum Beispiel der glatten und quergestreiften Muskulatur, der Neuro- und Gliafibrillen des Nervengewebes, der Tonofibrillen in den Epithelien, der Kollagenfibrillen im Binde- und Knorpelgewebe, sowie der Reticulin- und Elastinfasern. Auch die durch Verspinnen von Sekreten entstehenden Fäden, wie Seide und andere Spinnfäden, ferner Cilien, Geißeln, Wimperwurzeln, Schwanzfäden von Spermien, Filo- und Axopodien von Rhizopoden sowie Kern-, Zell- und Befruchtungsmembranen sind für die polarisationsoptische Untersuchung geeignet. Von den Nukleoproteinstrukturen sollen das Chromatin einiger Zellkerne und der Spermienkopf genannt werden. Viele weitere Eiweißkörper, wie das Kreatin, sind doppelbrechend. Haare, Federn und Fischschuppen liefern im polarisierten Licht brillante Bilder (Bild 7). Auch Polysaccharidstrukturen in chitin- und zellulosehaltigen Objekten sind anisotrop (Bild 8). Lipoidstrukturen finden wir z. B. bei den Stäbchen der Netzhaut, der Markscheide des Nerven, den Mitochondrien und dem „Dotterkern" im Spinnenei.

Man kann das Polarisationsmikroskop auch sehr bequem zur Bilddifferenzierung verwenden, weil sich die verschiedenartigen Anteile der Objekte je nach Stärke der Aufhellung bzw. Auslöschung gut voneinander abheben. Der Kontrast ist etwa so hoch wie bei Verwendung eines Dunkelfeldkondensors, allerdings nur bei doppelbrechenden Objekten. Durch Drehen des Objekttisches werden sie unter geeignetes Azimut gebracht. Die Erscheinung doppelbrechender Strukturen hängt auch vom Schnittwinkel ab. Quer geschnittene Myo-, Tono- und Kollagenfibrillen bleiben stets dunkel (=Durchstrahlung in Richtung optischer Achse), während sich längs oder schräg geschnittene in Diagonallage aufhellen.

Will man alle doppelbrechenden Elemente eines Präparates unabhängig von ihrem Azimut *gleichzeitig* darstellen, so verwendet man *zirkular* polarisiertes Licht. Eine $\lambda/4$-Platte wird unter dem Objekt, eine zweite über dem Objekt (beide in Diagonallage) angeordnet. Anstelle der teuren Glimmer-Plättchen können auch die billigeren $\lambda/4$-Kunststoff-Folien verwendet werden. Es gibt auch zwischen Deckgläsern verkittete Kompensationsfolien sowie verkittete Polarisatoren für zirkular polarisiertes Licht, die neben der Polarisationsfolie eine $\lambda/4$-Folie enthalten. Bei dieser Anordnung fallen alle Auslöschungserscheinungen aus, so daß nur optisch isotrope Objekte und anisotrope längs zur optischen Achse dunkel bleiben. Das häufig zu beobachtende Sphaeritenkreuz, ein besonderes Merkmal für linear polarisiertes Licht, fehlt bei der Verwendung von *zirkular* polarisiertem Licht.

Diese Aufzählung von Erscheinungen biologischer Objekte im polarisierten Licht ist keineswegs vollständig. Sie soll nur den

Wert des Polarisationsmikroskopes für die biologische Forschung unterstreichen. Mit diesem Instrument sind neben den hier beschriebenen qualitativen Beobachtungen auch quantitative Untersuchungen möglich, die im zweiten Teil dieses Beitrages ausführlich behandelt werden.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Literaturhinweise:

1. *Burri, C.:* Das Polarisationsmikroskop. Basel 1950.
2. *Haas, H.:* Polarisationsoptik. Berlin 1953.
3. *Pfeiffer, H.:* Das Polarisationsmikroskop als Meßinstrument in Biologie und Medizin. Braunschweig 1949.
4. *Rinne, F.* u. *M. Berek:* Anleitung zu optischen Untersuchungen mit dem Polarisationsmikroskpo. Stuttgart 1953.
5. *Schmidt, W. J.:* Anwendung der Polarisationsmikroskopie in der Histochemie. Hbd. d. Histochemie Bd. II. Stuttgart 1958.
6. *Schmidt, W. J.:* Polarisationsoptische Erforschung tierischer Zellen und Gewebe. Verh. Deutsch. Zool. Ges. Rostock 1939.
7. *Wiener, O.:* Die Theorie des Mischkörpers für das Feld der stationären Strömung. Abh. Sächs. Ges. Wiss. 32, 507 (1912).

Verfasser: Gerhard Göke, Bahnhofstr. 27, 5800 Hagen.

Wolfgang Richter

Gibt es pflanzliche Flagellaten mit drei Geißeln?

Zur Funktion und Struktur des Haptonemas

Vermutlich werden nur wenige Amateur-Mikroskopiker bisher pflanzliche Flagellaten mit drei „Geißeln" gesehen haben, denn sie sind relativ selten. Meistens sind entweder nur eine oder zwei, seltener vier Geißeln vorhanden. Und doch hätte man die Frage, ob es auch pflanzliche Flagellaten mit drei Geißeln gibt, noch bis vor ca. 20 Jahren ohne Bedenken mit „ja" beantwortet. Denn nach dem damaligen Stand des Wissens waren zumindest drei Gattungen bekannt, die drei Geißeln — oder sagen wir vorsichtiger: drei fädige Anhänge — besitzen. Sie gehören alle in den Algenstamm der Chrysophyta (Goldalgen), bzw. in die Klasse der Chrysophyceae, und zwar in die Ordnung der Chrysomonadales, die die Flagellatenformen dieser Algengruppe enthält (vgl. u. a. Streble und Krauter 1973). Diese drei Gattungen waren (vgl. Bild 1):

— *Chrysochromulina* (zuerst von dem Amerikaner Lackey 1939 aus dem Ohio beschrieben);
— *Prymnesium* (von dem Belgier Massart um 1900 im Brackwasser entdeckt und 1920 beschrieben);
— *Platychrysis* (von dem Österreicher Geitler 1930 aus einer Meerwasserkultur beschrieben).

Das damalige Wissen über diese zu jener Zeit nur ungenügend bekannten, aber sehr interessanten Flagellaten hat Conrad (1941) in einer Studie zusammengefaßt.
Im Zeitalter der ausschließlichen Lichtmikroskopie wurde der dritte Zellanhang zwischen den beiden echten Geißeln eben auch als eine solche aufgefaßt, obwohl den meisten Beobachtern die andere „Verhaltensweise" dieses Organells schon aufgefallen war. Inzwischen weiß man, daß es sich um ein Zellorganell handelt, das eine prinzipiell andere Feinstruktur besitzt und auch andere Funktionen für die Zelle hat. Drei englische Forscher (Parke, Manton und Clarke 1955) haben ihm den Namen „Haptonema" gegeben. Sie machten die ersten elektronenmikroskopischen Studien an drei von ihnen neu entdeckten *Chrysochromulina*-Arten, die im Meerwasser vorkommen. Die Bilder 2, 3, 4 und 5 vermitteln eine Vorstellung vom äußerlichen Aussehen des

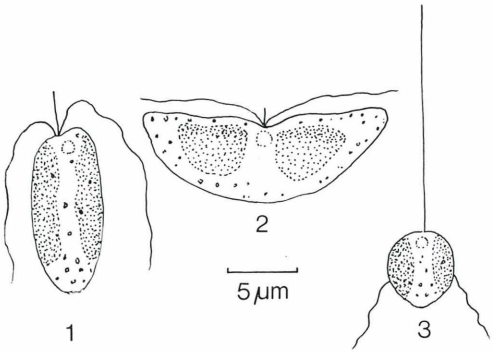


Bild 1: Drei Vertreter von Chrysomonaden mit Haptonema. 1 *Prymnesium*, 2 *Platychrysis*, 3 *Chrysochromulina* (nach verschiedenen Autoren).

Haptonemas und der Geißeln bei *Chrysochromulina* und *Prymnesium*.

Die Bezeichnung „Haptonema" bedeutet soviel wie „Haftfaden" (gr. haptein = verknüpfen, anheften; gr. nema = Faden). Diese Benennung konnte erfolgen, nachdem man (wie oben erwähnt) eindeutig festgestellt hatte, daß es sich nicht um eine Geißel, sondern um ein besonderes Organell handelte. Es dient nämlich der zeitweiligen Anheftung der Zelle an irgendeine Oberfläche. Bei den *Chrysochromulina*-Arten mit sehr langem Haptonema besteht die Funktion wohl außerdem noch in einer „Schwebeeinrichtung", wie sie bei vielen Planktonorganismen entwickelt ist, um möglichst gut an die im Wasser schwebende Lebensweise angepaßt zu sein. Erinnert sei z. B. an die Ausbildung von Schwebeborsten oder anderen die Zelloberfläche vergrößernden Fortsätzen, an die Bildung von Gallerthüllen, die Entwicklung von Öltropfen oder Gasvakuolen innerhalb der Zellen — um nur einige Beispiele zu nennen. Der Gedanke, daß das lange Haptonema das Schweben erleichtert, liegt nahe, wenn man beobachtet, wie der Flagellat während der „Ruhephase" den Faden lang

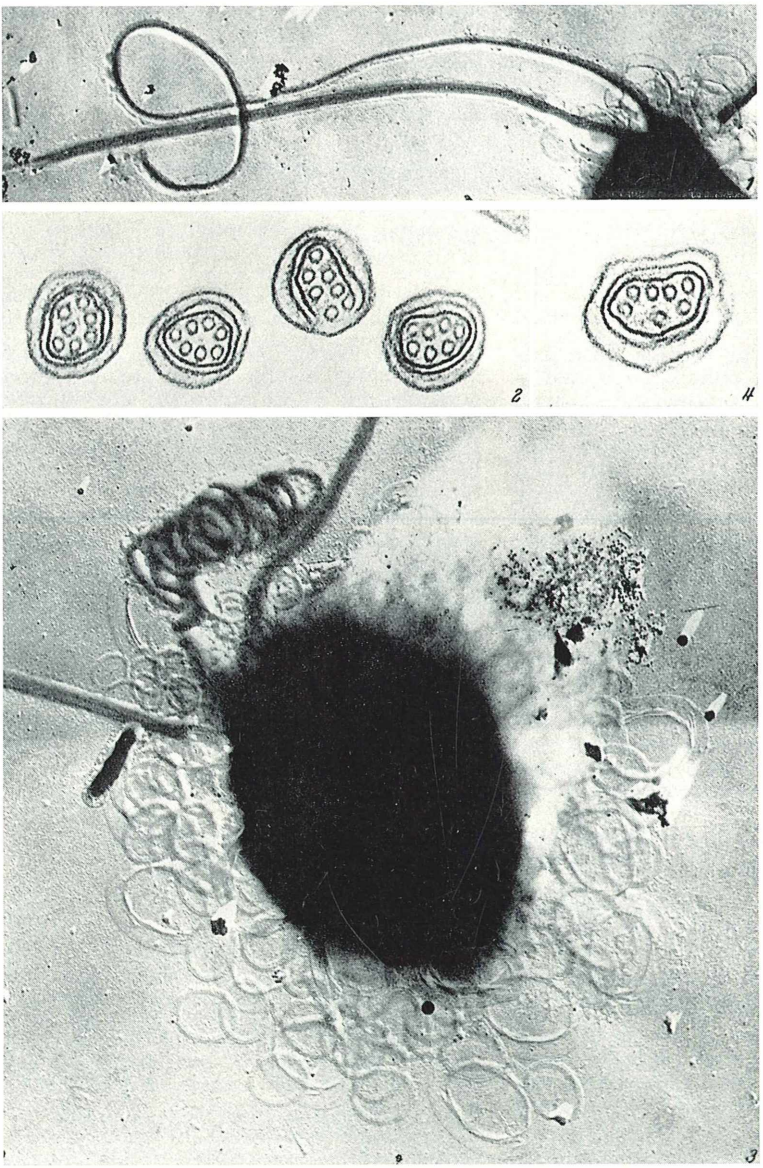
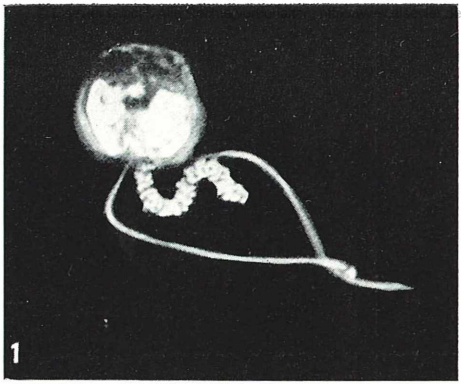
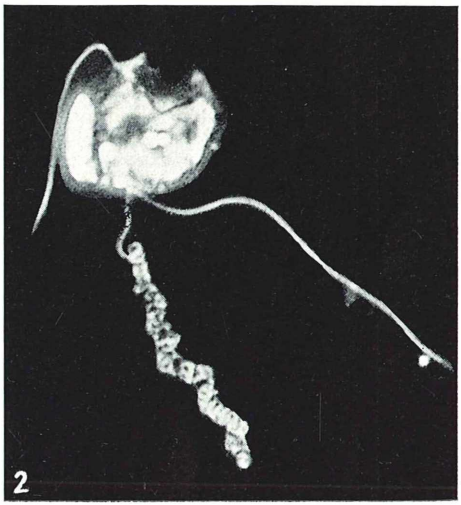


Bild 2: *Chrysochromulina chiton*, eine marine Art. 1 Voll ausgestrecktes Haptonema (daneben eine dickere Geißel); an der Basis rechts zarte Schuppen (Vergr. 5000×). 2 und 4 Verschiedene Querschnitte durch ein aufgerolltes Haptonema, 4 zeigt den Querschnitt in der Nähe der Basis; die 7 Mikrotubuli sowie die drei konzentrischen Hüllen sind gut zu erkennen (Vergr. 100 000×). 3 Zelle mit aufgerolltem Haptonema, den beiden Geißeln und zahlreichen Schuppen (Vergr. 10 000×, elektronenmikroskopische Aufnahmen, nach Manton 1968).





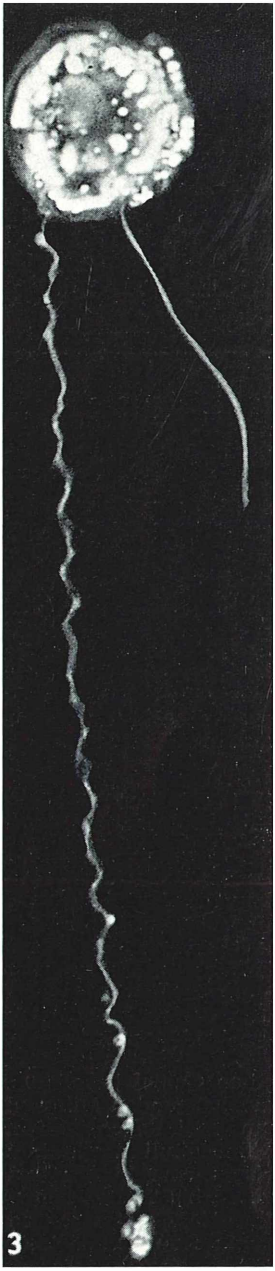


Bild 3: *Chrysochromulina strobilus*, eine marine Art, die durch ein besonders langes Haptonema ausgezeichnet ist. 1—3 Drei mit Osmiumsäuredämpfen fixierte Zellen. Durch die Abtötung rollt sich das Haptonema unweigerlich ein (1). Durch verschieden starken Druck auf das Deckglas gelang es, das Haptonema mehr oder weniger zu entrollen (2, 3). An den Zellen sind außerdem die beiden Geißeln deutlich zu erkennen; 3 Zelle in Seitenansicht (lichtmikroskopische Aufnahmen mit Anoptralkontrast, nach Leadbeater & Manton 1969).

ausgestreckt hält, während er ihn beim Schwimmen dicht aufgerollt an der Zelle trägt. Heynig (1972) hat diese Phasen für *Chrysochromulina*, eine Süßwasserart, in dieser Zeitschrift anschaulich geschildert und abgebildet.

Vor allem die schon genannten englischen Forscher haben nun den Feinbau des Haptonemas in sehr mühsamen Untersuchungen elektronenmikroskopisch aufklären können. Man kann die dabei zu überwindenden Schwierigkeiten ermessen, wenn man weiß, daß die wichtigen Details im Haptonema beispielsweise eine zentrale Querschnittsfläche von nur 0,1 μm Durchmesser umfassen! Meines Wissens sind bis jetzt mehr als 10 *Chrysochromulina*-Arten, eine *Prymnesium*-Art und eine *Coccolithus*-Art daraufhin untersucht worden. Letztere gehört zu den Kalkflagellaten (Coccolithinen oder Coccolithophoriden), die ebenfalls zur Gruppe der Chrysophyceen gestellt werden. Diese meist marinen Organismen sind mit einer Hülle von besonderen Kalkkörperchen (den Kokkolithen) umgeben und spielen in der Primärproduktion der Meere eine große Rolle (Näheres über diese interessante Flagellatengruppe vergleiche man bei Fott 1971).

Durch den Vergleich von Querschnitten an Geißeln und Haptonemen konnten die Unterschiede im Feinbau festgestellt werden. Beide Organelle besitzen im Inneren längs verlaufende Fibrillen oder Mikrotubuli, die im Querschnitt ein charakteristisches Muster bilden. Während aber in einer typi-

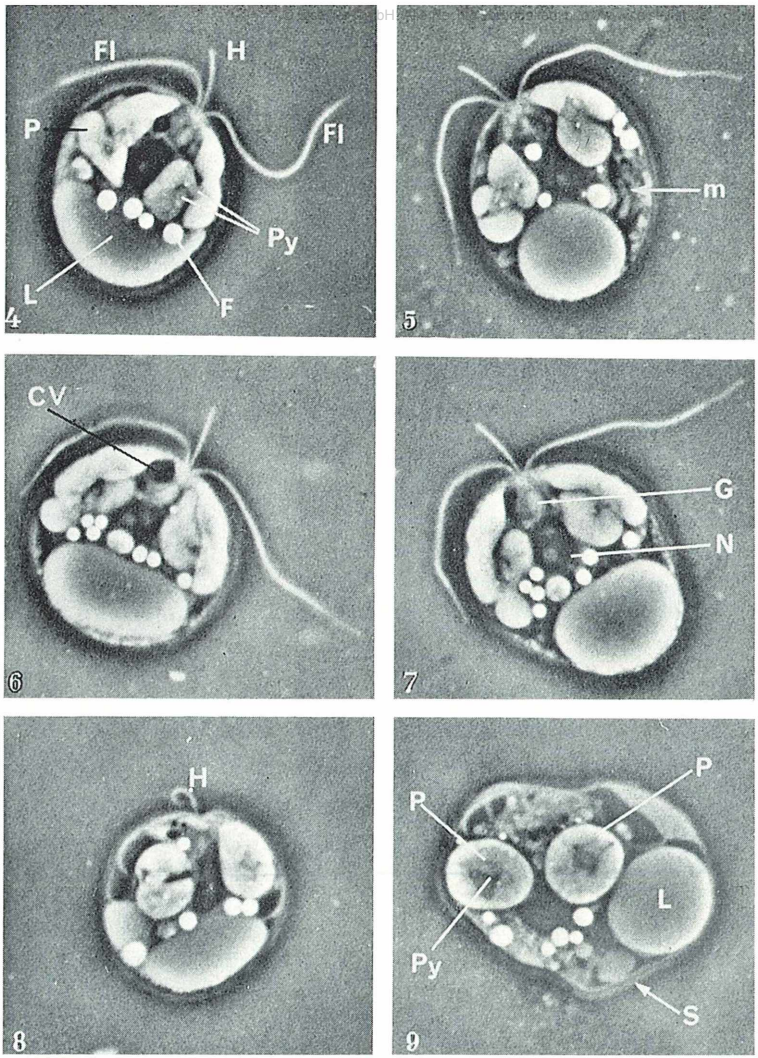


Bild 4: *Prymnesium parvum*, ein Brackwasserflagellat mit kurzem Haptonema. 4—9 Lebende Zellen, durch Deckglasdruck etwas abgeflacht (lichtmikroskopische Aufnahmen mit Anoptralkontrast, nach Manton & Leedale 1963. Vergr. 2000×). 8 Die Zelle hat die Geißeln abgeworfen. 9 Eine deformierte Zelle kurz vor dem Platzen. *CV* kontraktile Vakuole, *F* Fetttröpfchen, *Fl* Geißel, *G* Golgikörper, *H* Haptonema, *L* Leukosinansammlung (Reservestoff), *m* Mitochondrien, *N* Zellkern, *P* Chromatophor, *Py* Pyrenoid, *S* Schicht von Schuppen, die einzeln im Lichtmikroskop nicht sichtbar sind.

schen Geißel jeweils 9 aus je zwei zusammenhängenden Mikrotubuli in einem Kreis um zwei nebeneinander liegende zentrale Mikrotubuli angeordnet sind, enthält ein Haptonema in der Regel nur einen Ring von 5 bis 8 einfachen Mikrotubuli (Bild 6). Ihre Zahl wechselt also außerdem im Gegensatz zu den Geißeln. Bei den meisten Arten von *Chrysochromulina* beträgt sie 7, ebenso bei *Prymnesium parrum*. Zentrale Mikrotubuli fehlen völlig. Außerdem ist dieser Ring von Tubuli von drei konzentrischen Hüllen umgeben, deren äußerste die Fortsetzung des Plasmalemmas ist (darunter versteht man die äußere Plasmahaut oder -grenzschicht einer Zelle). Es ist klar, daß die genannten Mikrotubuli oder Fibrillen diejenigen Strukturelemente sind, die die Bewegungen der Geißeln oder auch des Haptonemas bedingen. Als weiterer Unterschied zu den Geißeln ist die in der Regel geringere Dicke des Haptonemas zu nennen. Beim Eintritt des Haptonemas in die Zelle kommen (an seiner Basis) 2—3 weitere Mikrotubuli hinzu, so daß ihre Zahl an der äußersten Basis 9 beträgt. Diese Einzelheiten hat man durch eine verfeinerte Schnitttechnik, verbunden mit speziellen Fixierungs- und Färbemethoden ermittelt (Bild 7).

Mit Hilfe von Zeitraffer-Filmaufnahmen gelang es bei *Chrysochromulina strobilus* (einer marinen Art) die Schnelligkeit des Zusammenrollens des bis zu 100 μm langen Haptonemas festzustellen: die Zeit beträgt weniger als 1/50 Sekunde! Das Ausstrecken dagegen vollzieht sich langsam und dauert 2 bis 10 Sekunden. Ähnliche Beobachtungen

sind auch an der Süßwasserart *Chrysochromulina parva* gemacht worden, wenn sie auch nicht zeitlich genau analysiert wurden (vgl. Heynig 1972).

Cristallolithus (=Coccolithus) hyalinus, ein Vertreter der marinen Kalkflagellaten, hat (wie anfangs erwähnt) ebenfalls ein Haptonema außer den zwei Geißeln. Sein Haptonema ist sehr variabel in der Länge (2 bis 10 μm), aber niemals mehr als halb so lang wie die Geißeln; deshalb kann es sich auch nicht einrollen. Ähnliches gilt auch für *Prymnesium*. Der Feinbau stimmt weitgehend mit dem der anderen besprochenen Gattungen überein. Es wurden hier 5—6 Mikrotubuli gefunden (Manton und Leedale 1963), wobei die Anzahl von 5 nur ausnahmsweise auftrat, ebenso wie die Zahl 8 bei zwei Arten von *Chrysochromulina*.

Alle Arten bzw. Gattungen, die ein Haptonema besitzen, haben auch zarte, nur mit dem Elektronenmikroskop sichtbare Schuppen auf der Zelloberfläche (vgl. Bilder 2 und 5). Deren Ober- und Unterseite zeigen dabei unterschiedliche Strukturen. Diese Eigentümlichkeiten—Haptonema und Schuppen — sind von einiger Bedeutung für die taxonomische Einordnung dieser Flagellaten. Deshalb hat Christensen bereits 1962 eine Abtrennung vorgenommen und eine neue Klasse, die Haptophyceen, innerhalb der Chrysophyta gebildet. Manche Taxonomen erheben diese Klasse sogar in den Rang eines besonderen Stammes, der Haptophyta.

Bei einigen Arten (z. B. *Chrysochromulina chiton*, einem marinen Vertreter) besitzt das Haptonema an der Basis eine Anschwellung bzw. Verdickung. In dieser Region öffnet sich der Ring der 7 Mikrofibrillen in einen nicht mehr geschlossenen Kreisbogen in Form eines C. An dieser Stelle wird das Haptonema von der Zelle leicht abgeworfen.

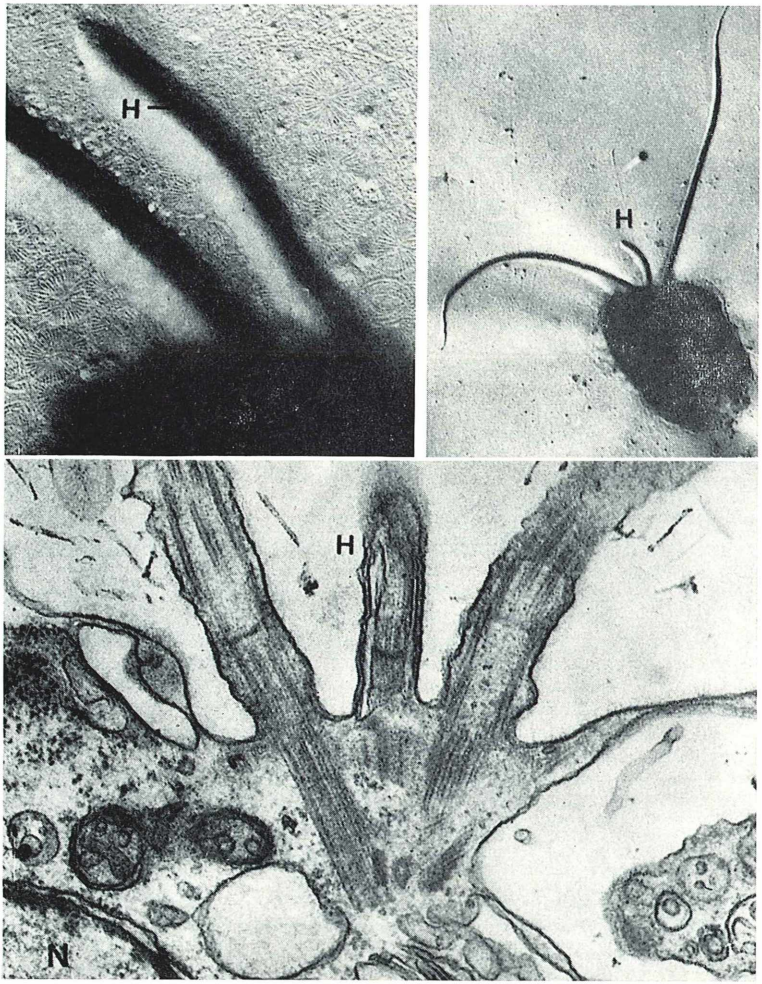


Bild 5: *Prymnesium parvum*. 1 Haptonema (H), links davon die Geißelbasis. Im Hintergrund zarte Körperschuppen (Vergr. 25 000×). 2 Vollständige Zelle mit beiden Geißeln und Haptonema (Vergr. 3000×). 3 Längsschnitt durch die Basis der Geißeln und des Haptonemas (Vergr. 40 000×; elektronenmikroskopische Aufnahmen, nach Manton 1964).

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

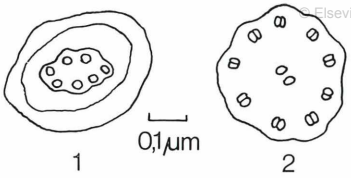


Bild 6: Schematischer Querschnitt durch ein Haptonema (1) und eine Geißel (2).

An *Prymnesium parvum* konnte durch Quer- und Längsschnitte festgestellt werden, daß zwischen dem inneren Zylinder mit den Mikrotubuli und den beiden äußeren Membranen, zwischen denen sich dichteres Material befindet, ein Hohlraum vorhanden ist, der sich durch die ganze Länge des Haptonemas bis zur Spitze hindurchzieht. Es konnte nachgewiesen werden, daß dieser Hohlraum einen Teil des sogenannten endoplasmatischen Retikulums (ER) darstellt (unter dem ER versteht man ein System von submikroskopischen Bläschen und Kanälchen im Grundplasma, in denen wichtige stoffwechselphysiologische Vorgänge ablaufen; das ER ist aus allen pflanzlichen und tierischen Zellen bekannt). In Abständen wird der Hohlraum dieses Haptonemas an einer Seite von brückenartigen Verbindungen zwischen den beiden äußeren Membranen und dem Zentralzylinder durchbrochen (Bild 8). Daraus ergibt sich, daß jene Seite des Organells, an der sich diese „Brücken" befinden, steifer ist als die andere, so daß die Einrollung (bei längeren Haptonemata) verständlich wird. Der Hohlraum dürfte mit Flüssigkeit gefüllt sein, so daß ein hydrostatischer Druck (Turgor) entsteht, der die mechanische Stabilität des Haptonemas bedingt. Solange das Haptonema ausgestreckt ist, muß das durch einen gewissen Innendruck bewirkt werden (Turgor-Hypothese von Manton). Das blitzschnelle Einrollen des Organells erfolgt durch plötzlichen „Zusammenbruch" des Drucks; das langsame Ausstrecken soll dagegen durch den allmählich wieder ansteigenden Turgor bewirkt werden. Über den Mechanismus und die Auslösung der Vorgänge bestehen gewisse Vermutungen, jedoch noch keine gesicherten Vorstellungen. Wichtig ist noch die Feststellung, daß die einzige „Übereinstimmung" zwischen Haptonema und Geißel lediglich an der Basis in Form von 9 Mikrotubuli besteht, deren Anordnung jedoch bereits grundsätzliche Unterschiede aufweist. Es ist deshalb nicht möglich, das Haptonema als eine „umgewandelte" Geißel zu bezeichnen, wie man es vor den elektronenmikroskopischen Untersuchungsergebnissen getan hatte. Beide Organelle sind eigenen Ursprungs. Somit ist die in der Überschrift gestellte Frage zu verneinen.

Von besonderer Bedeutung ist schließlich noch die Spitze des Haptonemas. Der Zentralzylinder mit den Mikrotubuli ist auch am Ende des Organells nicht mit den beiden äußeren Schichten verbunden, sondern von dem Hohlraum umgeben, wie die Längsschnitte in Bild 9 sehr deutlich zeigen. Die Spitze selbst ist in einen etwas unregelmäßigen Fortsatz der äußersten

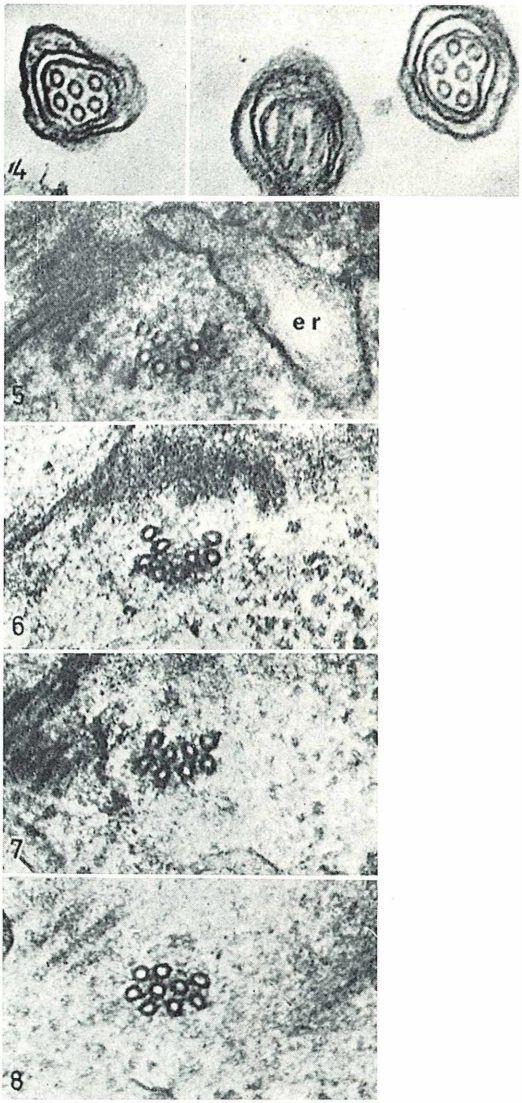


Bild 7: *Chrysochromulina strobilus*. 4 Querschnitte durch das Haptonema, die 6 Mikrotubuli und die 3 konzentrischen Hüllen zeigend. 5—8 Aufeinanderfolgende Querschnitte durch die Basis des Haptonemas (unterhalb der Zelloberfläche) in verschiedenen Tiefen. Die Aufnahmen zeigen die Zunahme und die sich ändernde räumliche Anordnung der Mikrotubuli von 6 auf 9 (elektronenmikroskopische Aufnahmen, nach Leadbeater & Manton 1969. Vergr. 100 000×). *er* Zisterne des endoplasmatischen Retikulums.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten. www.elsevier.de

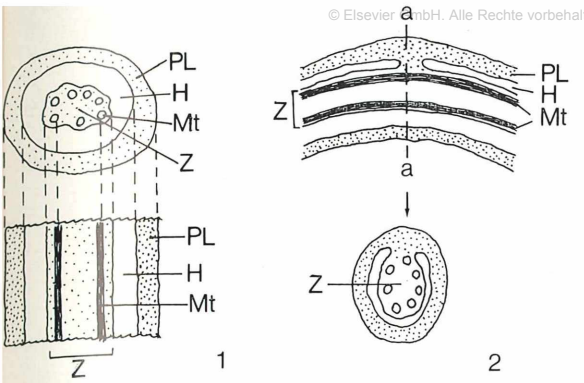


Bild 8: Schematisierte Zeichnungen zur Feinstruktur des Haptonemas (nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen von Manton 1964). 1 Quer- und Längsschnitt durch ein Haptonema, die Beziehungen der Strukturelemente in beiden Schnitten zeigend. 2 Längs- und Querschnitt (Ebene a — — — a) durch ein Haptonema von *Prymnesium parvum* an der Stelle einer „Brükke" (vgl. Text). *H* Hohlraum, *Mt* Mikrotubulus, *Pl* Plasmalemma, *Z* Zentralzylinder.

Schicht, also des Plasmalemmas, verlängert. Das ist jener Teil des Organells, mit dem sich die Zelle zeitweilig an einer Unterlage festheften kann (Bild 9).

Für die Anregung zu diesem Thema, für Literaturhinweise und die Beschaffung von Abbildungen bin ich Herrn Dr. Heynig zu Dank verpflichtet.

Literaturhinweise:

1. *Conrad, W.:* Notes protistologiques. XXI. Sur les Chrysomonadines à trois fouets. Aperçu synoptique. Bull. Mus. Hist. Nat. Belg. **17**, no. 45, 1—16 (1941).
2. *Fott, B.:* Algenkunde. 2. Aufl. Jena 1971.
3. *Heynig, H.:* Ein interessanter Vertreter des pflanzlichen Planktons: Die Goldalge Chrysochromulina parva. Mikrokosmos **61**, 300—305 (1972).

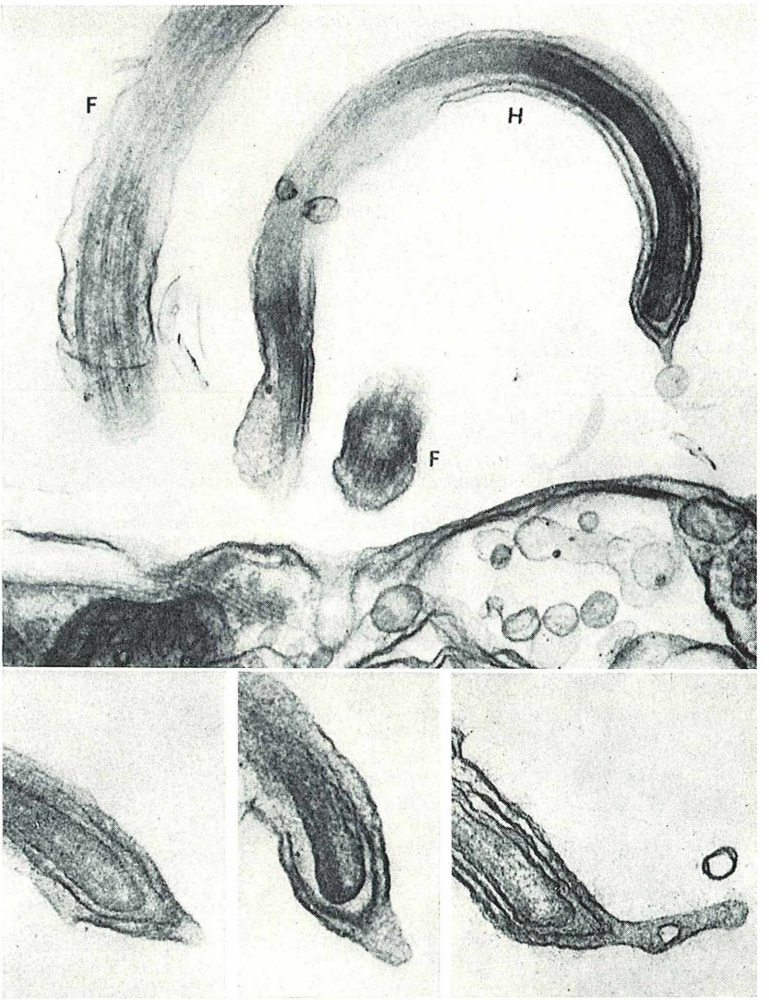


Bild 9: *Prymnesium parvum*. 4 Längsschnitt durch ein gekrümmtes Haptonema (H) und durch die Geißelbasen (F; Vergr. 40 000×). 5—7 Längsschnitte durch das Ende von 3 verschiedenen Haptonemata (Vergr. 60 000×; elektronenmikroskopische Aufnahmen, nach Manton 1964).

4. *Leadbeater, B. S.* and *Manton, I.*: New observations on the fine structure of Chrysochromulina strobilus Parke and Manton with special reference to some unusual features of the haptonema and scales. Arch. Mikrobiol. **66**, 105—120 (1969).
5. *Manton, I.*: Further observations on the fine structure of the haptonema in Prymnesium parvum. Arch. Mikrobiol. **49**, 315—330 (1964).
6. *Manton, I.*: Further observations on the microanatomy of the haptonema in Chrysochromulina chiton and Prymnesium parvum. Protoplasma (Wien) **66**, 35—53 (1968).
7. *Manton, I.* and *Leedale, G. F.*: Observations on the microanatomy of Crystallolithus hyalinus Gaarde and Markali. Arch. Mikrobiol. **47**, 115—136 (1963).
8. *Manton, I.* and *Leedale, G. F.*: Observations on the fine structure of Prymnesium parvum Carter. Arch. Mikrobiol. **45**, 285—303 (1963).
9. *Parke, M., Manton, I.*, and *Clarke, B.*: Studies on marine flagellates. II. Three new species of Chrysochromulina. J. Mar. Biol. Ass. U.K. **34**, 579—609 (1955).
10. *Streble, H.* und *Krauter, D.*: Das Leben im Wassertropfen. Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart 1973.

Otto Pflugfelder

Phaosomaugen

Für die meisten tierischen Organismen spielen Lichtwahrnehmungen eine große Rolle. Dem entspricht eine Fülle verschiedenster Lichtsinnesorgane. Von einfachen Lichtsinneszellen bis zum hochkomplizierten Auge der Raubvögel und zu den Facettenaugen der Insekten gibt es viele Übergänge. Entsprechend ist die Vielfalt physiologischer Leistungen vom Hell-Dunkel- bis zum Farbbildsehen. Neben zahlreichen Hilfseinrichtungen der Augen spielen lichtempfindliche Zellen als Rezeptoren die Hauptrolle beim Sehakt. Diese treten in zwei verschiedenartigen Haupttypen auf: als Stäbchenzellen und als Phaosomzellen. Während die Sehzellen der meisten Tiere Stäbchen oder Zäpfchen tragen, besitzen nur wenige Arten Sehzellen mit einem oder mehreren Binnenkörpern. Da letztere das Licht stark brechen, werden sie auch als Glanzkörper oder Phaosome (phaos = Licht, soma = Körper) bezeichnet. Am einfachsten gebaut sind solche Sehzellen beim Regenwurm (Bild 1). Sie enthalten einen runden oder ovalen, bisweilen auch unregelmäßig geformten Binnenkörper. Das ihn umgebende Plasma bildet einen Stiftchensaum. Am zahlreichsten sind solche Sehzellen im Bereich der Oberlippe des Regenwurms, seltener auf der Dorsalseite des übrigen Vorderendes. Bei anderen Oligochaeten, z. B. bei *Stylaria lacustris* sind die Sehzellen von basalen Pigmentzellen begleitet.

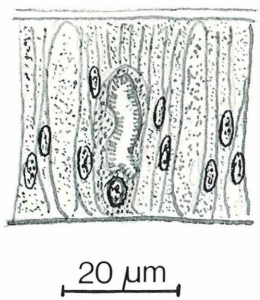


Bild 1: Epidermis des Regenwurms *Lumbricus terrestris* mit Lichtsinneszelle.

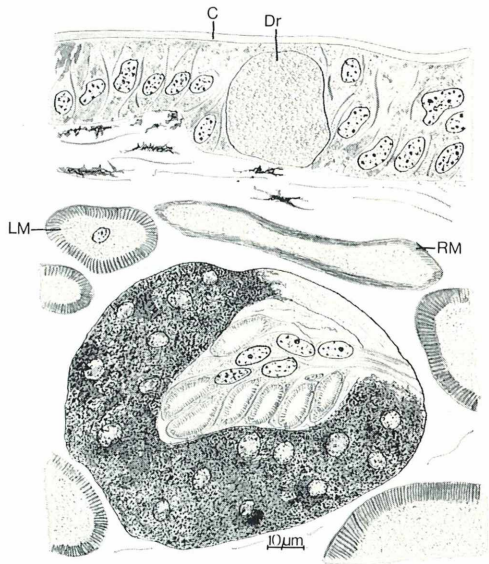
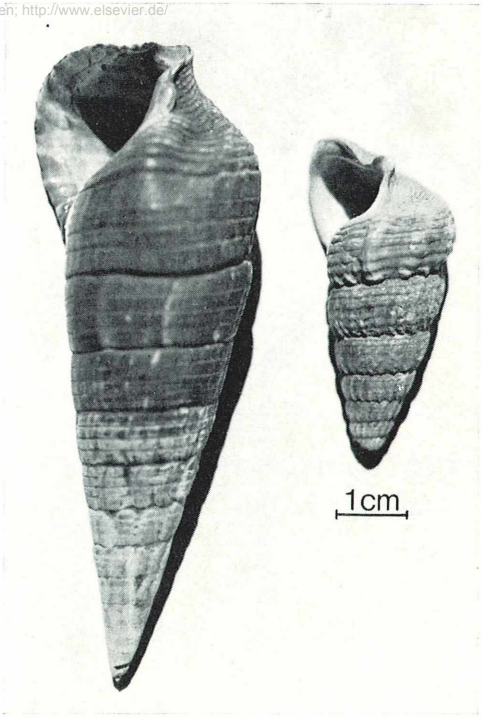


Bild 2. Phaosomauge des Rüsselegels *Glossosiphonia complanata*. *C* Cuticula, *Dr* Drüsenzelle, *LM* Längsmuskel, *RM* Ringmuskel.

Bei den Hirudineen (Blutegeln) wandern Phaosomzellen einzeln oder gruppenweise aus der Epidermis in das darunter liegende

Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Bild 3: *Potamides telescopium* (links) und *Potamides obtusus* (rechts).



Bindegewebe. Dort werden sie bei dem Rüsselegel *Piscicola geometra* in Form einer flachen Schale angeordnet und von Pigmentzellen dicht unterlagert. Die Phaosome sind dem Licht abgekehrt, die von den Sehzellen abgehenden Nerven dem Licht zugekehrt. Es handelt sich also um ein einfaches inverses Phaosomauge. Bei dem gleichfalls zu den Rüsselegeln zählenden Egel *Glossosiphonia complanata* wird die Pigmentschale zu einem Pigmentbecher umgewandelt (Bild 2). Der inverse Bau der Sehzellen aber wird beibehalten. Die Öffnungen der drei Augenpaare sind unter verschiedenen Winkeln in dorsolateraler Richtung angeordnet.

Die Kieferegel, wie *Hirudo medicinalis* und *Aulastomum gulo,* besitzen fünf Paare solcher Phaosomaugen. Allerdings ist der Pigmentbecher noch mehr vertieft. In ihm liegen die Sehzellen schichtweise übereinander. Da der Sehnerv von der Basis des Auges ausgeht, kommt es zu einer teilweisen Revertierung der Augen. Elektronenmikroskopische Untersuchungen des Hirudineenauges von Hansen (1962) und Röhlich & Török (1964) bestätigen die schönen Arbeiten von Hesse (1897), ergänzten sie aber lediglich durch den Nachweis von Mitochondrien, Golgiapparat und anderer Zellorganellen.

Wenig beachtet blieb die Tatsache, daß auf der Basis von Phaosomzellen bei gewissen Schnecken komplizierte Linsenaugen entstehen können. Bereits 1896 machte Pelseneer auf ein Mantelauge von *Potamides obtusus* aufmerksam, dessen Struktur ihm allerdings unbekannt blieb. Was seine Lage betrifft, so befindet es sich in einer Vorbuchtung des Mantelrandes, die siphoartig in eine entsprechende Ausbuchtung des Mündungsrandes der Schale hineinragt (Bilder 3 und 4). Wenn sich die luftatmende Schnecke, die in der Mangrove NO-Sumatras lebt, in ihr Haus zurückzieht und den Deckel schließt, dann bestehen immer noch zwei Verbindungen zur Außenwelt (Bild 4): erstens über das Atemloch zur Deckung des Sauerstoffverbrauchs und zweitens über das Mantelauge, während die beiden Augen des Kopfes im Innern der Schale verschwunden sind. Einzigartig im ganzen Tiereich ist nun der histologische Aufbau des Mantelauges (Bild 5). Bei oberflächlicher Betrachtung könnte man es als Blasenauge mit Linse betrachten. Im Gegensatz zu allen andern Molluskenaugen ist aber schon der Bau der Linse eine Besonderheit insofern, als sie aus Zellen besteht, die in ihrer Gesamtheit eine Fortsetzung und Verdickung der Epidermis des Mantelrandes darstellen. In die randlichen Teile der Linse ist viel Pigment eingelagert, so daß nur der Zentralteil am Zustandekommen eines Bildes beteiligt ist.

Einen noch viel eigenartigeren Aufbau aber zeigt die Retina. Sie besteht aus vielen mehrschichtigen Säulen, die durch Pigment gegeneinander abgegrenzt sind. Jede Säule umfaßt vier Reihen von Phaosomzellen. In jeder der drei in Bild 6 dargestellten Säulen sind jeweils nur zwei dieser Reihen getroffen. Jede Reihe besteht maximal aus

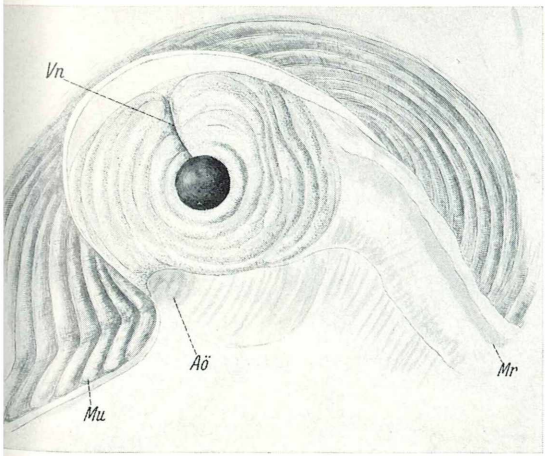


Bild 4: Mündungsrand der Schale von *Potamides obtusus* mit Mantelauge. *Aö* Atemöffnung, *Mr* Mantelrand, *Mu* Mündungsrand, *Vn* Verwachsungsnaht des Sipho.

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

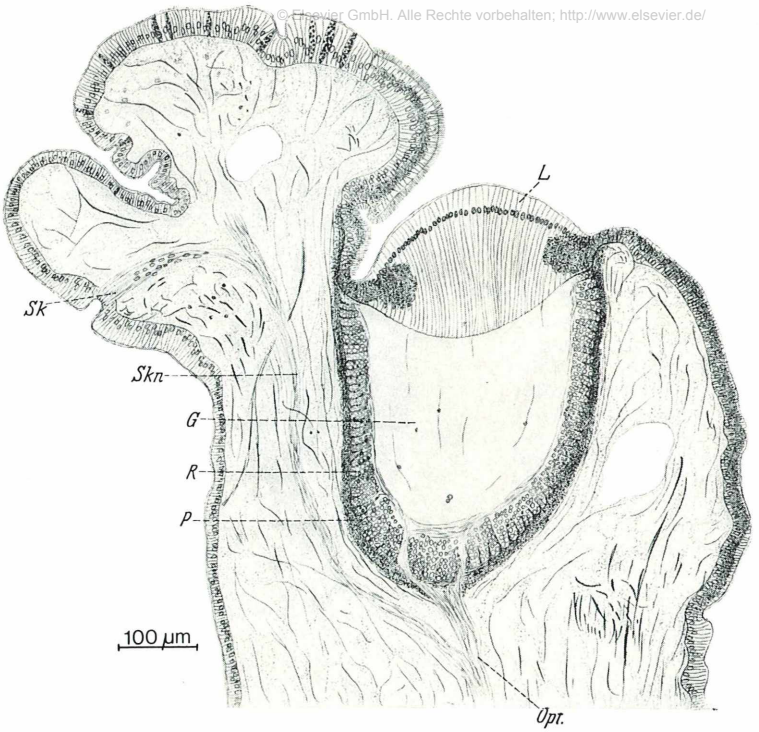


Bild 5: Schnitt durch das Mantelauge von *Potamides obtusus*. *G* Glaskörper, *L* Linse, *Opt* Opticus, *P* Pigment, *R* Retina, *Sk* Sinnesknospe, *Skn* Nerv der Sinnesknospe.

fünf übereinandergelagerten Phaosomzellen mit je einem Phaosom. Von jeder Sinneszelle geht ein nervöser Fortsatz in Richtung Glaskörper ab. Es handelt sich also um ein inverses Auge, wenngleich die gebündelten Nervenfibrillen, ähnlich wie bei dem gleichfalls inversen Auge der Wirbeltiere, als Opticus vom inneren Pol des Auges abgehen. Bemerkenswert erscheint, daß die Phaosomzellen jeder Säule untereinander in engstem Verband stehen, was für eine Bilderfassung nicht ohne Bedeutung sein dürfte. Wie Bild 5 zeigt, gesellen sich dem Opticus auch Nerven von Sinnesknospen (*Sk*) bei.

Der völlig durchsichtige Glaskörper (*G*) ist bei mikroskopischer Betrachtung keineswegs homogen. In ihm liegen vereinzelt Zellen mit langen Ausläufern. Es handelt sich dabei um Phaosomzellen, die sich in Auflösung befinden. Da keine besonderen glaskörperbildenden Zellen im Auge vorhanden sind, ist anzunehmen, daß die Bildung des Glaskörpers von den Phaosomzellen ausgeht.

Leider bestand keine Möglichkeit, an Ort und Stelle physiologische Untersuchungen anzustellen, und den Transport nach Europa überstanden die Schnecken nicht. Leider konnte auch nicht die Entwicklung dieser interessanten Augen untersucht werden, da keine laichreifen Tiere gefunden wurden. So möge diese Mitteilung als Anregung dienen, diese Lücken zu füllen. Wichtig wäre es ferner, weitere Vertreter der Familie

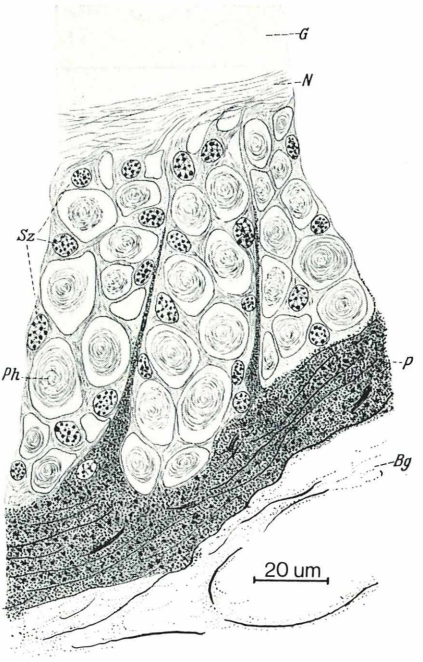


Bild 6: Ausschnitt aus der Retina. *G* Glaskörper, *Bg* Bindegewebe, *N* Nervenschicht, *P* Pigment, *Ph* Phaosom, *Sz* Sinneszellen.

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

Cerithiidae auf den Besitz solcher Augen hin zu untersuchen. Bislang sind sie nur von *Potamides obtusus* und *P. quadratus* bekannt. Bei der unter gleichen Bedingungen im selben Biotop lebenden Art *Potamides telescopium* (Bild 2, links) findet man an Stelle der Mantelaugen lediglich Sinnesknospen.

Literaturhinweise:

Hansen, K.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Hirudineenaugen. Zool. Beitr. N.F. 7, 83—128 (1962).

Hesse, R.: Untersuchungen über die Organe der Lichtempfindung bei niederen Tieren. Z. wiss. Zool. 61, 393—419 (1896); 62, 671—707 (1897).

Pelseneer, P.: Prosobranches aëriens et Pulmonés branchifères. Arch. de Biol. 14 (1895).

Pflugfelder, O.: Das Mantelauge von *Potamides obtusus*. Zool. Anz. 89, 276—283 (1930).

Röhlich, P. u. *Török, L. J.:* Elektronenmikroskopische Beobachtungen an den Sehzellen des Blutegels *Hirudo medicinalis*. Z. Zellforsch. 63, 618 bis 635 (1964)

Verfasser: Prof. Dr. Otto Pflugfelder, Egilolfstr. 35, 7000 Stuttgart-Birkach.

Winke fürs Labor

Gottfried Metze
Erich Saake

Ein Photomikroskop für die Phototasche

Schon mancher Mikroskopiker, der seine Ferien oder seinen Urlaub an fernen Meeren oder in anderen Erdteilen verbracht hat, wird seine mikroskopische Ausrüstung schmerzlich vermißt haben. Es war ihm nicht möglich, sie wegen der Gewichtsbeschränkung, der sein Reisegepäck im Zeitalter der Flugreisen unterliegt, mitzunehmen. Eine ihm unbekannte Welt von Mikroorganismen blieb ihm verschlossen. Da helfen auch als Reisemikroskope angebotene Geräte nicht weiter, da sie für die Mitnahme auf Flugreisen viel zu schwer sind. Sie entsprechen Arbeitsmikroskopen, die lediglich in Reisebehältern untergebracht sind. Sie eignen sich hervorragend als Reisemikroskop, wenn ein Auto als Beförderungsmittel zur Verfügung steht, nicht aber,

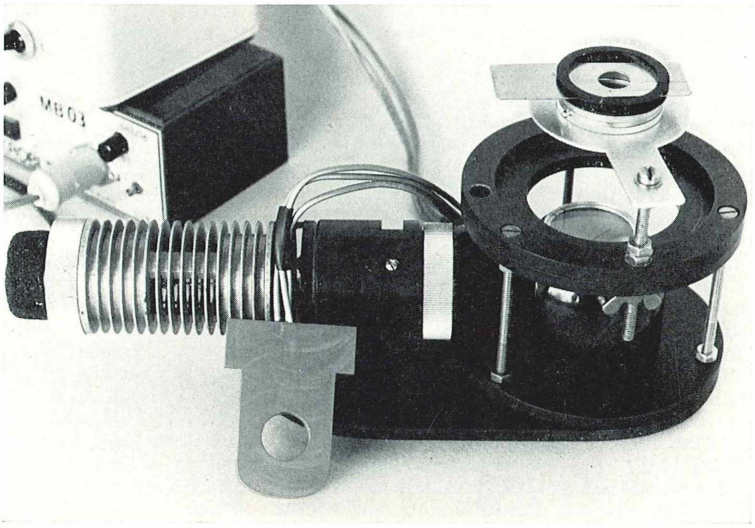


Bild 1: Beleuchtungsuntersatz mit Niedervoltleuchte, Blitzdoppelkollektor, Spiegelgehäuse, aufgeschraubtem Teil zur Erzielung schiefer Beleuchtung und Fassung für die Blitzröhre. Die Röhre ist noch nicht eingesetzt.

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

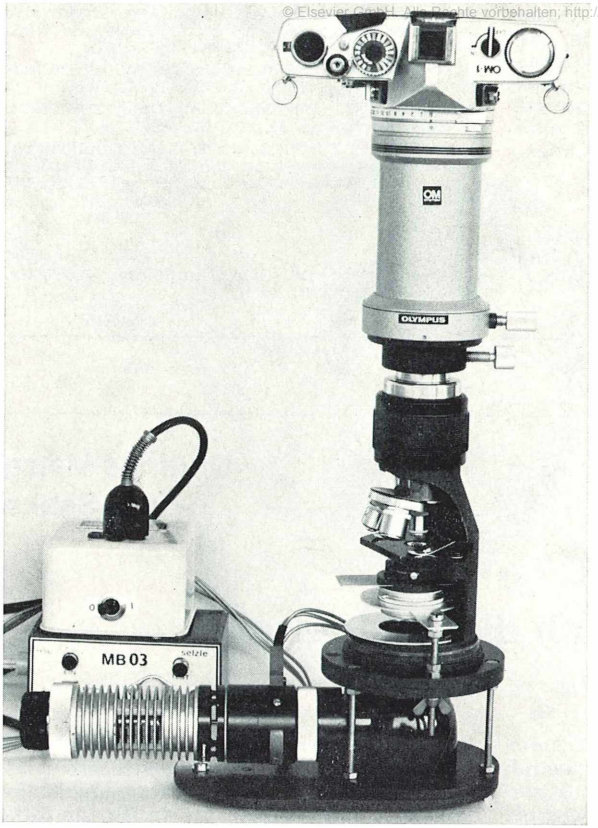


Bild 2: Das komplette Reisephotomikroskop.

wenn andere Verkehrsmittel benutzt werden müssen. Selbst die präzisen Mikroskope vom McArthur-Typ kommen kaum in Betracht, weil sie nach dem Prinzip des umgekehrten Mikroskops arbeiten. Der Objektträger müßte umgedreht, also mit dem Deckglas nach unten aufgelegt werden. Eine Untersuchung von lebendem Material würde dadurch auf jeden Fall erschwert.

Daß es grundsätzlich möglich ist, ein Reisephotomikroskop zu bauen, das in der Leistung einem Arbeitsmikroskop mit Photoeinrichtung entspricht und den Mikroskopiker nicht mehr belastet als eine mittlere Photoausrüstung, soll die folgende Arbeit zeigen. Zweck der Arbeit soll es ferner sein, der optischen Industrie den Hinweis zu geben, sich einmal mit dem Problem des Reisephotomikroskops zu beschäftigen, für das zweifellos eine Marktlücke besteht.

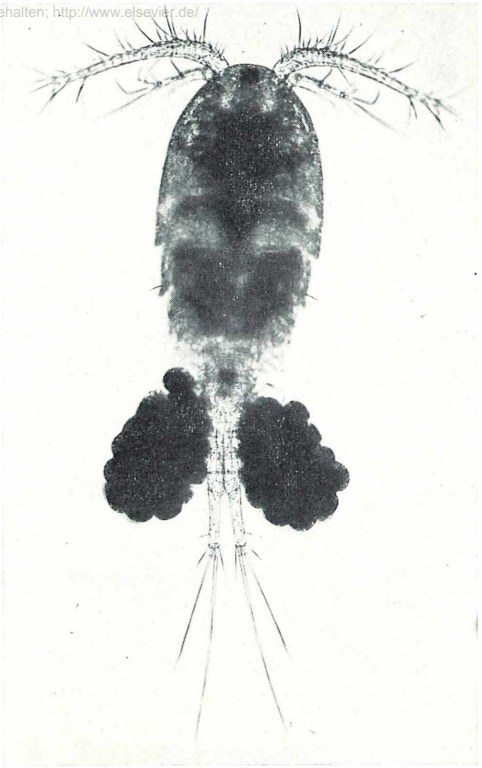
Um den Plan ein Reisephotomikroskop zu bauen, verwirklichen zu können, mußten die Verfasser auf ein Gerät zurückgreifen, das vor ungefähr 50 Jahren von der Firma M. Hensoldt & Söhne unter dem Namen PROTAMI (TAMI=TAschen-MIkroskop) auf den Markt gebracht wurde. Zu einer Zeit also, da die Feldbiologen noch kein Auto zur Verfügung hatten und darum die Ausrüstung oft stundenlang im Rucksack mittragen mußten. Es hat sich so gut bewährt, daß es fast 40 Jahre hindurch gebaut wurde. Das PROTAMI besitzt drei Objektive mit den Aperturen 0,27, 0,82 und 1,3 (Ölimmersion) und einen Kondensor mit der Apertur 1,2. Zwei ausziehbare Tuben gestatten eine kontinuierliche Veränderung der Vergrößerungen zwischen 45—1450fach. Verpackt unter einer Metallhaube ist es 18 cm hoch und wiegt 1 kg. Dieses Mikroskop erfüllt alle Voraussetzungen, die an ein Reisephotomikroskop zu stellen sind. Zur Vervollständigung der Einrichtung müssen die Niedervoltleuchte und Elektronenblitz beschafft und eine Vorrichtung zum Anbringen der Kleinbildkamera angefertigt werden.

Umfangreiche Versuche, die mit kleinen Blitzgeräten durchgeführt wurden, fielen unbefriedigend aus, da bei schwachen Vergrößerungen keine gleichmäßige Ausleuchtung zu erhalten war. Schließlich wurde im Mikroblitzgerät II von Zeiss die optimale Lichtquelle gefunden. Es besteht aus dem Spiegelgehäuse mit Iris, Lampengehäuse mit Kollektor, Fassung für Niedervoltlampe und dem Blitzdoppelkollektor. Um das Gewicht der Einrichtung möglichst niedrig zu halten, wurde das Netzanschlußgerät von Zeiss gegen das leichte MB 03-Gerät der Firma Selzle, 8021 Taufkirchen, ausgetauscht. Für die daran anzuschließende Blitzröhre von 60 WS Leistung, muß nach den Maßen, die aus der Zeichnung zu entnehmen sind, eine Fassung auf 7 mm dickem Pertinax gearbeitet werden. Die Intensität des Elektronenblitzes, 18 WS, reicht für alle gegebenen Vergrößerungsbereiche bei Hellfeldbeleuchtung und Verwendung von Filmmaterial mit 15 DIN Empfindlichkeit aus.

Die Verbindung zwischen Mikroskop und Beleuchtungseinrichtung stellt ein Untersatz her. Als Baumaterial hierfür haben sich Pertinaxplatten von 5 mm Dicke bewährt. Das Material ist mit Kreisschneider und Metallsäge zu bearbeiten. Nach den in der Zeichnung angegebenen Maßen werden 3 Ringe, I, II, III und die Platte IV ausgeschnitten und mit den jeweils als 1, 2, 3, 4 und 5 bezeichneten Bohrungen versehen. Die Bohrungen 1, 2 und 3 haben die Stativschrauben aufzunehmen. Es ist darauf zu

Bild 4: Hüpferling *Cyclops spec.*, Objektiv 0,27 ohne Vorderteil, ohne Okular, Vergr. 45×.

Copyright © 2010 Elsevier Inc. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/



achten, daß sie in ihrer Lage jeweils mit den Bohrungen in den anderen Ringen, einschließlich denen in der Platte IV, genau übereinstimmen.

Der Zusammenbau des Untersatzes ist wie folgt vorzunehmen: Durch die Bohrungen 1, 2 und 3 in den Ringen I und II werden drei Messingschrauben mit Ganzgewinde von 80 mm Länge und 4 mm Dicke gesteckt und mit Muttern verschraubt. Ring II dient als Auflage für das Mikroskop, Ring I als Halterung. Am unteren Ende der Schrauben werden Ring III und die Platte IV zwischen zwei Muttern verschraubt. Ring III nimmt die Beleuchtungseinrichtung auf, die Platte IV dient als Grundplatte. Sie erhält außerdem die Bohrung 5 zur Aufnahme einer 11 mm langen Schraube, die der Nivellierung des Gerätes dient. Die Beleuchtungseinrichtung wird mittels einer unter dem Spiegelgehäuse anzubringenden Schraube auf dem Untersatz befestigt. Dazu wird der Sockel des Spiegelgehäuses mit einer zentralen Bohrung versehen (Sockel herausschrauben), durch die eine 20 mm lange Schraube gesteckt und von unten mit einer Mutter festgeschraubt wird. Nachdem die Beleuchtungseinrichtung auf Ring III gesetzt ist, wird auf das Gewinde der Sockelschraube, die durch die zentralen Ausschnitte in Ring III und der Grund-

Bild 3: Kieselalge *Pleurosigma angulatum*. Objektiv 1,3 mit Okular, Vergr. 1360×.

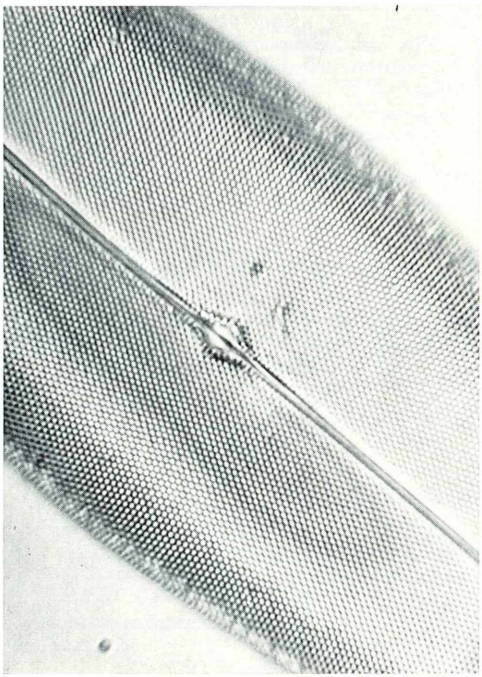
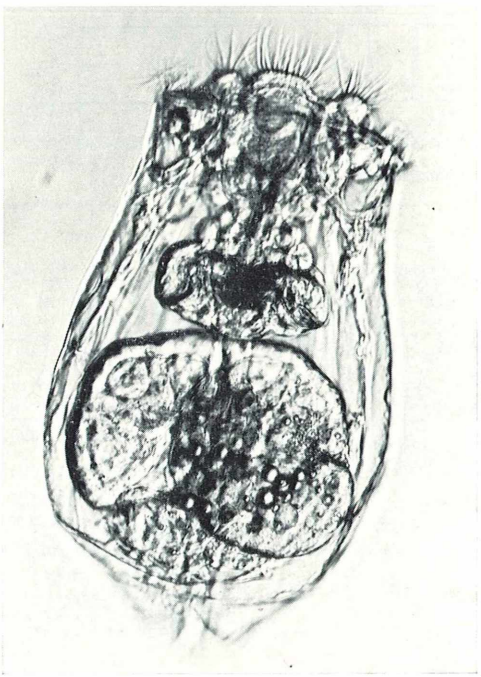


Bild 5: Rädertier *Brachionus*, Objektiv 0,27 mit Okular, Vergr. 130×.



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

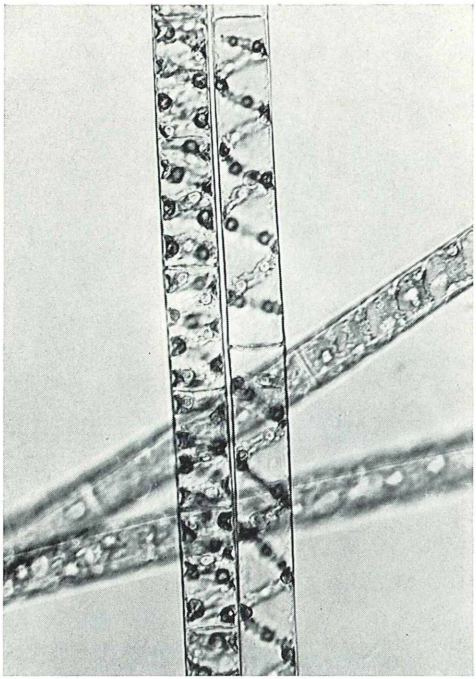


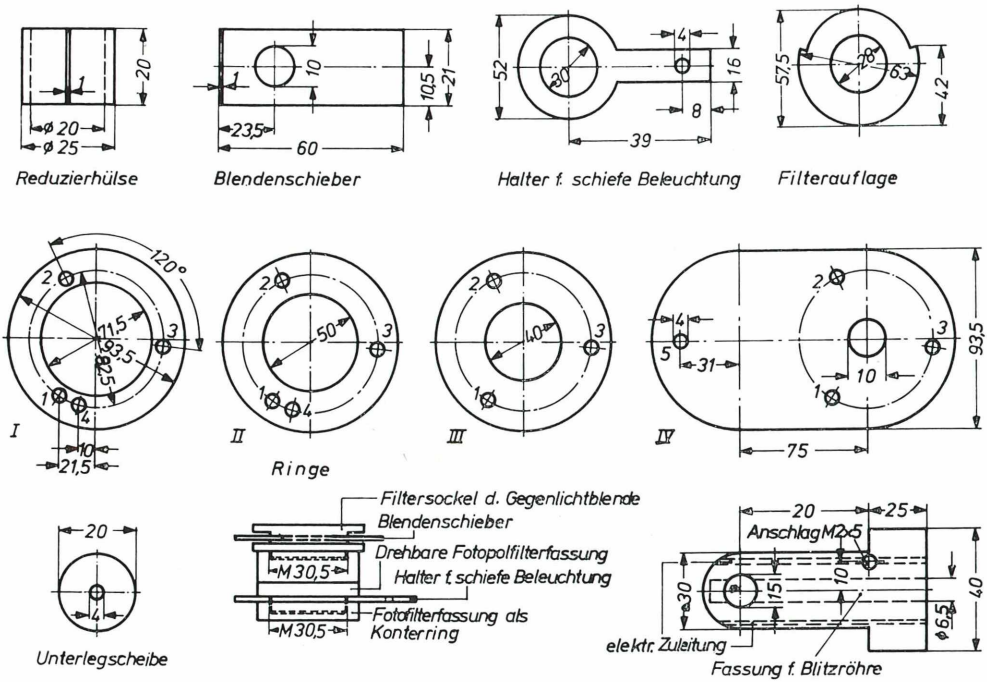
Bild 6: Jochalge *Spirogyra spec.* Objektiv 0,82 ohne Okular, Vergr. 250×.

Bild 7: Die selbstherzustellenden Teile. Aus Platzgründen sind die Zeichnungen nicht maßstäblich gehalten. Die Maßangaben sind daher genau zu beachten.

platte reicht, eine Scheibe gelegt (siehe Zeichnung) und mit einer Mutter verschraubt. Da der Ausschnitt in Ring III einen größeren Durchmesser hat als der Sockel des Spiegelgehäuses, besteht die Möglichkeit, die Beleuchtung bei gelockerter Mutter zu zentrieren.

Zur Anbringung der Kamera am Mikroskop wird eine Hülse mit seitlich eingesägtem Schlitz benötigt, die den Ausgleich zwischen dem geringeren Tubusdurchmesser des PROTAMI und dem Durchmesser normaler Mikroskoptuben herstellt. Ihr Innendurchmesser muß 20 mm, ihr Außendurchmesser 25 mm betragen. Diese Hülse wird auf den unteren Tubus des PROTAMI gesteckt. Damit ist das Gerät zur Aufnahme handelsüblicher Mikroskopadapter geeignet.

In der Praxis hat sich noch eine Zusatzeinrichtung, mit der schiefe Beleuchtung erzielt werden kann, ausgezeichnet bewährt. Sie besteht aus einem Blendenschieber, der drehbar unmittelbar unter dem Mikroskopkondensor anzubringen ist. Als Halter muß eine Scheibe aus Aluminiumblech von 1 mm Dicke hergestellt werden (Maße bitte der Zeichnung entnehmen). Als Führung für den Schieber dient der Sockel einer einstülpbaren Photogegenlichtblende (Gegenlichtblende entfernen), in den seitlich zwei Führungsschlitze gesägt werden. Der Sokkel wird in die drehbare Fassung eines Photopolarisationsfilters geschraubt, diese Polfilterfassung auf das Aluminiumblech gesetzt und von unten mit einer Photo-



filterfassung verschraubt. Alle Elemente müssen M 30,5 mm Gewinde haben. Das ganze Teil wird dann mit einer 50 mm langen Schraube, für die Bohrung 4 in den Ringen I und II vorgesehen ist, befestigt (siehe Zeichnung und Foto). Um ein Ausschwenken des Beleuchtungsteils zu ermöglichen, sollte zur Befestigung unter Ring II eine Flügelmutter angebracht werden.
Als Kamera bot sich ihres geringen Gewichtes wegen und wegen der Auswechselbarkeit ihrer Einstellscheiben die Olympus OM-I mit Einstellscheibe 1=12 besonders an. Die Verbindung mit dem Mikroskop erfolgt über den dazugehörigen Mikroskopansatz.

Zur Photopraxis:

Zur Mikrophotographie sollte das Mikroskop aus Stabilitätsgründen nur mit eingeschobenen Tuben verwendet werden. Die Abbildungsmaßstäbe auf dem Film betragen in diesem Fall: 35 : 1, 70 : 1, 248 : 1 und 453 : 1. Die gewünschten Endvergrößerungen lassen sich durch Nachvergrößern der Negative herausholen.
Übersichtsaufnahmen bei schwachen Vergrößerungen lassen sich machen, wenn ohne Okular, also bei abgeschraubtem oberen Tubus aufgenommen wird. Diese unorthodoxe Methode führt zu guten Ergebnissen. Der Abbildungsmaßstab auf dem Negativ bei Gebrauch des Objektivs mit der Apertur 0,27 beträgt 24 : 1, wenn das Vorderteil des Objektivs abgenommen wird 14 : 1. In beiden Fällen ist die Optik aus der Kondensorfassung herauszuschrauben und in den Filterhalter des Spiegelgehäuses eine Konvexlinse von ca. 6 cm Brennweite oder die Kondensorhilfslinse I von Zeiss (Best.-Nr. 465130) zu legen, um den Strahlengang der Lichtquelle konvergent zu machen.
Um exakt belichten zu können, wird mit dem eingebauten Belichtungsmesser der Kamera das Licht der Niedervoltlampe gemessen. Die Lampe dient als Vergleichslichtquelle für den Elektronenblitz und muß daher stets mit gleichbleibender Spannung von 6 Volt betrieben werden. Bei der beschriebenen Einrichtung muß der Lichtstrom der Lichtquelle mit Grau- oder Mattfiltern soweit abgeschwächt werden, daß eine Belichtungszeit von 1—2 sec. resultieren würde. In diesem Fall ist bei Belichtung mit dem Elektronenblitz ein gut durchgezeichnetes Negativ zu erwarten. Selbtsverständlich muß nach der Belichtungsmessung der Kameraverschluß wieder auf die kürzeste für den Elektronenblitz synchronisierte Zeit gestellt werden, da andernfalls auch das Licht der Niedervoltleuchte wirksam wird.
Als Filterauflage hat sich eine Aluminiumscheibe (siehe Zeichnung) als zweckmäßig erwiesen, die auf den Mikroskopfuß gelegt wird.
Die beschriebene Ausrüstung kann in einer Phototasche mit den Maßen 33×13×23 cm untergebracht werden und wiegt komplett ca. 5 kg.

Literaturhinweise:

1. *Martin Deckart:* Schiefe Beleuchtung. Mikrokosmos 44, 1954/55 S. 64—65.
2. *M. Mayer:* Zeiss-Mikroblitz-Gerät in der biologischen Wasser- und Abwasseranalyse. Zeiss-Werkzeitschrift Nr. 44/1962, S. 46—47.
3. *F. K. Möllring:* Der Zeiss-Mikroblitz, Einzelheiten und Arbeitspraxis. Zeiss-Werkzeitschrift Nr. 36/1960, S. 44—47.
4. *A. Rieth:* Ein einfacher Beleuchtungsuntersatz zum Kleinmikroskop „TAMI". Mikrokosmos 45, 1955/56, S. 163—166.

Verfasser: Gottfried Metze und Erich Saake, Pädagogische Hochschule Ruhr, Fachbereich VI. Physik/Biologie. Emil Figge-Str. 50, 4600 Dortmund-Barop.

Eine einfache Silberlösung zur Färbung retikulärer Fasern

Das hier geschilderte Verfahren verwendet statt der üblichen ammoniakalischen Silberlösung eine Silberlösung mit Ammoniumnitrat und Natriumhydroxid, die leichter herzustellen ist. Fixiert wird in Formol, eingebettet wird in Paraffin. Die aufgeklebten Schnitte werden nach dem Entparaffinieren über die absteigende Alkoholreihe in H_2O dest. gestellt. Nun werden sie 2 min in einer Lösung, die aus 45 ml 0,25%igen Kaliumpermanganats und 0,5 ml 0,67%igen Eisessigs in H_2O dest. besteht, oxidiert. Die Schnitte werden 15 Sekunden in H_2O dest. gespült, dann 2 min mit 1%iger wäßriger Oxalsäurelösung weiterbehandelt, bis sie entfärbt sind. Mit 2mal gewechseltem H_2O dest. werden die Schnitte jeweils 1 min gespült. 6 min oder länger werden sie in die Silberlösung (bestehend aus 7 ml 8%igen Ammoniumnitrats, 35 ml H_2O dest., 8 ml 4%igen Natriumhydroxids, 3,8 ml einer 10%igen Silbernitrat-Lösung, Zusammensetzung nach der angegebenen Reihenfolge!) gestellt. Die Objektträger mit den Schnitten werden nun einzeln ganz kurz in 70%iges Äthanol getaucht und anschließend in 2mal gewechselte 0,2%ige Formol-Lösung für 2 min gestellt (kurz und mit konstanter Bewegung im ersten Gefäß, länger im zweiten Gefäß). Währenddessen können die anderen Präparate noch in der Silberlösung verbleiben. Gespült wird 1 min in H_2O dest., dann 1 min mit 1%iger Goldchlorid-Lösung getont, was zu dunkleren Fasern auf hellerem Hintergrund führt. Nach abermaligem Spülen in H_2O dest. 1 min lang, wird 1 min in 5%iger Natriumthiosulfatlösung fixiert, wieder 1 min in H_2O dest. gespült, über die aufsteigende Alkoholreihe entwässert und über Xylol in einem der üblichen Kunstharze eingeschlossen. Ergebnis: Der Kontrast zwischen den tiefdunkel gefärbten retikulären Fasern und dem nur schwach angefärbten Hintergrund ist so deutlich, daß sich eine Verteilung der retikulären Fasern auf den Schnitten schon bei geringer Vergrößerung gut untersuchen läßt.
Naoumenko, J. and Feigin, I.: A simple silver solution for staining reticulin. Stain Technol. 49, 153—155 (1974).

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

Helmut Birkenbeil

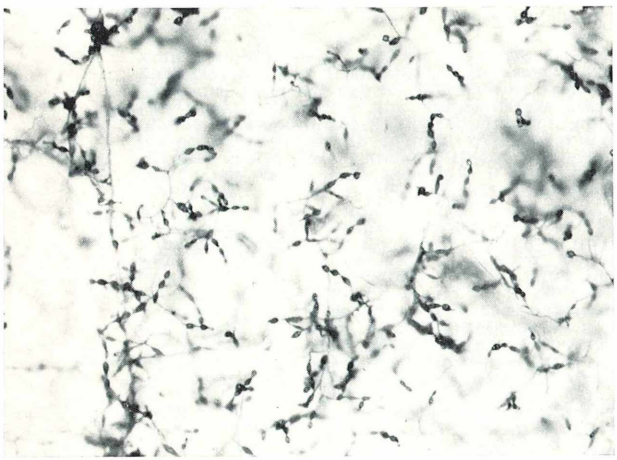
Schimmelpilze im Unterricht

Morphologie und Physiologie von Alternaria tenuis

1. Der Schimmelpilz Alternaria tenuis

Am Abbau organischen Materials sind Schimmelpilze in hohem Maße beteiligt. Für die „Universalität des Geschmacks" (Sistrom 1966) spricht, daß nahezu jede Substanz, die der Lebenstätigkeit von Organismen entstammt, angegriffen werden kann. Als Reduzenten stehen sie zusammen mit den Bakterien vermittelnd zwischen den konsumierenden und produzierenden Lebewesen und ermöglichen die Recyklierung der lebenswichtigen Stoffe.
Aber die Schimmelpilze begegnen dem Menschen auch als Konkurrenten, die ihm die Nahrung streitigmachen. Im Weltmaßstab werden z. B. allein 10% des Getreides von Schimmelpilzen zerstört (Müller 1974). Neben der Vernichtung von Lebensmitteln kommt diesen Mikroben insofern noch eine besondere Bedeutung zu, als sie, für das bloße Auge oft unsichtbar, lebensbedrohende Giftstoffe (Mycotoxine) in das besiedelte Substrat ausscheiden. Gilt für den Umgang mit Bakterien, daß jeder unbekannte Stamm als potentiell pathogen betrachtet werden muß, so ist in Übertragung dieser Vorsichtsmaßnahme auf die Schimmelpilze wichtig, daß man jeden ihrer Vertreter als Mycotoxinbildner ansehen muß, bis die Ungefährlichkeit zweifelsfrei erwiesen ist. Es sei hier nur kurz auf die Zusammenhänge zwischen dem Verzehr verschimmelter Lebensmittel und dem Auftreten von Leberkrebs hingewiesen (vgl. Reiß 1976).
Viele Schimmelpilze zählen auch zu unseren Kulturpflanzen und spielen als Produzenten von Antibiotika, Vitaminen und organischen Säuren sowie bei der Käsebereitung eine bedeutende Rolle.
Was die Pflanzensystematik betrifft, so stellt die Gruppe der Schimmelpilze keine eigenständige Kategorie dar, sondern umfaßt Formen aus den verschiedenen Pilzklassen. Dietle (1974) definiert den Begriff „Schimmelpilze" als „Sammelbezeichnung für Mycelien, die auf der Oberfläche von organischen Stoffen wachsen". Ein weiteres Kriterium ist das Vorherrschen der ungeschlechtlichen Fortpflanzung.
Alternaria-Arten besiedeln häufig Lebensmittel pflanzlichen Ursprungs und verderben sie. Sie sind Erreger der Hartfäule bei Kartoffeln *(A. solani)*, der Naßfäule von Grapefruits *(A. citri)* und befallen als sogenannte Schwärzepilze Möhren und Karotten *(A. radicinia)*. Nach Bilai (1963) ist *Alternaria solani* eine besondere Form von *A. tenuis*, die somit wahrscheinlich eine Sammelart darstellt. *Alternaria*-Sporen finden sich reichlich im Wohnungsstaub und sind pilzliche Erreger des Heufiebers. *Alternaria* tritt zusammen mit *Penicillium, Aspergillus, Mucor* und *Rhizopus* als Bestandteil der epiphytischen Flora des Getreidekorns auf (Müller 1974). Die Sporen gelangen beim Mahlvorgang ins Mehl [1], können in

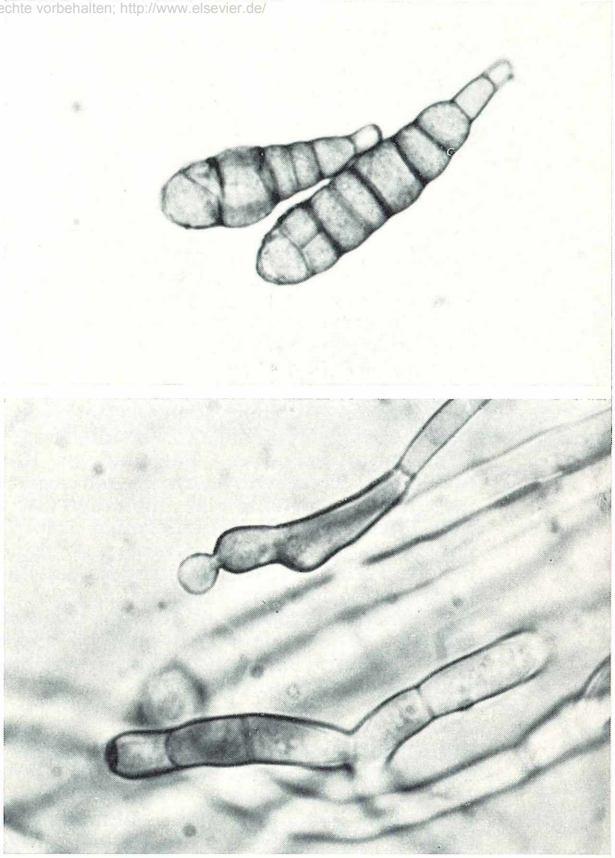
Bild 1: Oberflächenmycel von *Alternaria tenuis* mit Makrokonidien. Verschiedene Entwicklungsstadien der Sporen sind zu erkennen. 60 : 1.



Copyright (c) Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Bild 2: Makrokonidien von *A. tenuis* mit transversal, longitudinal und diagonal angelegten Septen. 1100 : 1.

Bild 3: Konidienträger (Conidiophoren). Ein Träger mit Porus, ein zweiter bei der Ausbildung einer Konidie durch Sprossung. 1800 : 1.



den Bäckereien das Brot infizieren und so zum Auftreten einer Form des Brotschimmels führen. Die hier beschriebene Art wurde von feuchten Backoblaten isoliert.

Alternaria tenuis ist von der Morphologie der Kultur her ein typischer Vertreter der Schimmelpilze. Das Oberflächenmycel ist bei 20° C Wachstumstemperatur, kultiviert auf einem Glucose-Pepton-Agar, locker ausgebildet und oliv bis braun gefärbt. Die Sporen, es handelt sich um Konidien, werden in großen Mengen produziert und sind in kurzen oder langen Ketten auf spezialisierten Hyphen, den Konidenträgern (Conidiophoren), angeordnet (Bild 1).

Als Makrokonidien sind sie groß und durch longitudinale [2], transversale [3] und diagonale Septen in zahlreiche Zellen unterteilt (Bild 2). Konidienträger und Makrokonidien sind oliv bis braun getönt und bedingen so die Farbe des Oberflächenmycels. Die Konidien entstehen nicht als einfache Abschnürungen an einer Hyphe. Das sporenbildende plasmatische Material schiebt sich wie eine Wandausblähung der sporenbildenden Zelle durch eine porenartige Öffnung (Bild 3). Die so entstandene Konidie wird ihrerseits zu einer Sporenmutterzelle und bildet eine weitere Konidie (Bild 4), die den Vorgang wiederholen kann.

So entsteht als Folge von nacheinander ablaufenden Zellsprossungen eine akropetal [4] angelegte Kette von Makrokonidien. Den Ort der Sporenbildung, die Pore, kann man an den Konidienträgern (Bilder 3 und 5) und Konidien nach Abtrennung der Sporen erkennen.

Sexuelle Stadien der Fortpflanzung konnten bei *Alternaria* noch nicht beobachtet werden. Aus diesem Grund wird die Gattung den „unvollkommenen Pilzen" (Fungi imperfecti) zugeordnet, die alle jene Vertreter der Pilze umfassen, die sich, soweit man feststellen konnte, ausschließlich asexuell durch Sporen fortpflanzen. Zu den Fungi imperfecti rechnet man 30% aller bekannten Pilze. Sie sind „unvollkommen" im Hinblick auf ihre Entwicklung, bei der im Gegensatz zu der von „vollkommenen" Pilzen keine Hauptfruchtform ausgebildet wird. Von manchen Arten ist anzunehmen, daß noch nie eine Hauptfruchtform aufgetreten ist. Die Abteilungen oder Zellen des Mycels der Fungi imperfecti sind vielkernig, allerdings sind die Querwände für die Zellkerne durchlässig.

Eine Art „Ersatzsexualität", Parasexualität genannt, tritt bei manchen dieser Pilze auf, die ähnliche Vorteile wie die Sexualität bietet. Bei *Alternaria tenuis* verbinden sich verschiedene Mycelien über Anastomosen [5] somatischer Hyphen (Bilder 6 und 7) und bilden Segmente, die Kerne verschiedener Herkunft beinhalten. Diese Anastomosen erinnern an die Kopulationsbrücken zwischen *Spirogyra*-Fäden, zumal sie oft zu mehreren zwischen zwei benachbarten Hyphen auftreten (Bild 7). Die in einem Segment vereinigten Kerne können sich mitotisch vermehren, ohne daß Kernverschmelzungen und nachfolgende Reduktionsteilungen auftreten. „Es erfolgt also eine Vereinigung und Reduktion von Information, die nicht den Gesetzen der Meiosis unterliegt" (Bresch u. Hausmann 1972). Man nennt das Mycel mit genetisch unterschiedlichen Kernen Heterokaryon und die entsprechenden Hyphen heterokaryontische Hyphen. Die Makrokonidien keimen mit Hyphen, die jeweils verschiedenen Kammern entstammen und die folglich einen genetisch recht unterschiedlichen Bestand an Zellkernen enthalten können. Aus einer Konidie gehen also Mycelien mit unterschiedlicher genetischer Potenz hervor.

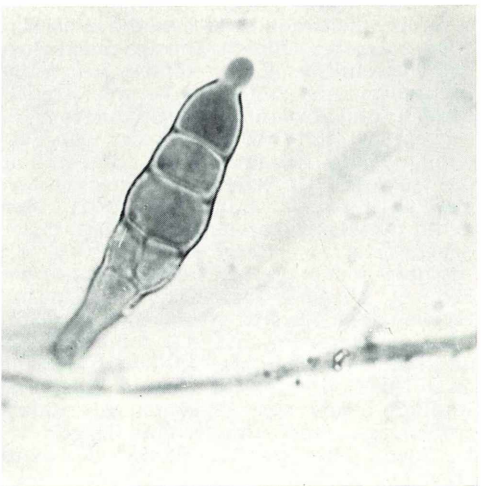
Da für die Pilzsystematik Stadien der sexuellen Fortpflanzung maßgebend sind, müs-

sen für die Einordnung der Fungi imperfecti andere Kriterien gewählt werden. Die bis heute gültige Einteilung nach Saccardo (vgl. Alexopoulos 1966 und Funder 1968) dient ausschließlich praktischen Gesichtspunkten und berücksichtigt keine Verwandtschaftsverhältnisse. Da für die Systematik hauptsächlich Konidienmerkmale herangezogen weden, beinhalten die jeweiligen Kategorien morphologisch ähnliche Formen. Man wählte dementsprechend die Begriffe Formklasse, Formordnung, Formfamilie, Formgattung, Sektion (Gruppe von Formgattungen) und Formart. Hierarchisch geordnete Merkmale von Konidien und Konidienträger stellen den Schlüssel für die Gattung *Alternaria* dar:
Ausschließlich ungeschlechtliche Fortpflanzung durch Konidien (Fungi imperfecti); spezialisierte Hyphen als Konidienträger (Moniliales); bräunliche Färbung von Konidien und Konidienträgern (Dematiaceae); netzförmig unterteilte Makrokonidien (Sektion Phaeodictyae); kettenförmige Anordnung der Konidien *(Alternaria).* Eine neuere Systematik basiert auf dem Entstehungsmodus der Sporen (vgl. v. Arx 1968).
Das Temperaturoptimum für das Wachstum von *Alternaria tenuis* liegt bei etwa 29° C (vgl. Bild 8). Der Pilz gibt in das besiedelte Substrat Amylase ab.

2. Gesichtspunkte für eine Behandlung der Schimmelpilze im Biologieunterricht

Die große Bedeutung der Schimmelpilze, auf die oben hingewiesen wurde, berechtigt zur Berücksichtigung dieses Themas im Biologieunterricht der Sekundarstufe I. Aspekte der Welternährung, Gesundheitserziehung sowie Umweltprobleme müssen dabei angesprochen werden. Neben diesen gesellschaftspolitisch relevanten Gesichtspunkten sprechen auch fachwissenschaftliche Aspekte für eine unterrichtliche Behandlung. Das Thema bietet die Möglichkeit, an einem durchschaubaren Sachverhalt in die Arbeitsweisen der Biologie einzuführen, wobei das Experiment eine besondere Rolle spielen sollte. Wie bei vielen Sachverhalten der Mikrobiologie ist auch bei diesem Thema mit dem Interesse der Schüler zu rechnen. Fels (1970) strebt das Lernziel an, die Schüler in das methodische Gefüge der Naturwissenschaften einzuüben, wobei er das exemplarische Lernen betont. Ein Erkenntnisgewinn sei dann zu erwarten, wenn physikalische und chemische Maßgrößen auf biologische Abläufe angewandt würden. Die unten angeführten Versuche werden diesen Forderungen gerecht. Das Thema eignet sich für eine exemplarische Behandlung, weil es u. a. eine „innerfachliche Integration" (IPN 1974) fördert: Probleme, Phänomene, morphologische und physiologische Aspekte können integriert behandelt werden.
Die unten dargestellten Untersuchungen wurden zwar an *Alternaria tenuis* durchgeführt, können aber auch in ähnlicher Weise an anderen Schimmelpilzen vorgenommen werden.
Folgende fachwissenschaftliche Sachverhalte können Gegenstand der unterrichtlichen Behandlung sein: Aufbau des Pilzmycels; Sporenbildung; ungeschlechtliche Fortpflanzung; Abhängigkeit des Pilzwachstums von äußeren Faktoren wie Nährstoffangebot, relative Luftfeuchte und Temperatur; saprophytische Ernährung; enzymatischer Abbau von Nährstoffen.

Bild 4: Die Zelle einer Makrospore in Funktion als Sporenmutterzelle. Lactophenolblau-Färbung. 1000 : 1.



3. Untersuchungen zur Morphologie und Physiologie von Alternaria tenuis

3.1. Morphologische Untersuchungen

Die Anordnung der sporenbildenden Strukturen und der Sporen wurde unmittelbar an einer Plattenkultur untersucht, indem das Mycel aus der hellen Randzone der Kolonie mit einem kleinen Objektiv (4×) betrachtet wurde. So wurde erkennbar, daß Ernährungsbedingungen und Temperatur in hohem Maße die Ausbildung der Sporen bedingen. Während auf einem Glucose-Pepton-Agar [6] bei 20° C die Makrokonidien an den Trägern einzeln auftraten, zeigten sich bei gleichen Temperaturbedingungen auf einem Stärke-Pepton-Agar [6] lange Ketten von Konidien (Bild 1).
Die Anordnung der Sporen läßt sich für eine mikroskopische Betrachtung „konservieren", indem man einen durchsichtigen Klebestreifen auf den Teil der Kolonie preßt, den man untersuchen möchte und

Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

den Streifen dann auf einen Objektträger klebt, auf den man zuvor einen kleinen Wassertropfen gebracht hat (vgl. Birkenbeil 1973).
Zur Untersuchung der Anastomosen wurde das Mycelmaterial mit einer Pinzette dem Kolonierand entnommen und nach Zerzupfen der Probe in einem Tropfen Wasser oder Lactophenolblau im Mikroskop betrachtet. Der Vorgang der Sporenbildung konnte nur an jungem Oberflächenmycel untersucht werden, das der weißen Randzone einer Kolonie entstammte.

3.2. Physiologische Untersuchungen

3.2.1. *Abhängigkeit der Wachstumsgeschwindigkeit von der Temperatur*

Material: Petrischalen mit je 30 ml Glucose-Pepton-Agar, Brutschrank, Impföse, Brenner, Lineal, Filzschreiber, Stammkultur von *A. tenuis*, die bei 20° C herangezogen wurde.
Methode: Von einer Schrägagarkultur wurden die Sporen mit etwa 3 ml steriler 0,9-%iger NaCl-Lösung abgeschwemmt. Mit einer Impföse wurde ein Tropfen der Sporensuspension in die Mitte einer Agarplatte übertragen. Die beimpften Platten wurden bei Zimmertemperatur im Dunkeln bebrütet. Nach 48 Stunden wurde mit einem Lineal der Koloniedurchmesser ermittelt, nachdem die für die Messung ausgewählte Stelle auf der Unterseite der Platte mit einem Strich markiert worden war. Beim Messen des Koloniedurchmessers wurden die Platten von der Unterseite her gegen das Licht betrachtet. Die Markierung ermöglichte es, daß immer dieselbe Stelle der Kolonie berücksichtigt werden konnte. Zur Ermittlung der Wachstumsraten bei verschiedenen Temperaturen wurden jeweils die Werte von drei Kulturen herangezogen, die nach Erreichen eines Koloniedurchmessers von etwa 16 mm 24 Stunden lang der jeweiligen Versuchstemperatur ausgesetzt waren. Mit je drei Kulturen wurden Untersuchungen bei zwei verschiedenen Temperaturstufen durchgeführt. Zur Erreichung von 15,5° C wurden die entsprechenden Kulturen in einem Kellerraum aufbewahrt.
Die Ergebnisse der Messungen ließen sich in einer Wachstumskurve (Bild 8) darstellen, in der die Temperaturabhängigkeit des Wachstums sowie die Lage des Temperaturoptimums und -maximums gut zum Ausdruck kommen. Die Wachstumskurve steigt allmählich an, um dann über dem Optimum recht unvermittelt abzufallen.
Dieses plötzliche Absinken der Wachstumsraten ist auf die zunehmende Inaktivierung wichtiger Enzyme zurückzuführen, aus deren Tätigkeit ja das Wachstum resultiert.

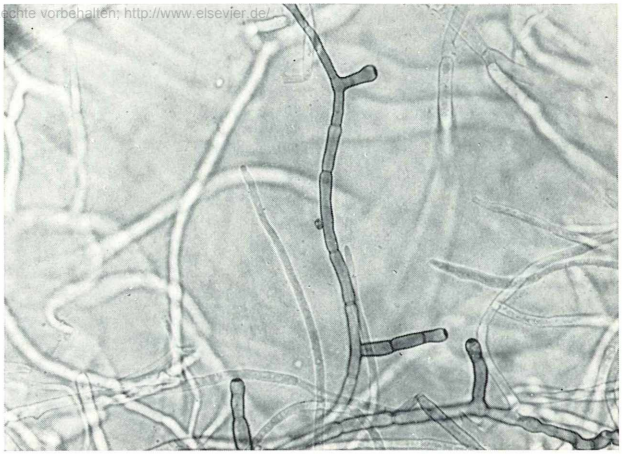


Bild 5: Konidienträger mit apikalen Poren. Gegenüber den vegetativen Hyphen sind die Conidiophoren dunkler getönt. 400 : 1.

3.2.2. *Abhängigkeit des Wachstums von der relativen Luftfeuchtigkeit*

Material: 8 sterile Petrischalen, Pipette, Impföse, Glasstab, noch flüssiger steriler Glucose-Pepton-Agar, Backoblaten, je 100 ml 0%-, 8%-, 16%-, 23%ige NaCl-Lösung, Schrägagarkultur von *A. tenuis*.
Methode: In Abwandlung des von Dittrich (1973) beschriebenen Versuchs wurden in je zwei von insgesamt acht Petrischalen je 40 ml einer der angeführten NaCl-Lösungen gegeben. Die nun in der jeweiligen Schale enthaltene NaCl-Lösung bestimmte den Wert für die hier herrschende relative Luftfeuchtigkeit. Die Zusammenhänge zeigt die folgende Tabelle:

Konzentration der NaCl-Lösung	rel. Luftfeuchtigkeit
0%	100%
8%	95%
16%	90%
23%	85%

Auf die Innenseite der Schalendeckel von vier Petrischalen, die jeweils eine der vier angegebenen Konzentrationen enthielten, wurden je zwei Tropfen Nähragar gegeben und diese nach dem Erstarren mit *Alternaria* beimpft. In ähnlicher Weise wurden auf die Deckel von weiteren vier Petrischalen zwei Wassertropfen plaziert. Ein kleines Stück einer Backoblate (ca. 3 cm^2 groß) wurde in jeder der Schalen auf das Wasser gelegt, dem Deckel angepreßt und beimpft. Alle Schalen wurden 48 Stunden lang bei Zimmertemperatur (20,5° C) aufbewahrt und dann untersucht.
Die Ausbildungsgrade des Mycels sollen mit Hilfe von Kreuzen dargestellt wer-

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



Bild 7: Leiterförmig angelegte Anastomosen zwischen zwei Hyphen. 900 : 1.

den, wobei dem üppigsten Wachstum vier Zeichen zugeordnet werden.

rel. Feuchte in %	Mycel auf Nähragar	Mycel auf Oblaten
100	++	+++
95	++++	+++
90	+++	–
85	+	–

Es besteht ein deutlicher Zusammenhang zwischen der relativen Luftfeuchtigkeit und dem Mycelwachstum. Die Unterschiede zwischen den beiden Versuchsansätzen können darauf zurückzuführen sein, daß auf dem Nähragar eine günstigere Wasserversorgung als auf den Backoblaten gegeben war. Ungeachtet dieser Unterschiede können beide Versuche deutlich machen, daß das Pilzwachstum an eine hohe Luftfeuchtigkeit gebunden ist.

3.2.3. *Nachweis der Stärkespaltung*

Material: 1 Petrischale mit 30 ml Stärke-Pepton-Agar, Brenner, Impföse, kleiner Metallspatel, Jodjodkalium-Lösung, Schrägagarkultur von *A. tenuis*.
Methode: In der Mitte der Platte wurde ein Tropfen Sporensuspension aufgetragen. Nach 48stündiger Bebrütung bei 20,5° C wurde der Nährboden im Umkreis der entstandenen Pilzkolonie mit Jodjodkalium-Lösung überschichtet. Um auch den unter der Kolonie liegenden Teil des Substrats zu erfassen, wurde der Nährboden mit Hilfe des Spatels als Ganzes so aus dem Boden der Schale herausgelöst, daß er mit der Pilzkolonie nach unten auf den Schalendeckel zu liegen kam und nun auch die Gegenseite der Kultur mit Jodjodkalium behandelt werden konnte.
Auf der Oberfläche des Nährbodens konnte keine Stärkespaltung nachgewiesen werden. Nach Wenden des Substrats und nachfolgender Überschichtung zeigte der Teil des Nährmediums, der von dem Pilzmycel überwachsen worden war, keine Blaufärbung. In diesem Bereich war also eine Spaltung der Stärke festzustellen. Das dafür verantwortliche Enzym, eine Amylase, konnte offensichtlich nicht über den Kulturbereich hinaus diffundieren, da das Pilzwachstum der Diffusion „davoneilte".

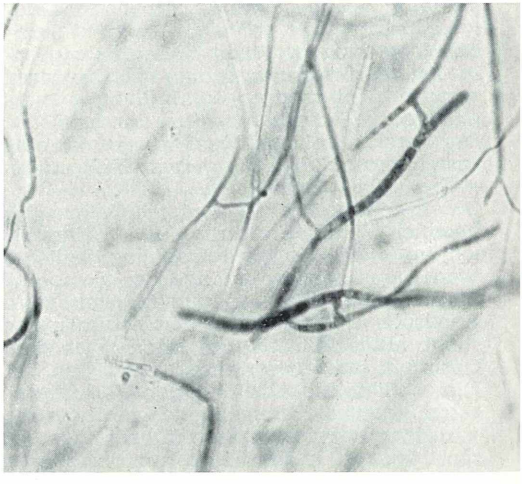
4. Schluß

Die an *Alternaria tenuis* durchgeführten Versuche lassen sich auch mit anderen Schimmelpilzen durchführen, die von Brot isoliert wurden und bei denen daher eine Amylasebildung wahrscheinlich ist. Die Schüler selbst können durch Exponieren feuchter Oblaten solche Formen isolieren und untersuchen. Ein großer Teil der Untersuchungsergebnisse gestattet Aussagen über die äußeren Bedingungen, die zum Verderb von Lebensmitteln führen und kann so unter dem Gesichtspunkt der angewandten Biologie eine Vertiefung und Ausweitung erfahren.

Literaturhinweise:

1. *Alexopoulos, C. J.:* Einführung in die Mycologie. Stuttgart 1966.
2. *v. Arx, J. A.:* Pilzkunde. Lehre 1968.
3. *Bilai, V. I.:* Antibiotic-producing Microscopic Fungi. Amsterdam, London, New York 1963.
4. *Birkenbeil, H.:* Zur mikroskopischen Untersuchung von Algen und Pilzen im Biologie-

Bild 6: Anastomosen zwischen Hyphen von *A. tenuis*. Lactophenolblau-Färbung. 380 : 1.



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

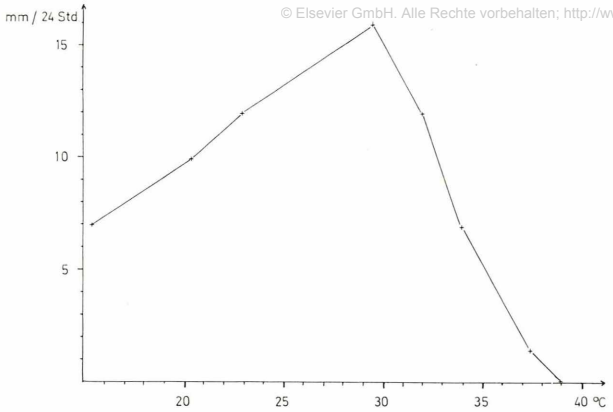


Bild 8: Wachstumskurve von *A. tenuis* im Temperaturbereich 15,5° C. Folgende Wertepaare, angegeben in ° C/mm, wurden bei Erstellung des Diagramms verwendet: 15,5/7, 20,5/10, 24/12, 29,5/16, 32/12, 34/7, 37,5/2, 39/0.

unterricht. Naturwissenschaften im Unterricht **21**, 499, 1973.
5. *Bresch, C.* und *R. Hausmann:* Klassische und molekulare Genetik. Berlin, Heidelberg, New York 1972.
6. *Dietle, H.:* Das Mikroskop in der Schule. Stuttgart 1974.
7. *Dittrich, H. H.:* Bakterien, Hefen, Schimmelpilze. Stuttgart 1973, 4. Aufl.
8. *Fels, G.:* Exemplarisches Lehren an quantifizierbaren Gegenständen der Biologie. Der Biologieunterricht Heft 1/1970, 4—16.
9. *Funder, S.:* Practical Mycology. New York 1968.
10. IPN-Einheitenbank: Nahrungsmittel und Verdauung. Köln 1974.
11. *Müller, G.:* Mikrobiologie pflanzlicher Lebensmittel. Leipzig 1974.
12. *Reiß, J.:* Mycotoxine, Giftstoffe von Kleinpilzen. Biologie in unserer Zeit **6**, 169—174, 1976.
13. *Sistrom, W. R.:* Die Mikroorganismen. München 1966.

Erläuterungen:

[1] nach Müller (1974) liegt die Keimzahl im Mehl bei 20 000 bis 5 000 000 (Bakterien und Pilze) pro Gramm.
[2] longitudinal: längs gerichtet.
[3] transversal: querverlaufend.
[4] akropetal: aufwärts, nach oben gerichtet.
[5] Anastomosen: Verbindungsstücke, hier zwischen zwei Hyphen.
[6] Glucose-Pepton-Agar: 40 g Glucose, 10 g Pepton aus Fleisch, 18 g Agar, 1000 ml Aqua dest. Stärle-Pepton-Agar: statt 40 g Glucose 20 g lösliche Stärke.

Verfasser: Dr. Helmut Birkenbeil, Bismarckstraße 19, 7500 Karlsruhe.

Kleine Mitteilungen

Eine Bodian-Methode für aufgeklebte Gefrierschnitte

Von Bodian wurde in den 30er Jahren dieses Jahrhunderts ein einfaches und zuverlässiges Silberimprägnationsverfahren mit Protargol oder Silberalbumose für aufgeklebte Paraffinschnitte entwickelt, das gegenüber früheren Silbermethoden den Vorteil hatte, daß man damit ganze Serien von Schnitten gleichzeitig und in gleicher Weise imprägnieren konnte und nicht umständlich jeden Schnitt einzeln von einer Lösung in die andere übertragen mußte. Manchmal ist es jedoch notwendig, bei einem Objekt einerseits Methoden für Gefrierschnitte anzuwenden und andererseits einzelne Schnitte zuverlässig mit Silber zu imprägnieren, was mit aufgeklebten Schnitten leichter geht. Das hier geschilderte Verfahren wurde für 10 µm dicke, zum Teil erst nach dem Schneiden fixierte, aufgeklebte Gefrierschnitte von Gehirn, Rückenmark, peripheren Nerven und Nervenverzweigungen in der Muskulatur entwickelt. Untersuchungsmaterial war einerseits Gewebe aus dem Zentralnervensystem von Meerschweinchen, die mit 10%igem Formol perfundiert worden waren, wobei das Nervengewebe nach dem Herauspräparieren sofort in ein Gemisch aus 18 Teilen 80%igen Äthanols, einem Teil Formol und einem Teil Eisessig nachfixiert wurde. Nach zweimonatigem Fixieren wurden die Gewebeblöckchen vor dem Schneiden über Nacht in 30%ige Saccharose-Lösung gelegt und dann im Kryostaten mit „Cryokwik Freon Spray" (International Equipment Company) festgefroren. Andererseits wurden periphere Nerven und Muskeln von menschlichem Biopsiematerial (Wadenbein) in 2-Methylbutan (= Isopentan), das mit flüssigem Stickstoff gekühlt wurde, eingefroren, dann direkt, ohne vorherige Fixierung in flüssigen Stickstoff übertragen und schließlich im Kryostaten festgefroren. Von jedem Material wurden 10 µm dicke Schnitte angefertigt und auf Objektträgern oder Deckgläsern aufgeklebt. Neben unfixierten, aufgeklebten Gefrierschnitten wurden auch Gefrierschnitte, die einen bis zu sieben Tagen mit dem obenerwähnten Äthanol-Formol-Eisessig-Gemisch nachfixiert worden waren, mit Silber imprägniert. Für die Silberfärbung wurden mit Säure gereinigte Glasgeräte und jeweils ganz frisch bereitete Lösungen verwendet. Zur Herstellung der Protargollösung wird 1 g Silberprotein (Chroma Ges., Stuttgart) auf der Oberfläche von 100 ml 37° C warmem H_2O dest., das sich in einem weiten Becherglas befindet, ausgestreut; nach völligem Auflösen des Pulvers wird die Lösung in ein Färbegefäß gegossen, in dem sich 5 g sauberer Kupferschrot (nach Reinigung mit Königswasser immer wieder zu verwenden) befinden. Die Objektträger werden für 72 Stunden bei 37° C in diese Lösung gestellt,

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

dann mit H_2O dest. 3mal gewaschen und 10 min mit der Reduktionslösung (bestehend aus 1 g Hydrochinon, 5 ml Formalin, 100 ml H_2O dest.) behandelt. Nach 3maligem Spülen mit H_2O dest. werden die Schnitte 10 min mit 1%iger wäßriger Goldchloridlösung getont (die Goldchloridlösung kann mehrfach verwendet werden), wieder 3mal mit H_2O dest. gespült und 30 min mit 2%iger wäßriger Oxalsäurelösung entwickelt, wodurch die Nervenfasern in den Schnitten klarer hervortreten. Die Objektträger mit den Schnitten können in dieser Lösung so lange verbleiben, bis sich keine weiteren Farbveränderungen mehr zeigen. Nach 3maligem Spülen mit H_2O dest. wird mit 5%igem wäßrigem Natriumthiosulfat fixiert. Nach diesem Schritt kann eine Gegenfärbung mit Anilinblau oder Lissaminechtrot zur Hervorhebung des Sarkoplasmas und der Zellkerne bei Muskelgewebe angeschlossen werden. Nach Spülen mit H_2O dest., Entwässerung über 95%igen und absoluten Alkohol und Aufhellung in Xylol (jede Stufe 2mal!) kann mit einem der üblichen Kunstharze eingedeckt werden. Ergebnis: Optimale Resultate werden bei einer 4tägigen Nachfixierung in Äthanol-Formol-Eisessig erzielt. Muskelspindeln, Axone mit und ohne Markscheiden werden klar dargestellt, ebenso in der Kleinhirnrinde zahlreiche parallele Fasern in der Molekularschicht, reiche Verzweigung von Korbzellaxonen in der Purkinjezellschicht und dichte Fasergeflechte in der Körnerzellschicht, in der Großhirnrinde gelegentlich auch Dendriten.

Herr, B. E., Coleman, P. D., and R. C. Griggs: A Bodian method for mounted frozen sections. Stain Technol. **51**, 261—265 (1976).

Alexander Pareto

MIKROKOSMOS

Zeitschrift für angewandte Mikroskopie, Mikrobiologie, Mikrochemie und mikroskopische Technik

Organ der Deutschen Mikrobiologischen Gesellschaft Stuttgart, der Mikrobiologischen Vereinigung Hamburg, der Mikrobiologischen Arbeitsgemeinschaft Mannheim, der Mikrobiologischen Vereinigung München, der Mikrographischen Gesellschaft Wien, der Mikroskopischen Gesellschaft Zürich.

Inhalt

Schneider, Prof. Dr. H.: Massenauftreten des Flagellaten Colacium vesiculosum in einem Stadtparkweiher 229

Jentzen, A.: Aufgaben einer Mikrobiologischen Vereinigung. Beispiel: Die Mikrobiologische Vereinigung Hamburg 232

Göke, G.: Polarisationsmikroskopie in der Biologie. 1. Einführung und qualitative Beobachtungen 233

Richter, W.: Gibt es pflanzliche Flagellaten mit drei Geißeln? Zur Funktion und Struktur des Haptonemas 239

Pflugfelder, Prof. Dr. O.: Phaosomaugen 246

Winke fürs Labor

Metze, G., und E. **Saake:** Ein Photomikroskop für die Phototasche 249

Biologie in der Schule

Birkenbeil, Dr. H.: Schimmelpilze im Unterricht. Morphologie und Physiologie von Alternaria tenuis 254

Kleine Mitteilungen 253, 259

Bekanntmachungen . . . . . 3. Umschlagseite

Umschlagbild: Wipfeltrieb der Fichte, quer. Aufnahme Manfred P. Kage, Präparat Charles Künzi. Die hier angewandte Färbung wird Herr Künzi in einem der nächsten Hefte beschreiben.

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

E 20877 E

MIKROKOSMOS

66. Jahrgang · Heft 9/September 1977

Eine Zeitschrift aus dem Kosmos-Verlag

ISSN 0026-3680 66. 1977, Nr. 9, S. 261–292

Randpartie eines Moosblättchens



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

Gelegenheiten 1977

Mikroskope, Bauteile, Objektive und Okulare (Vorführgeräte, Ausstellungsstücke, Werksmuster) zu reduzierten Preisen. Besonders interessant für Besitzer von MEOPTA- und PZO-Mikroskopen. Fordern Sie unverbindlich die Liste „Gelegenheiten 1977" an.

R. Göke · Bahnhofstraße 27 · D-5800 Hagen 1
Telefon (0 23 31) 3 17 54

Mikroskope · Zubehör · Bücher

Bitte neuen, ausführlichen
Katalog N 25.00 anfordern!

Kosmos-Service · Postfach 640 · 7000 Stuttgart 1

MIKROKOSMOS

Zeitschrift für angewandte
Mikroskopie, Mikrobiologie, Mikrochemie und mikroskopische Technik

Organ der Deutschen Mikrobiologischen Gesellschaft Stuttgart, der Mikrobiologischen Vereinigung Hamburg, der Mikrobiologischen Arbeitsgemeinschaft Mannheim, der Mikrobiologischen Vereinigung München, der Mikrographischen Gesellschaft Wien, der Mikroskopischen Gesellschaft Zürich.

Inhalt

Bode, Dr. F., L. **Horstmann,** G. **Wangorsch:** Mikrofotografie mit Lichtleiteroptik und Elektronenblitz 261

Göke, G.: Polarisationsmikroskopie in der Biologie. 2. Quantitative Untersuchungen 263

Buxbaum, Dr. F.: Kakteensamen unter Lupe und Mikroskop 268

Reiß, Dr. J.: Verschimmeltes Brot im licht- und elektronenmikroskopischen Bild . . 274

Unser Umschlagbild

Drews, R.: Randpartie eines Moosblättchens im Farb-Differential-Interferenzkontrast 281

Zur Einführung in die Mikroskopie

Rietschel, Prof. Dr. P.: Fundgrube Feinschill. I. Einführung 282

Winke fürs Labor

Reinert, G. G.: Der Objektrotator. Ein neuer Objekthalter zur allseitigen Betrachtung kleiner Gegenstände 284

Biologie in der Schule

Kaufmann, M.: Vegetative und sexuelle Fortpflanzung beim Pantoffeltier Paramecium caudatum 286

Bücherschau 290

Kleine Mitteilungen. 291

Bekanntmachungen. 292

Umschlagbild: Rand eines Moosblättchens im polarisierten Licht (Differential-Interferenzkontrast) unter Verwendung einer λ-Platte. Je nach der Orientierung leuchten die Zelluloseschichten der Zellwände rot bzw. weiß auf. An einigen Stellen ist die Mittellamelle erkennbar (besonders in den Wänden der langgestreckten Randzellen). Die Chloroplasten heben sich im DIK-Verfahren gut hervor. Aufnahme: R. Drews. S. auch S. 281

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

F. Bode,
L. Horstmann,
G. Wangorsch

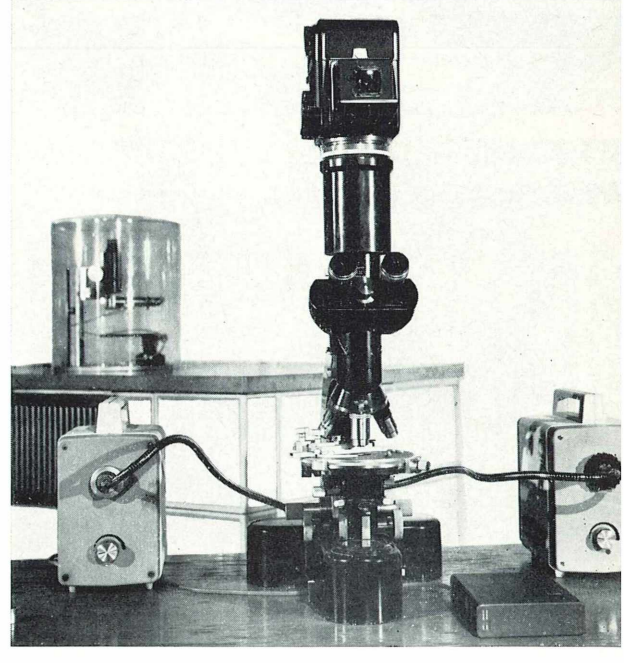
Mikrofotografie mit Lichtleiteroptik und Elektronenblitz

Die Verwendung von Lichtleiteroptik, früher aus Glas, ist seit Ende des vorigen Jahrhunderts bekannt. Eine gute Darstellung findet man bei Hoc (1). Im Institut für kinematische Zellforschung (Prof. Kuhl) in Frankfurt wurde mit Erfolg damit gearbeitet, und im Mikrokosmos zeigt Neubert eine interessante Anwendung (2).
Der Hauptvorteil der Einrichtung besteht in der Möglichkeit, relativ große Leuchtdichte raumsparend und ohne störende Erwärmung an die Objekte heranzubringen. Dies ist besonders in der Auflichtbeleuchtung wichtig, wenn mit Polfiltern gearbeitet werden muß, die sehr wärmeempfindlich sind. Eine weitere wichtige Möglichkeit ist die unkomplizierte Möglichkeit, Lichtleiteroptik in der Mikrofotografie mit Elektronenblitz zu benutzen, wobei der Lichtleiter eine Pilotlichtquelle, mit der man in den Blitzpausen beobachtet, nahe an das Blitzrohr heranbringt, ohne dieses unnötig zu erwärmen.
Durch Regeln der Lichtquelle, die in Verbindung mit Faseroptik benutzt wird, kann man einerseits sehr geringes Beobachtungslicht einstellen (Objektschonung) oder aber z. B. in der Großformatmikrofotografie oder im Auflicht die große Helligkeit der Halogenlampen als Einstellicht verwenden. Bild 2 zeigt den Strahlengang.

Der Selbstbau

Wer mechanisches Geschick in Verbindung mit Erfahrung im Umgang mit Elektrizität besitzt (hohe Spanung beim Elektronenblitz!) kann sich ohne weiteres an den Selbstbau wagen. Die Schaltung und Anordnung des Elektronenblitzes haben wir bereits berichtet (3, 4, 5). Als Kollektorlinse eignet sich eine asphärische Linse von Schott (KL 1515 B) oder der Kondensor des Kosmos-Mikroskops. Faseroptik, Durchmesser ca. 4 mm, wird von mehreren Herstellern angeboten, z. B. von der Fa. Schott. Grundsätzlich entwirft man ein Bild der Lichtquelle im Lichtleitereingang. Will man optimale Verhältnisse haben, benutzt man eine der üblichen verspiegelten Halogen-Projektionslampen (50—150 W). Der Hohlspiegel dieser Lichtquelle entwirft ein Bild des Leuchtwendels, das von einer einfachen, kurzbrennweitigen Linse zur Größe des Lichtleitereinganges korrigiert wird (Bild 2). Zwischen Projektionslampe und Linse, die locker gefaßt sein muß, ordnet man ein Wärmeschutzfilter an (Schott KL 1502 B).
Eine fertige Einrichtung kann man bei Schott beziehen (Kaltlichtquelle KL 150 B). Dies hat den Vorteil, daß man ein universelles Gerät hat, das für verschiedene

Bild 1: Einsatz des kombinierten Auflicht-Durchlicht-Mikroskops mit zwei „Kaltlichtquellen" in der Station Büschelbach, Spessart.



Aus den Außenlaboratorien Büschelbach und Moltedo

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

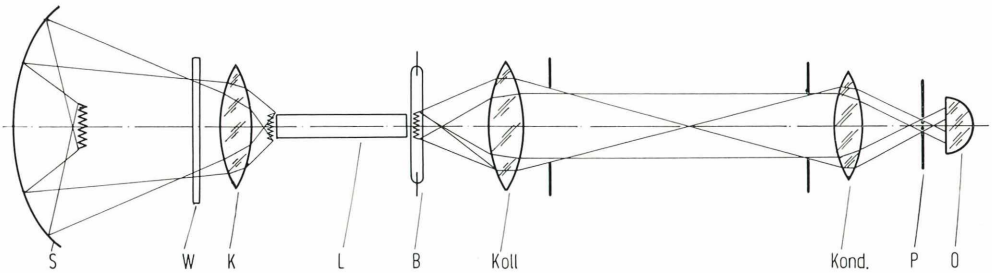
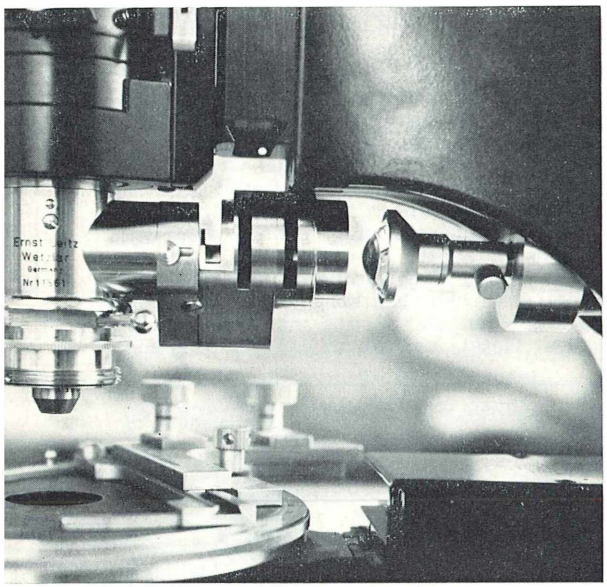
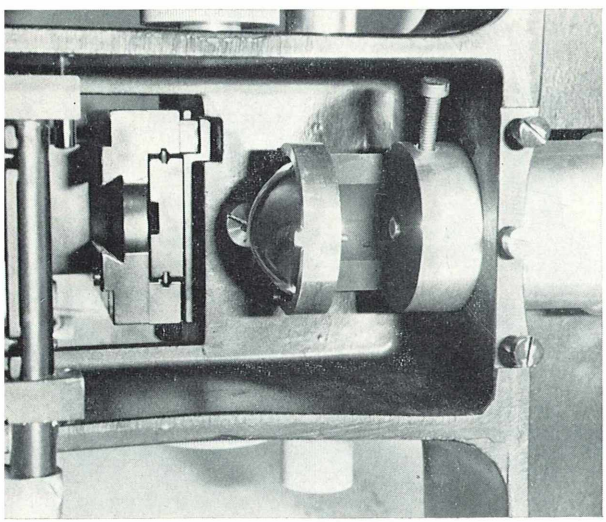


Bild 2: Strahlengang bei der Verwendung von Lichtleitern und Elektronenblitz. Das Köhlersche Prinzip ist im Interesse optimaler Abbildungsqualität voll berücksichtigt.





Zwecke der Mikro- und Makrofotografie Anwendung finden kann (6).

Besonders interessant ist der Einsatz von zwei solchen Geräten, ein Gerät für Durchlicht, das andere für Auflicht. Nun sind kombinierte Aufnahmen im Auflicht-Durchlicht möglich, wobei man die eine Lichtquelle fein gegen die andere abstimmen kann.

Bild 1 zeigt ein älteres Leitzmikroskop, das auf diese Weise umgebaut wurde. Die Anordnung der Auflichtbeleuchtung zeigt Bild 3 unter Benutzung der eingangs erwähnten Schott-Linse, womit man ein ungewohnt helles Auflichtbild gewinnt. Bild 4 läßt in den Mikroskopfuß blicken. Das Rohr, das den Lichtleiter fixiert, besitzt eine Aussparung, in die von unten die Blitzlampe eingeschoben werden kann. Diese ist zentrierbar auf einem kleinen Grundbett montiert, auf dem sich Zündtrafo und Spannungsteiler befinden, und das mit den sichtbaren Schrauben befestigt wird, so daß sich an der äußeren Form des Mikroskops trotz der universellen Möglichkeiten nichts ändert.

Man kann wohl voraussehen, daß die Mikroskopkonstrukteure in Zukunft mehr und mehr diese Möglichkeiten benutzen werden.

Literaturhinweise:

1. *Hoc, S.:* Selbstbau und Anwendung eines Mikroilluminators. Mikrokosmos **64**, 77—78, 1975.
2. *Neubert, P.:* Glasfiberoptik als Beleuchtungsinstrument bei Makro- und Mikroaufnahmen. Mikrokosmos **55**, 188—192, 1966.
3. *Bode, F.:* Elektronenblitz-Mikrofotografie. Entwicklung und gegenwärtiger Stand. Mikrokosmos **52**, 313—318, 1963.
4. *Bode, F.:* Neue optische Anordnungen an einem Exkursionsmikroskop mit automatischer Blitzlichtbelichtung (Computerblitz). Mikroskopie **26**, 347—353, 1970.
5. *Bode, F.:* Elektronenblitz-Mikrofotografie mit dem „Computerblitz". Mikrokosmos **61**, 277 bis 281, 1972.
6. Produktinformation Schott, Faseroptik. Hattenbergstr. 10, 6500 Mainz.

Anschrift des einen Verfassers: Dr. F. Bode, Leipziger Straße 46, 6000 Frankfurt 90.

Bild 3: Anordnung der Auflichtbeleuchtung (ohne Blitz).

Bild 4: Durchlichtanordnung. Man sieht in der Halterung für Lichtleiter und Linse den Austritt des Lichtleiters, vor den die Blitzlampe angeordnet wird. Der übrige Strahlengang im Leitzmikroskop ist unverändert.

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

Gerhard Göke

Polarisationsmikroskopie in der Biologie

2. Quantitative Untersuchungen

Unterscheidung optisch isotroper und anisotroper Objekte

Zwischen gekreuzten Polarisationsfiltern bleibt ein isotropes, durchsichtiges Objekt bei Drehung des Objekttisches um 360° in jeder Lage und bei jeder Schnittrichtung unsichtbar. Hingegen wird ein optisch anisotropes Objekt bei einer vollen Umdrehung des Objekttisches viermal hell und viermal dunkel (Auslöschstellungen). In den dazwischen liegenden Stellungen erscheint es mehr oder weniger aufgehellt. Optisch anisotrope Objekte verhalten sich jedoch ebenfalls isotrop, wenn sie in Richtung ihrer optischen Achse durchstrahlt werden.

Bestimmung des Vorzeichens der Doppelbrechung

Man unterscheidet das wahre Vorzeichen vom relativen Vorzeichen der Doppelbrechung. Das wahre Vorzeichen wird durch die Lage der Indikatrix zur optischen Achse des doppelbrechenden Körpers bestimmt. Ermittelt wird die Differenz zwischen den Brechzahlen für den ordentlichen (n_O) und außerordentlichen Strahl (n_A). Man spricht von *positiver Doppelbrechung*, wenn $n_A - n_O$ einen positiven Wert ergibt. Um *negative Doppelbrechung* handelt es sich, wenn $n_A - n_O$ einen negativen Wert liefert. Bei biologischen Objekten ist die Bestimmung der Lage der optischen Achse in der Regel schwierig. Deshalb verwendet man hier das relative Vorzeichen der Doppelbrechung, das sich im allgemeinen auf eine morphologisch ausgezeichnete Richtung bezieht. Bei Fasern wählt man die Faserlängsachse, bei Membranen die Flächennormale und bei kugeligen Körpern den Radius der Bezugsrichtung.

Methode I:

1. Genaue Durchführung des Köhlerschen Beleuchtungsverfahrens.

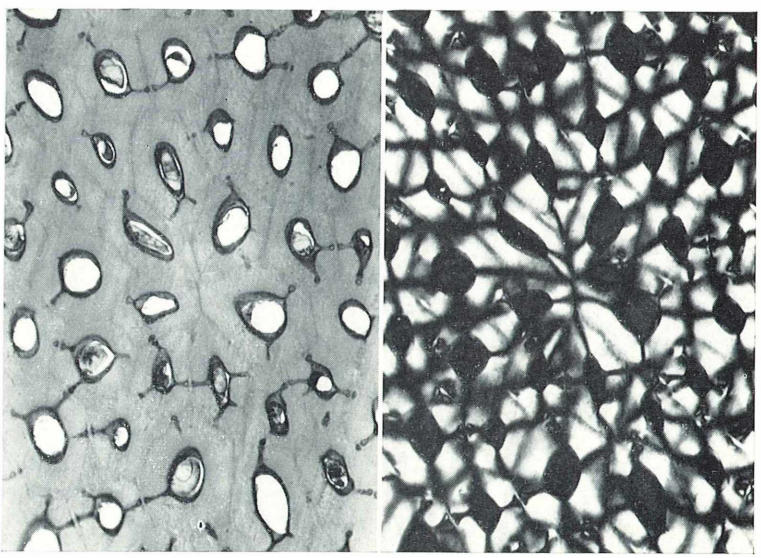


Bild 1: Steinnuß (Endocarp) quer. Links im gewöhnlichen, rechts im polarisierten Licht. Achromat 20×/0,40; Projektiv 8×.

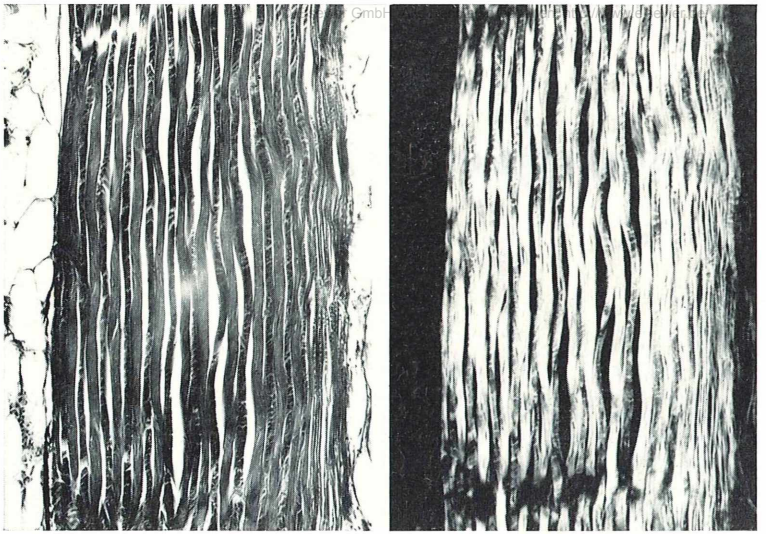


Bild 2: Proteinfasern in der Haut des Karpfens, dichroitisch gefärbt. Links im gewöhnlichen, rechts im polarisierten Licht. Achromat 20×/0,40; Projektiv 8×.

2. Abdunkeln des Raumes zur Adaption des Auges.
3. Kreuzung der Polarisatoren durch Drehen des Analysators bis zur maximalen Dunkelheit (ohne Präparat).
4. Gesichtsfeld durch Drehen des Analysators etwas aufhellen. Präparat auf den Objekttisch legen und scharf einstellen. Gewünschte Stelle in die Gesichtsfeldmitte bringen. Gesichtsfeld mit einem Wrightschen Okular (falls vorhanden) einengen. Durch Drehen des Analysators wieder maximale Dunkelheit des Umfeldes herbeiführen.
5. Objekt durch Drehen des Objekttisches in Normallage (=Auslöschstellung) bringen.
6. Objekttisch um genau 45° drehen. Das Objekt zeigt jetzt maximale Helligkeit.
7. Kompensator Rot I (Gips- oder Quarzplättchen) unter den Analysator einschieben und $n\gamma$ (auf dem Plättchen markiert) im Gesichtsfeld von links unten nach rechts oben orientieren (+45°). Das Umfeld erscheint purpurrot.

Ergebnis: Objekte mit einem Gangunterschied von 20 bis 200 nm nehmen eine mehr oder weniger intensive blaue bzw. gelbe Farbe an. Ist der Gangunterschied sehr gering, so tritt nur eine Farbverschiebung in Richtung Violett bzw. Orange auf.
Auswertung: Blaues Objekt (= Additionslage) bei positivem Vorzeichen der Doppelbrechung. Gelbes Objekt (= Subtraktionslage) bei negativem Vorzeichen der Doppelbrechung.

Methode II:

Anstelle des Rot-I-Plättchens wird das $\lambda/4$-Plättchen (Glimmer) eingesetzt. Das Gesichtsfeld erscheint nicht rot, sondern grau. Das zu prüfende Objekt ist jetzt entweder abgedunkelt (grau bis schwarz) oder erscheint heller als ohne $\lambda/4$-Plätchen.
Auswertung: Objekt aufgehellt (= Additionslage) bei positivem Vorzeichen der Doppelbrechung. Objekt abgedunkelt (= Subtraktionslage) bei negativem Vorzeichen der Doppelbrechung.
Es gibt noch empfindlichere Methoden, zum Beispiel mit Drehkompensatoren, die jedoch im Rahmen dieses Beitrages nicht beschrieben werden können.

Ursachen der optischen Anisotropie biologischer Objekte

Die charakteristischen Veränderungen, denen das Licht beim Durchdringen eines anisotropen Objektes unterworfen ist, werden von der submikroskopischen Struktur der Objekte verursacht. Hier kann nur auf die wesentlichen Bauprinzipien, die bei biologischen Objekten eine Rolle spielen, eingegangen werden.
Im submikroskopischen Bereich bestehen die biologischen Objekte aus einem System von Molekülen bzw. Makromolekülen, zwischen denen sich Lücken befinden, die mit anderen Substanzen gefüllt sind. So können zum Beispiel die Gefügelücken eines Systems von Polypeptiden, Polysacchariden oder Polynukleotiden, von Lipiden oder wäßrigen Lösungen ausgefüllt werden. Zum Verständnis dient die Wienersche Mischkörpertheorie, allerdings mit Einschränkungen, weil die Elemente des Mischkörpers zueinander echte Phasengrenzen besitzen müssen. Nach Wiener (1912) besteht ein Mischkörper aus einem System anisodiametrischer Elemente, deren Ab-

stände voneinander im Vergleich zur Lichtwellenlänge sehr klein und außerdem durch ein Medium von abweichender Brechzahl voneinander getrennt werden. Es spielt dabei keine Rolle, ob beide Anteile isotrop bzw. anisotrop sind oder der eine isotrop und der andere anisotrop ist. Selbst wenn beide Anteile isotrop sind, kann sich der Mischkörper anisotrop verhalten. Diese Art von Doppelbrechung, die auf der charakteristischen Bauweise des Mischkörpers beruht, bezeichnet man als *Formdoppelbrechung.*

Wiener unterscheidet zwei Typen von Mischkörpern:

1. den *Schichtenmischkörper*, der aus parallel liegenden Platten von unterschiedlicher Brechzahl besteht. Die optische Achse verläuft parallel zur Flächennormalen. Er verhält sich wie ein optisch einachsiger, *negativ* doppelbrechender Körper.
2. den *Zylindermischkörper*, der aus parallel liegenden Zylindern besteht, die durch ein Medium abweichender Brechzahl getrennt sind. Die optische Achse verläuft parallel zur Zylinderlängsachse. Er verhält sich wie ein optisch einachsiger, *positiv* doppelbrechender Körper.

Eigendoppelbrechung liegt in einem Mischkörper dann vor, wenn das Gefüge selbst Doppelbrechung zeigt. Sie ist als charakteristische Materialkonstante aufzufassen und wird durch die kristalline Konfiguration eines im Mischkörper vorkommenden Strukturelementes hervorgerufen.

Die *Gesamtdoppelbrechung* eines Mischkörpers setzt sich aus seiner Eigendoppelbrechung und der Formdoppelbrechung zusammen.

Ob ein Objekt Formdoppelbrechung, Eigendoppelbrechung oder Formdoppelbrechung und Eigendoppelbrechung (= Gesamtdoppelbrechung) aufweist, kann mit Hilfe des von Ambronn beschriebenen Imbibitionsverfahrens festgestellt werden. Man durchtränkt das Präparat mit unterschiedlichen Flüssigkeiten, deren Brechzahlen bekannt sind. Die Gefügelücken werden vom Imbibitionsmedium ausgefüllt. Bei kontinuierlicher Änderung der Brechzahl erreicht man den Punkt, für den die Brechzahl des Imbibitionsmediums der Brechzahl des Gefüges entspricht. Es ist dann keine Formdoppelbrechung mehr feststellbar. Zeigt das Gefüge jedoch Eigendoppelbrechung, so verschwindet die Formdoppelbrechung, wenn die Brechzahl des Imbibitionsmediums dem Mittelwert aus beiden Brechzahlen des doppelbrechenden Gefüges entspricht. Haben Form- und Eigendoppelbrechung gleiches Vorzeichen, dann bleibt das Vorzeichen der Gesamtdoppelbrechung beim Versuch unverändert. Bei entgegengesetzten Vorzeichen kehrt sich das Vorzeichen der Gesamtdoppelbrechung zweimal um, wobei im Übergangsgebiet anomale Polarisationsfarben auftreten.

Diese Regeln gelten nur für nichtabsorbierende Mischkörper. Ist die Absorption eines Bestandteiles des Mischkörpers genügend groß, so kann selbst bei gleichen Brechzahlen Formdoppelbrechung eintreten. Auch das Vorzeichen der Doppelbrechung kann sich ändern, wenn ein Bestandteil des Mischkörpers Licht absorbiert.

Beispiele

Die Zellulosemicelle bildet ein System von optisch anisotropen kristallähnlichen Stäbchen, deren Abstände voneinander gegenüber den Lichtwellenlängen klein sind. Die Intermicellarsubstanz hat einen anderen

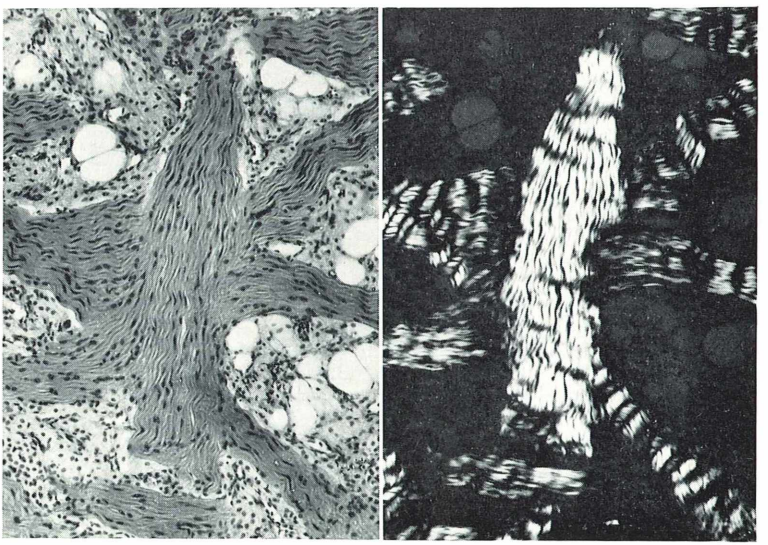


Bild 3: Kollagene Fasern im Penis des Hausschweines (Hämatoxylin-Eosin). Links im gewöhnlichen, rechts im polarisierten Licht. Achromat 20×/0,40; Projektiv 10×.

Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

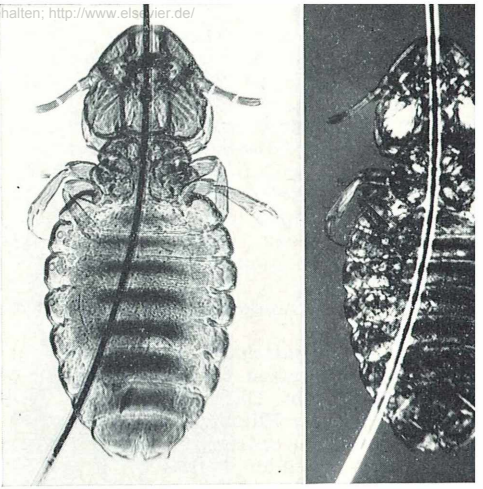


Bild 4: Mallophage (Haarling) im gewöhnlichen und polarisierten Licht. Planachromat 2,5×/0,08; Projektiv 8×.

Brechungsindex als die Micelle. Somit ist die doppelbrechende Wirkung der Xylemzellwände aus Eigendoppelbrechung und Formdoppelbrechung zusammengesetzt. Letztere kommt durch den abweichenden Brechungsindex der Intermicellarsubstanz zwischen den sehr dicht zusammenstehenden anisodiametrischen Zelluloseteilchen zustande. Das dunkle Kreuz (Sphaeritenkreuz), das oft über den einzelnen Zellen liegt (Bild 1) und auch beim Drehen des Präparates in seiner Lage bleibt, deutet auf eine radiäre Ordnung der Micelle um die Zellachse.

Dispersion der Doppelbrechung

Wie bereits erwähnt, wird die Stärke der Doppelbrechung durch die Differenz der beiden Brechzahlen zahlenmäßig ausgedrückt. Die Größe der jeweiligen Brechzahl ist jedoch von der Wellenlänge des verwendeten Lichtes abhängig. Deshalb ist auch die Differenz der Brechzahlen wellenlängenabhängig. Diese Abhängigkeit der Stärke der Doppelbrechung von der Wellenlänge bezeichnet man als *Dispersion der Doppelbrechung.* Da wir Eigendoppelbrechung und Formdoppelbrechung unterscheiden können, sind auch eine Dispersion der Eigendoppelbrechung und eine Dispersion der Formdoppelbrechung, sowie eine Dispersion der Gesamtdoppelbrechung zu beobachten. Diese Erscheinungen haben für unsere Untersuchungen keine sehr große Bedeutung und werden hier nur der Vollständigkeit halber erwähnt.

Untersuchung des Dichroismus

Dichroismus liegt vor, wenn das in einer bestimmten Bezugsrichtung schwingende Licht stärker oder schwächer absorbiert wird als das andere. Wie bei der Formdoppelbrechung spricht man von *Formdichroismus,* wenn sich die Absorptionskoeffizienten der zwei Bestandteile des Wienerschen Mischkörpers voneinander unterscheiden. Positiver Formdichroismus liegt vor, wenn die absorbierende Komponente des Mischkörpers eine höhere Brechzahl hat als die nicht absorbierende Komponente. Negativer Formdichroismus ist vorhanden, wenn die Verhältnisse genau umgekehrt sind. Neben dem Formdichroismus kann auch *Eigendichroismus* beobachtet werden, wenn im submikroskopischen Bereich eine bevorzugte Richtung dichroitischer Substanzen vorliegt. Zeigt die Struktur selbst Dichroismus, so spricht man von natürlichem Dichroismus. Künstlicher Dichroismus entsteht, wenn in den submikroskopischen Lückenraum absorbierende Substanzen bzw. dichroitische Farbstoffe eingelagert werden.

Für die praktische Bestimmung des Vorzeichens des Dichroismus gelten folgende Grundregeln: Positiver Dichroismus liegt vor, wenn das parallel zur gewählten Bezugsrichtung schwingende Licht stärker absorbiert wird als das senkrecht dazu schwingende. Wenn jedoch das senkrecht zur gewählten Bezugsrichtung schwingende Licht stärker absorbiert wird als das parallel dazu schwingende, liegt negativer Dichroismus vor.

Nachweis dichroitischer Substanzen:

1. Der Polarisator wird entfernt und das Präparat nach dem Köhlerschen Prinzip scharf eingestellt.
2. Interferenzfilter mit gewünschter Wellenlänge in den Filterträger einsetzen. Zur Ausschaltung störender Polarisationserscheinungen zusätzlich Mattglas einsetzen.
3. Analysator drehen und Helligkeitsänderungen des Objektes beobachten. Bei Intensitätsschwankungen in den beiden Analysatorstellungen (90°) liegt Dichroismus vor.

Der Nachweis des Dichroismus gelingt auch, wenn statt des Analysators der Polarisator verwendet wird oder wenn man das Objekt anstelle des Analysators bzw. Polarisators dreht. Besonders empfindlich ist das Verfahren nach Zocher und Jacoby (1927): Polarisator und Analysator werden gekreuzt, wobei die Schwingungsrichtung des Polarisators von Nord nach Süd verlaufen soll. Das Untersuchungsobjekt wird mit seiner Bezugsrichtung unter +45° orientiert, wobei man ein Fadenkreuzoku-

lar benutzt. Für die Auswertung im monochromatischen Licht gilt die Regel:

A. Drehung des Analysators im Gegenuhrzeigersinn führt zur Verdunkelung des Objektes. Es liegt *positiver Dichroismus* vor.

B. Drehung des Analysators im Uhrzeigersinn führt zur Verdunkelung des Objektes. Es liegt *negativer Dichroismus* vor.

Beim Drehen des Polarisators gilt das gleiche für entgegengesetzten Drehsinn. Quantitative Untersuchungen des Dichroismus werden mit einem Dichroskopokular durchgeführt, auf dessen Beschreibung hier verzichtet wird.

Anwendungsbeispiele

Im allgemeinen zeigen biologische Objekte nur dann natürlichen Dichroismus, wenn sie optisch anisotrop sind. Die dichroitischen Erscheinungen lassen Rückschlüsse auf die Struktur des Untersuchungsobjektes und auf die Ein- bzw. Anlagerung des Farbstoffes zu. Eine Unterscheidung von Form- und Eigendichroismus ist mit Hilfe der Imbibitionsmethode möglich. Man durchtränkt das dichroitische Objekt mit Imbibitionsflüssigkeiten (z. B. Glyzerin) verschiedener Brechzahlen. Bei reinem Formdichroismus gibt es einen Punkt, in dem die Brechzahl der Imbibitionsflüssigkeit so gewählt ist, daß der Dichroismus verschwindet.

Künstlicher Formdichroismus kann durch Einlagerung von Metallen oder Farbstoffen in den Gefügelücken hervorgerufen werden. Bei der Analyse der Verlaufrichtung von Faserproteinen innerhalb des Gewebes spielen dichroitische Färbungen eine große Rolle. Bei Beobachtung in weißem, linear polarisiertem Licht erscheinen die Fasern je nach Schwingungsrichtung in einer anderen Farbe. Der Dichroismus kann auch zur Unterscheidung verschiedener Strukturen herangezogen werden, zum Beispiel bei der Abgrenzung von Kollagen gegenüber Retikulin. Mit Eosin oder Toluidinblau gefärbte Kollagenfasern zeigen Dichroismus, während diese Erscheinung bei retikulären Fasern nicht auftritt.

Die Einlagerung von Gold, Silber, Kupfer, Tellur, Arsen, Antimon oder Wismut in Gefügelücken bewirkt künstlichen Formdichroismus. Folgende Methoden sind besonders zu empfehlen:

A. Entparaffinierte Schnitte mindestens 24 h in folgende, gut gemischte Lösung legen:

Dest. Wasser 500 ml
98%iges Hydrazinhydrat 1 Tropfen
10%ige wäßrige Goldchloridlösung 3 Tropfen

Wenn die Lösung blaurot erscheint, ist die Behandlung beendet. Anschließend werden die Schnitte gewässert, getrocknet und in Caedax eingeschlossen. Im weißen Licht ist blau-roter Dichroismus zu beobachten.

B. Entparaffinierte Schnitte 3 h in 1%ige wäßrige Silbernitratlösung bringen. Mit dest. Wasser abspülen und 10 Minuten in eine Lösung von 50 ml dest. Wasser und 7 Tropfen 98%ige Hydrazinhydratlösung legen. Anschließend wässern, trocknen und in Caedax einschließen. Je nach Objekt ist der Dichroismus grau-gelb, dunkelbraun-hellbraun oder graugrün-hellgelb. Bei der Versilberung nach Gomori (Romeis 1968) entsteht der Dichroismus blaurot-gelbrot.

Für dichroitische Färbungen sind folgende Farbstoffe geeignet: Akridinorange, Amido-

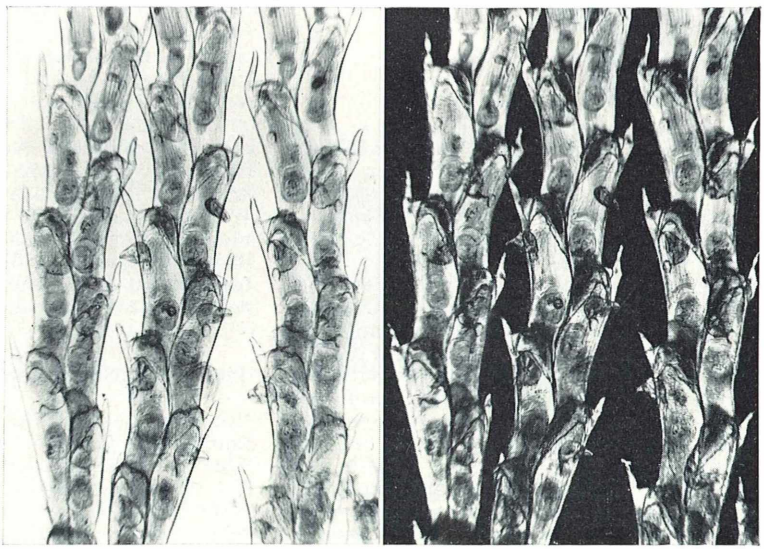


Bild 5: Bryozoenstock (Zooarium) im gewöhnlichen und polarisierten Licht. Planachromat 2,5×/0,08; Projektiv 8×.

schwarz 10 B, Anilinblau, Azur A, Coriphosphin O, Chromotrop 2 R, Eosin, Evansblau, Fastgreen, Gentianaviolett, Janusgrün B, Kongorot, Kresylviolett, Methylenblau, Nilblau, Orange G, Rivanol, Safranin O, Toluidinblau u. a. (s. Zocher und Jacoby 1927). Der Mikroskopiker findet hier ein weites Arbeitsfeld, zumal dichroitische Färbungen in Abhängigkeit vom Farbstoff nicht an jedem Objekt gelingen. Proteinfasern aller Art, aber auch Zellulosefasern sind für solche Versuche geeignet. Die im Gewebe auftretenden Faserproteine (Kollagen, Retikulin, Elastin, Fibrin, Gliafasern, Zonulafasern, Linsenfasern, Neuro-, Tono- und Myofibrillen der glatten, Herz- und Skelettmuskulatur) sind optisch anisotrop und deshalb für polarisationsoptische Untersuchungen besonders gut verwendbar.

Abschließend soll noch der Wert des Polarisationsmikroskops bei der histologischen Diagnosestellung erwähnt werden. Bei Silikosen liegen im Gewebe doppelbrechende Quarzkristalle vor. Auch bei Silikatosen können optisch anisotrope Kristalle beobachtet werden. Ein bewährtes Verfahren zur Gichtdiagnose ist die polarisationsoptische Untersuchung der Gelenkflüssigkeit. Bei Gicht treten im Ausstrich negativ doppelbrechende Kristallnadeln von Mononatriumurat auf. Auch bei vielen Formen der Steinbildungen liefert die polarisationsoptische Untersuchung der Kristalle zusätzliche Informationen. In der forensischen Toxikologie wurde das Polarisationsmikroskop mit Erfolg eingesetzt, weil die hier interessierenden Stoffe oft Kristallklassen angehören, die durch relativ viele Parameter zu charakterisieren sind.

Literaturhinweise:

1. *Ambronn, H.:* Über Stäbchendoppelbrechung im Zelloidin und in der Gelatine. Z. wiss. Mikroskopie 32, 43 (1915).
2. *Frey, A.:* Die Technik der dichroitischen Metallfärbungen. Z. wiss. Mikroskopie 42, 421 (1925).
3. *Frey-Wyssling, A.:* Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate. Berlin 1938.
4. *Scheuner, G.* u. *J. Hutschenreiter:* Polarisationsmikroskopie in der Histophysik. Leipzig 1972.
5. *Schmidt, W. J.:* Dichroitische Färbung tierischer und pflanzlicher Gewebe. In: Abderhaldens Handbuch d. biol. Arbeitsmethoden Abt. 5, Teil 10. Berlin und Wien 1932.
6. *Schnabel, R.:* Der Färbedichroismus der Gliafibrillen. Histochemie 3, 257 (1963).

Der erste Teil dieser Arbeit „Einführung und qualitative Beobachtungen" erschien in Mikrokosmos **66**, H. 8, 233—238, August 1977.

Verfasser: Gerhard Göke, Bahnhofstr. 27, 5800 Hagen.

Franz Buxbaum

Kakteensamen unter Lupe und Mikroskop

Nur selten befassen sich Liebhaber-Mikroskopiker mit Samenuntersuchungen, wenn man einmal von den bekannten Anfängerobjekten absieht: Erbsen- und Bohnenstärke, Aleuron der Getreidekörner, Eiweißkristalloide in Rhizinussamen.

Es gibt aber Samen, die mikroskopisch überaus interessant sind und die untersuchungstechnisch anregende Probleme bieten. Das sind natürlich nicht gerade die Samen der Fächerpalme *Lodoicea maldivica* (Seychellen-Nuß), die 40—50 cm groß und 20 kg schwer werden. Eher eignen sich schon Orchideensamen, die zum Teil nur wenige Millionstel Gramm wiegen, die aber leider mikroskopisch wenig bieten.

Wirklich interessante Untersuchungen ermöglichen die Kakteensamen. Kakteensamen verschiedener Arten aufzutreiben, ist nicht schwierig; sobald man eingearbeitet ist, braucht man ja nur wenige Körnchen. Wer nicht selbst eine Sammlung hat, kennt vielleicht einen Kakteenspezialisten, der Samen aus unkontrolliert bestäubten Blüten abtritt. Man kann auch uralte, längst nicht mehr keimfähige Samen benützen.

Samenanlage und Samen

Zunächst der prinzipielle Bau, der „morphologische Typus" des Kakteensamens.

Wir untersuchen zuerst eine Samenanlage aus irgendeiner Kakteenblüte, die wir mit einer dicken Nadel oder einer spitzen Pinzette aus der Fruchtknotenhöhle heraus-

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

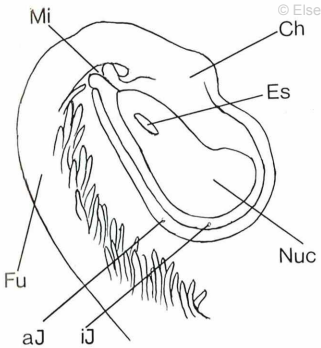


Bild 1: Samenanlage von *Weberocereus tunilla*, mit Glycerin aufgehellt. *F* Funiculus, *Ch* Chalaza, *Mi* Micropyle (Keimloch), *Nu* Nucellus, *Es* Embryosack (Eiapparat), *aI* äußeres, *iI* inneres Integument.

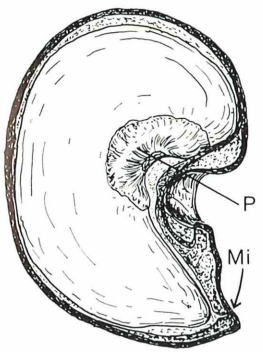


Bild 2: Samen von *Echinocactus texensis*, geöffnet. *P* Perisperm, *Mi* Micropyle.

kratzen. Untersuchungsmedium ist Wasser oder — besser — stark verdünnte Methylenblaulösung. Das Durchfärben mit so verdünnten Farblösungen dauert oft sehr lange (manchmal über 24 Stunden); man kann es mit einer gleichzeitigen Durchtränkung mit Glyzerin verbinden, die das Objekt durchscheinender macht. Dazu gibt man zu einer größeren Menge Farblösung so viel Glyzerin, daß nach dem Verdunsten des Wassers die Samenanlagen gut mit reinem Glyzerin bedeckt bleiben.

Das Wasser läßt man langsam verdunsten und schützt das Gefäß vor Staubeinfall, indem man es mit einer Lage Filterpapier abdeckt. Zu schnelles Eindicken — etwa durch Wärmeanwendung — verdirbt das Objekt.

Im Inneren der Samenanlage finden wir einen eiförmigen, oft etwas gekrümmten Gewebekörper, den Nucellus. Er ist von zwei Hüllen eingeschlossen, dem inneren und dem äußeren Integument, die an der Spitze ein winzige Öffnung freilassen, die Mikropyle. Durch die Mikropyle hindurch erfolgt die Befruchtung des an der Spitze des Nucellus liegenden „Eiapparates". Das innere Integument tritt bei den Kakteen immer aus dem Porus des Äußeren vor. Der Apparat ist eine Zellgruppe im „Embryosack", die außer der eigentlichen Eizelle einige Hilfszellen umfaßt.

An dem der Mikropyle entgegengesetzten Ende des Nucellus entspringt der Samenstrang; er ist jedoch am Nucellus angewachsen und wird an der Spitze neben der Mikropyle frei. Aber auch mit dem freien Teil ist der Samenstrang meist mehr oder minder fest um die ganze Samenanlage geschlungen. Von seinem angewachsenen Teil gehen oft schwer erkennbare Gewebsflügel aus, die die Samenanlage als — meist kaum wahrnehmbares — sogenanntes drittes Integument umhüllen. Bei der Unterfamilie Opuntioideae wird aus dem „dritten Integument" eine sehr harte Arillushülle, bei manchen Arten der Unterfamilie Cactoideae (Cereoideae) eine mehr oder weniger ausgeprägte, je nach Art sehr dicke oder ganz zarte oder überhaupt abgestoßene „Arillushaut".

Nach der Befruchtung wird aus der Eizelle der Embryo, aus dem Nucellus, der mit dem inneren Integument fest verbunden bleibt, ein Nährgewebe, das „Perisperm". Im Laufe der Höherentwicklung der Kakteen ist das Perisperm in manchen Entwicklungslinien verkleinert worden, in anderen volkommen reduziert (Bild 2).

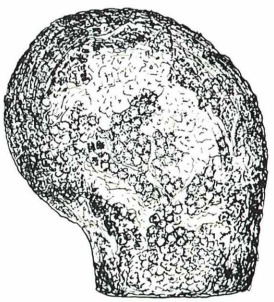


Bild 3: Samen von *Neoporteria iquiquensis*. Arillushaut in dünnen Fetzen.

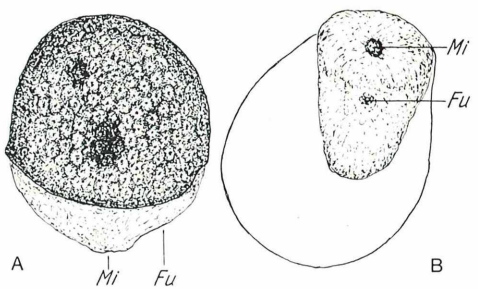


Bild 4: Samen von *Parodia ayopayana* mit polsterförmiger Strophiola. *Mi* Micropylarloch, *Fu* Abrißstelle des Funiculus. Arillushaut in sternförmigen Teilchen den Warzenspitzen aufsitzend.

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

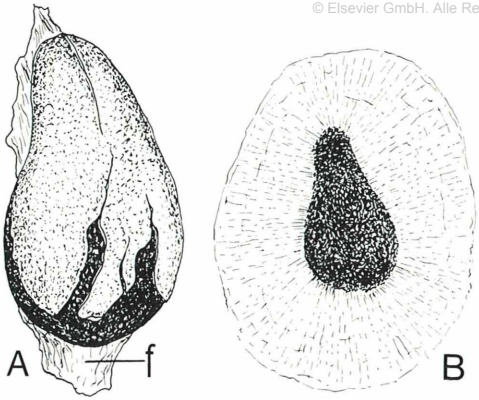


Bild 5: Samen von *Hylocereus polyrhizus*. *A* trocken: Arillushaut derb, hyalin. *B* Feucht: Arillushaut verquollen, der Samen scheint durch. *f* Rest des Funiculus.

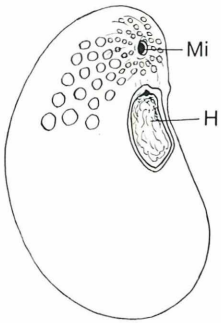


Bild 6: Hilumansicht des Samens von *Mammillaria wrightii*, schematisiert zur Darstellung des kleinen Hilum *H* und des ganz abseits liegenden Mikropylarloches *Mi*, von dem aus die Reihen der Testagrübchen verlaufen.

Das äußere Integument bildet die harte Samenschale (Testa), die dort, wo der Samenstrang ansetzt und meist auch die Mikropyle liegt, zum „Hilum" (Nabel) wird.

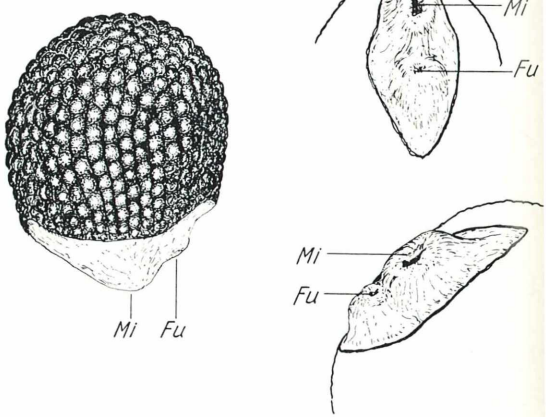
Geräte und Hilfsmittel

Vor allem brauchen wir eine Präparierlupe von etwa 10facher Vergrößerung. Das Stativ für die Lupe kann improvisiert sein; ich benütze seit eh und je einen „Fadenzähler", für den ich aus Laubsägeholz ein Stativ gebastelt habe.
Am Mikroskop genügen ganz schwache Vergrößerungen, wobei hier ausnahmsweise die Kombination eines schwachen Objektives mit einem starken Okular günstiger ist als die eines starken Objektives mit einem schwachen Okular. Der Arbeitsabstand ist beim schwachen Objektiv größer, die Tiefenschärfe besser. Sehr praktisch ist eine improvisierte Dunkelfeldbeleuchtung. Dazu klebt man auf ein in den Filterhalter unter der Blende passendes Glas- oder Plastikscheibchen ein rundgeschnittenes Stück schwarzes Papier mit einem Durchmesser von ca. 1 cm.

Gerät:

1. Lanzettnadel
2. „Mikromesser": Eine sehr dicke Präpariernadel, oder Nähnadel, die an der Spitze einseitig zu einer scharfen Schneide angeschliffen wird.
3. Zwei feinste Präpariernadeln. Man montiert feine Insektennadeln in einen Pinselstiel oder sonst ein Stäbchen, wobei der freie Teil der Nadel nicht mehr als etwa 15 mm herausragen soll; andernfalls ist die Nadel zu elastisch.
4. Eine normale Präpariernadel
5. In ein Pappstückchen in Objektträgergröße stanzen wir ein Loch von etwa 1 cm ϕ und kleben einen Streifen selbstklebendes Klebeband darüber. Der Boden des Loches ist dann klebrig. Wir können darauf ein Samenkorn in jeder gewünschten Lage fixieren.
6. Kontaktkleber
7. Haushaltsspülmittel zum Entspannen des Wassers.
8. Glyzerin
9. Methylenblaulösung. Eine „kleine Messerspitze" Methylenblau wird in 50 bis 100 ml destilliertem Wasser gelöst, danach eine „Messerspitze" Speisenatron ($NaHCO_3$) zugefügt, nach 24 Stunden wird die Lösung filtriert. Sehr stark verdünnt anwenden!
10. übliche Sudan III-Lösung (nicht unbedingt nötig)
11. Klebgummilösung (Gummi arabicum)
12. Für die harten Samen der Opuntioideen: Klebstoff UHU-Plus, Flaschenkork, feinstes Wasserschmirgelpapier (Polierpapier).

Bild 7: Samen von *Parodia maassii A* mit zwei Ansichten der Strophiola. Gleichmäßig kugelwarzige Testa. Das Mikropylarloch *Mi* ist stark, der Ansatz des Funiculus *Fu* hier etwas weniger vorgezogen.



© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten

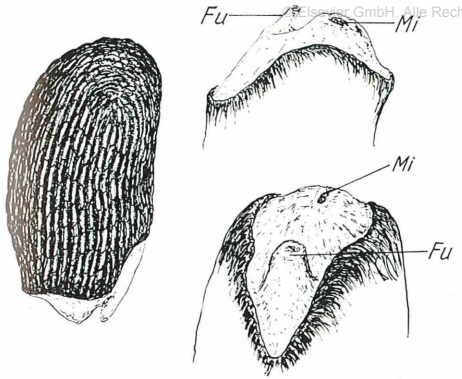


Bild 8: Samen und Strophiola von *Parodia comarapana*. Langgestreckte Testawarzen. Mikropyle *Mi* auf einem breiten Höcker, Funiculusansatz *Fu* als kurzer Zapfen vorstehend (Gegensatz zu *Notocactus*).

Die Untersuchung

Bevor wir den inneren Bau eines Samens untersuchen, skizzieren wir grundsätzlich Umriß und Außenseite. Was man nicht gezeichnet hat, hat man auch nicht gesehen! Oft glaubt man, alles ganz genau angesehen zu haben, aber erst wenn man das Objekt zeichnet, merkt man, daß man doch nicht alle Einzelheiten kennt.

Der Umriß der Samen variiert oft bei ein und derselben Frucht erheblich. Man nimmt die häufigste Form als „Typus" und skizziert die extremen Formen daneben.

Einige Samen streut man auf die Klebefläche der oben beschriebenen Untersuchungskammer und richtet sie mit der Nadel so auf, daß der Nabel oben liegt. Man kann dann bequem bei schwacher Mikroskopvergrößerung zeichnen.

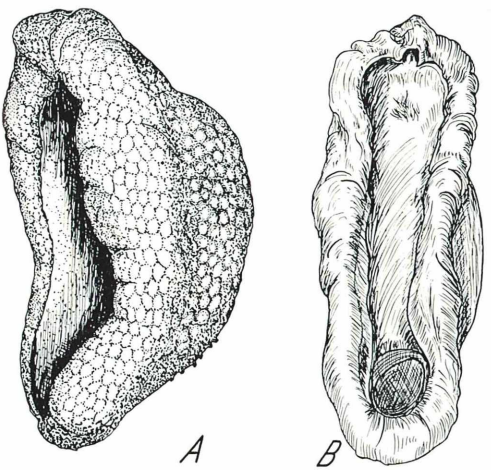


Bild 9: *Espostoa blossfeldiorum*. Samen mit weit ausgedehntem Hilumsaum, halbseitlich und von unten.

Die Untersuchung des inneren Baues muß am Vortag schon vorbereitet werden. Wir beginnen natürlich mit einem größeren Samen von etwa 2 mm ⌀. Er muß zuerst auf dem Objektträger so befestigt werden, daß man ihn bearbeiten kann. Wir bringen auf dem Objektträger Kontaktkleber an und streuen mehrere Samen darauf (mindestens einen verpatzt man immer!) Noch ehe der Kleber trocknet, zieht man mit der Nadel Klebstoffäden so über den Samen, daß er gewissermaßen eingesponnen oder dünn eingeschlossen ist. Am nächsten Tag kann man dann an das „Aufknacken" gehen, je nach der Größe des Samens mit einer Lanzettnadel oder mit dem Mikromesser.

Wir arbeiten unter der Präparierlupe. Erstes Gebot: Geduld!

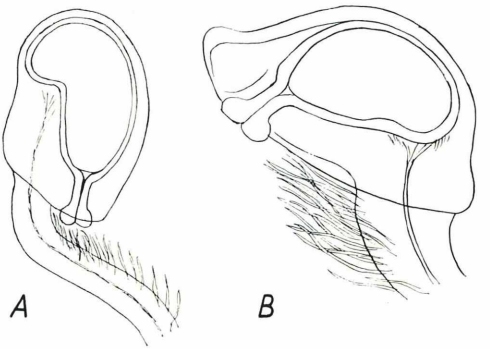


Bild 10: Vergleich der Samenanlagen von *Espostoa guentheri* (Normale Samenform, *A*) und *Espostoa blossfeldiorum* (*B*) zeigt das Zustandekommen des „zerdehnten" Hilums. Bei *A* liegen, wie bei fast allen Kakteen, infolge der starken Anatropie (Umbiegung) Funikulus-Ansatz und Mikropyle dicht nebeneinander, bei *E. blossfeldiorum* erfolgt die Einkrümmung — zufolge einer Mutation — nur halb, die Samenanlage liegt fast in geradliniger Fortsetzung des Funiculus.

Man ritzt Strich für Strich, am besten längs des oft deutlichen Kieles, wobei man am Nabel oder etwas darüber beginnt. In der Spitze des Samens liegt nur die Keimwurzel; wird sie beschädigt, ist das Unglück nicht groß. Am anderen Ende liegen aber die Keimblätter, bzw. deren Rudimente, die unbedingt unversehrt zu erhalten sind. Hat die Testa einen Sprung, so versucht man mit der Lanzettnadel, Mikromesser oder mit der dicken Nadel allmählich Stückchen für Stückchen aufzubröckeln. Manchmal läßt sich die Testa längs des Rückenkieles plötzlich direkt wegklappen, so daß das Innere in der natürlichen Lage im unteren Schalenteil liegt. Ist das der Fall: Sofort zeichnen! (Bild 2).

Ist schließlich der von der inneren Testa eingehüllte Embryo freigelegt, zeichnen wir ihn ab und prüfen, ob ein Perisperm vorhanden ist. Im Zweifelsfalle erkennt man das besser, wenn der Samen in einem Wassertropfen oder in Glycerin liegt (evtl. zum

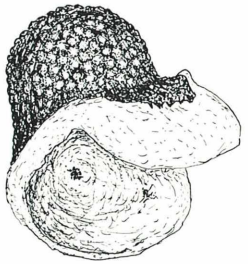


Bild 11: Samen einer noch unbeschriebenen *Gymnocalycium*-Art (Sammlung Dipl.-Ing. Frank, Wien). Hilumsaum hutförmig von Strophiola-Gewebe gebildet.

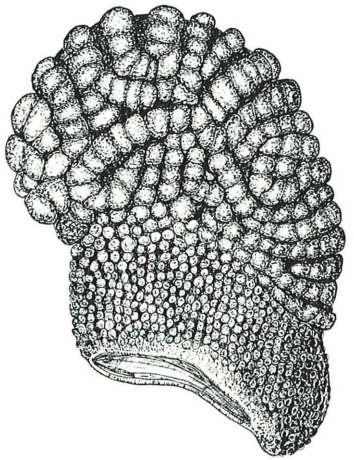


Bild 12: In „Gehirnstruktur" angeordnete große Warzen am Samen von *Cereus aethiops*.

Stärkenachweis mit einer Spur Jod versehen).

Nun kommt der schwierigste Teil: Die Außenschale ist meist spröde und brüchig, die innere jedoch mehr oder minder elastisch, manchmal zart, manchmal recht dick, aber immer zähe. Hinzu kommt, daß jetzt das Sameninnere freiliegt und schwer zu fassen ist. Man kann etwas Glyzerin darauf setzen und es unter Umständen gegen eine Falte des Klebstoffes verkeilen. Jetzt versucht man, eine evtl. Hautfalte mit der Insektennadel festzuhalten und mit dem Mikromesser den Hautfetzen zu vergrößern. Die Innentesta muß mit äußerster Vorsicht aufgerissen werden. Kann man ein Stückchen mit der Insektennadel festhalten, versucht man das Weitere sozusagen abzuwickeln. Da der Embryo ganz dicht anliegt, kann man jetzt vorteilhaft mit einem Tropfen entspanntem Wasser nachhelfen (Wasser mit reichlich Haushaltsspülmittel versetzen). Das Wasser dringt zwischen Embryo und Innentesta ein und lockert auf. Bei längerem Einwirken quillt der Embryo überdies etwas auf, so daß er bei günstiger Schnittlage sogar geradezu herauskriecht. Meist muß man aber mit der Nadel nachhelfen. Kommt man bei besonders fester Innentesta gar nicht zurecht, so läßt man auf einem Objektträger einen Tropfen Gummi arabicum-Lösung eintrocknen. Noch ehe der Gummi arabicum ganz trocken ist, legt man den nassen Sameninhalt darauf. Nach dem völligen Trocknen ist meist nur die Innentesta festgeklebt; man kann dann viel leichter hantieren.

Beim Ausschälen des Embryos treten oft ölige Tröpfchen auf, die sich mit Sudanlösung rot färben. In der nun leeren Testa liegt nun auch, wenn vorhanden, das Perisperm, das mit Jod auf Stärke zu prüfen ist. Oft ist es weitgehend reduziert und enthält nur Spuren von Stärke.

Wir untersuchen den jetzt freigelegten Embryo. Hier kommt es auf Lage und Größe der Keimblätter an. Sind die Keimblätter transversal, d. h. quer zur Halbierungsebene gestellt und sind sie einigermaßen ansehnlich, so fällt diese Untersuchung leicht, zumal bei einem gekrümmten Embryo, der sich von selbst in die richtige Lage legt. Stehen die Keimblätter aber sagittal, d. h. liegt der Keimblattspalt in der Mittelebene, dann ist es oft schwierig, die Größe festzustellen: Sie sind so dicht aneinandergepreßt, daß der trennende Spalt schwer zu erkennen ist. Schwierigkeiten gibt es auch, wenn die Keimblätter sehr reduziert sind, wenn also nur ein winziger Spalt zwischen ihnen vorhanden ist. Man kann sich diese Untersuchungen — die natürlich unter dem Mikroskop erfolgen — durch Anfärben mit Sudanrot erleichtern. Die Cuticula des Embryos färbt sich mit Sudanrot an, so daß man allmählich den Spalt zwischen den Keimblättern feststellen kann. Gelingt dies immer noch nicht, so läßt man den Embryo etwas antrocknen. Er schrumpft dann und die Keimblätter klaffen dann so weit auseinander, daß man sie identifizieren kann.

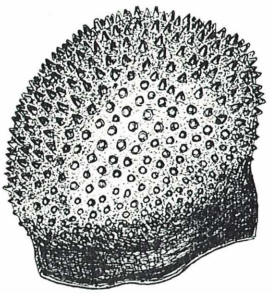


Bild 13: Spitzkegelige Warzen aus der Mitte der Zellaußenwand bei *Discocactus alteolens*.

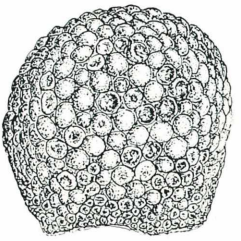


Bild 14: Blasige Kugelwarzen am hellbraunen (hoch abgeleiteten!) Samen von *Gymnocalycium mihanovichii*, die zum Teil einsinken.

Die hier angegebene Technik ist bei allen Samen anzuwenden, mit Ausnahme der Opuntien und ihrer Verwandten.

Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Beobachtungen

Bei verschiedenen Entwicklungslinien der Kakteen treten Besonderheiten im Samenbau auf. Wir betrachten zunächst Arillushaut, Testa, Hilum und Strophiola.

Die Testa (Samenschale) ist, wie erwähnt, oft von einer Haut überdeckt, die vom angehefteten Teil des Samenstranges (Funiculus) ausgeht, und die die junge Samenanlage einhüllt. Diese Haut („Arillushaut") ist meist braun, und daher wurden diese Samen oft als „braun" beschrieben. Sie sind aber, im Gegensatz zu hoch abgeleiteten Samen, unter der Arillushaut tatsächlich schwarz.

Um die Testa zu untersuchen, muß also die Haut zuerst entfernt werden. Man legt den Samen auf den linken Handteller, befeuchtet den rechten Zeigefinger und reibt langsam drehend den Samen auf dem Handteller, bis er trocken ist. Dabei verklebt die Arillushaut mit der Epidermis der Hand und löst sich ab.

Meist ist die Arillushaut relativ dünn. Oft liegt sie nur in den Zwischenräumen zwischen den Warzen der Testa, manchmal einem Spinnennetz ähnlich, zuweilen tritt sie in dicken, runzeligen Fetzen auf. Sie kann aber auch eine Funktion haben: Beim baumbewohnenden *Hylocereus polyrhizus* ist sie im trockenen Zustand durchscheinend und dick; wird sie befeuchtet, so quillt sie zu einer dicken, schleimig-klebrigen Hülle, die das Ankleben des Samens ermöglicht.

Auch das faserig-schwammige Gewebe, das fast immer den Nabel bedeckt, geht vom Samenstrang aus. Es bildet nicht selten einen Samenanhang (Strophiola), der meist fälschlich als „Arillus" bezeichnet wurde.

In das Hilum ist meist auch das „Keimloch" (die Mikropyle) mit einbezogen. Ein zumeist größeres Loch im Gewebe des Nabels stellt meist die Abrißstelle des Samenstranges dar. Häufig liegt das „Keimloch" dicht an den Hilumsaum angeschlossen, seltener liegt es abseits davon.

Die Strophiola kann recht verschieden gestaltet sein. Bei den kleinsamigen Parodien bildet sie einen den Samen selbst oft weit übertreffenden Anhang, an dem Mikropylarloch und Funikulusansatz oft kaum zu erkennen sind.

Die Testa (Samenschale) ist gewöhnlich schwarz, bei höher abgeleiteten Formen dunkel- bis hellbraun, bei den höchsten Stufen der Entwicklungslinien, z. B. bei manchen Mammillarien, hell- bis gelbbraun.

Bei ursprünglichen Gattungen bzw. Arten ist die Testa glatt, evtl kann man die Zellgrenzen als feine Linien erkennen. Am häufigsten ist aber der warzige Typ der Testa, bei dem die Außenwände der Zellen mehr oder minder stark und in verschiedener Weise aufgewölbt sind. Diese Variationen sind stammesgeschichtlich von großer Bedeutung, ihre Untersuchung daher biologisch sehr wichtig.

Es ist oft nicht einfach, die Testastruktur mit einem normalen Mikroskop genau festzustellen. Besser wäre hier ein binokulares Präpariermikroskop, das echtes räumliches Sehen erlaubt (im Gegensatz zu einem Binokularaufsatz zu einem normalen Durchlichtmikroskop!). Mit verschiedenen Beleuchtungstricks (schräge Zusatzbeleuchtung von oben, improvisierte Dunkelfeldbeleuchtung) kann man dieser Schwierigkeiten Herr werden. Kritische Prüfung der

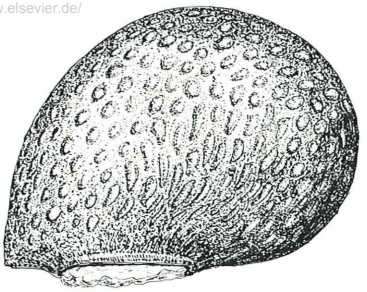


Bild 15: Echte Grubige Punktierung bei *Dolichthele longimamma*.

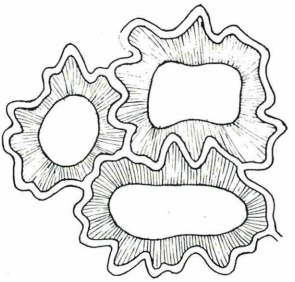


Bild 16: Radialwandverdickung der sonst dünnen Zellwände der Testa von *Pseudomammillaria decipiens*.

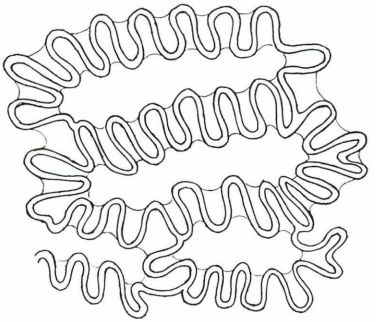


Bild 17: Dasselbe bei sehr starker Einfaltung der Radialwände bei *Leptocladodia stella-aurata*.

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

Befunde ist aber erforderlich. Gruben und Höcker kann man am besten an solchen Stellen unterscheiden, an der die Rundung des Samens verschiedene Tiefeneinstellungen erlaubt. Der primär glatte Samen z. B. von *Nyctocereus* zeigt an den Ecken der Zellgrenzen einen fast vollkommenen Zusammenschluß. Samen, deren Testa durch sekundäre Abplattung der Zellwände eines warzigen Typus glatt erscheinen, zeigen zwischen den abgeplatteten Zellen größere Grübchen („Zwischengrübchen"), oder zwischen den Zellreihen größere „Löcher". Tiefe Gruben sind besonders schön ausgeprägt bei der „Gehirnstruktur" mancher Samen (Bild 12).

Oft entspringen der Außenwand aller oder einzelnen Zellen verschieden gestaltete Vorsprünge, z. B. spitze Warzen oder (bei *Blossfeldia*) borstenähnliche Gebilde. Bei *Gymnocalycium mithanovichii* sind die auffallend großen, kugeligen Testazellen so dünnwandig, daß sie beim trockenen Samen wie Waben einsinken (Bild 14). Ein derartiges Einsinken ursprünglich warzig vorspringender Zellwände kann zur Verwechslung einer zweiten, überaus wichtigen Testatypus führen, dem der „Grubigen Punktierung". Bei diesem Typ, der nur bei einem Entwicklungsast der Enchinocacteae verwirklicht ist, sind die Radialwände der Testazellen verdickt, die Außenwände aber in der Mitte unverdickt, so daß dieser Mittelteil wie ein Porus erscheint, der im Extremfall ein rundes „Loch" bildet. Bei höherer Ableitungsstufe werden die Grubenpunkte größer und leiten zu einer mehr netzigen Struktur über.

Verfasser: Dr. Franz Buxbaum, Sackgasse 13/I/4, A-8750 Judenburg.

Jürgen Reiß

Verschimmeltes Brot im licht- und elektronenmikroskopischen Bild

Schimmelpilze sind die wichtigsten Verderber von Brot und Backwaren (Reiß, 1973). Bei günstigen Feuchtigkeitsverhältnissen und schon bei mäßiger Temperatur ermöglichen die reichhaltigen Nährstoffe ein ausgedehntes Wachstum des Pilzmycels. Wurde jedoch früher der Schimmelbefall lediglich als lästige Beeinträchtigung der Qualität eines Lebensmittels aufgefaßt, so ist das Schimmelproblem nach der Entdecknung der Mycotoxine zu einer zentralen Frage der Lebensmittelhygiene geworden. Mycotoxine sind Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen, die für Tiere und mit Sicherheit auch für den Menschen hochgiftig sind. Besondere Aufmerksamkeit haben die Aflatoxine (*Aspergillus flavus*-Toxine) erlangt, die zu den stärksten

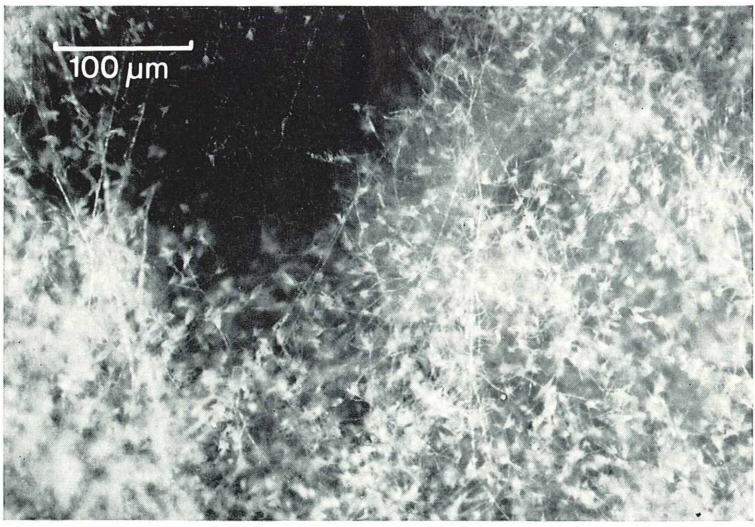


Bild 1: *Penicillium expansum* auf verschimmeltem Brot (Tessovar). Die typischen Pinsel sind reichlich gebildet.

Bild 2: *Penicillium expansum* (Rasterelektronenmikroskop). Hyphen und Pinsel bedecken die Oberfläche.

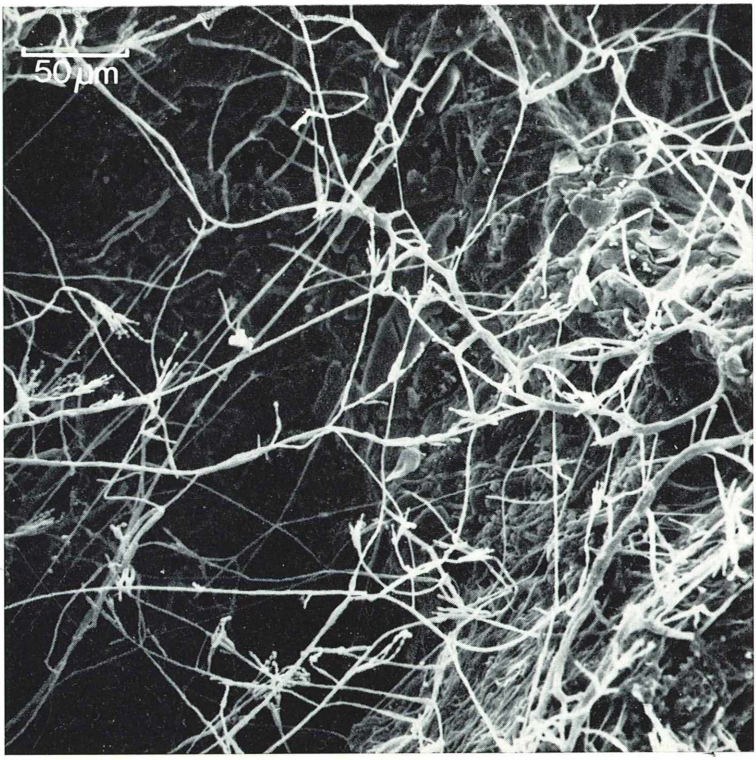
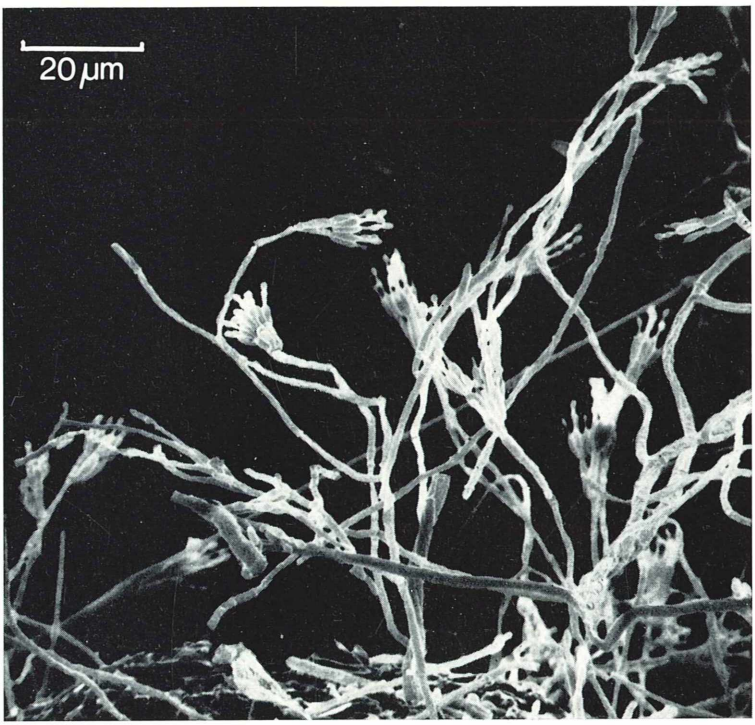


Bild 3: *Penicillium expansum* (Rasterelektronenmikroskop). Charakteristische Pinsel mit Konidien.



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

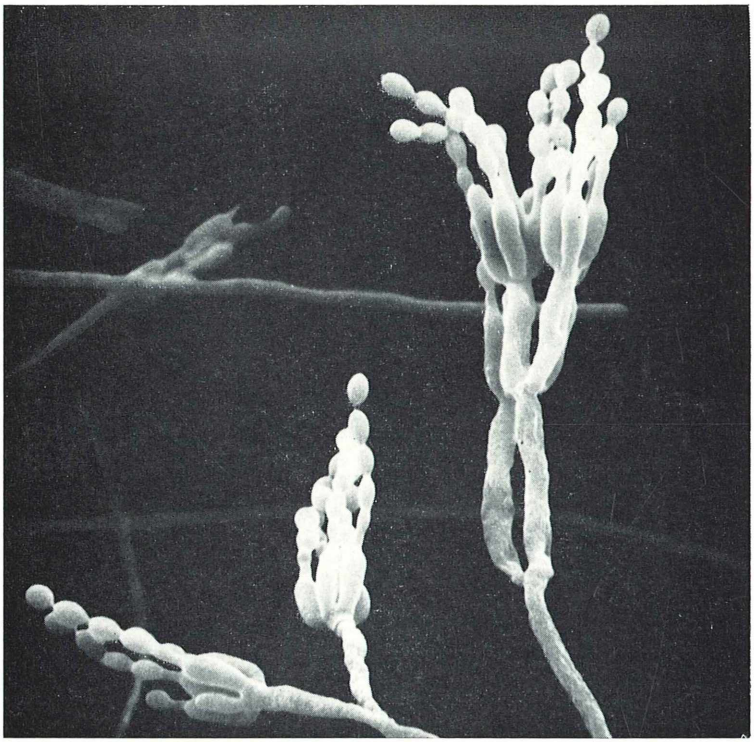


Bild 4: *Penicillium expansum* (Rasterelektronenmikroskop). Charakteristische Pinsel mit Konidien, stärker vergrößert.

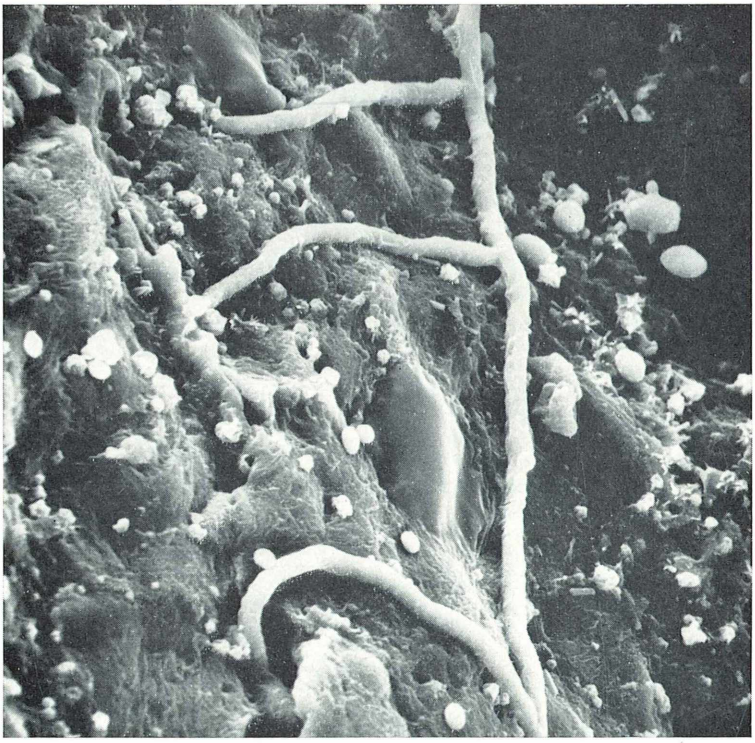


Bild 5: *Penicillium expansum* (Rasterelektronenmikroskop). Eine Hyphe schmiegt sich eng an die Brotoberfläche an und entsendet Seitenhyphen in die feinsten Poren. Dazwischen liegen abgelöste Konidien.

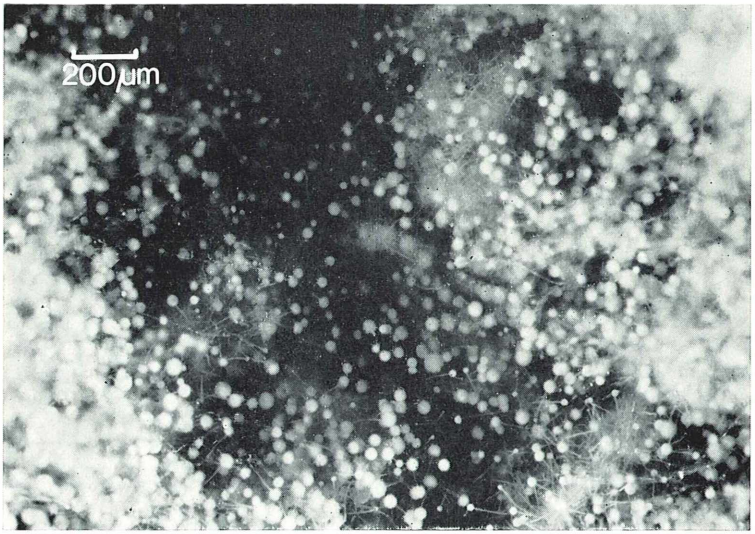


Bild 6: *Aspergillus flavus* auf verschimmeltem Brot (Tessovar). Reichliche Bildung von Sporenköpfchen.

krebserzeugenden Verbindungen gehören, die man heute kennt (Übersicht: Reiß, 1976).

Für den Lebensmittelmikrobiologen ist es interessant, Auskunft darüber zu gewinnen, wie sich Schimmelpilze auf Brot verhalten, wie sich dort ihr Mycel ausbreitet und wie Sporen neu gebildet werden. Um diese Fragen in einer räumlichen Dimension zu studieren, läßt sich zunächst das Nahaufnahmegerät Tessovar der Firma Carl Zeiss (Oberkochen) einsetzen (Bilder 1, 6, 9, 10). Sehr klar ist zu erkennen, daß die Pilze *Penicillium expansum, Aspergillus flavus* und *Neurospora crassa* die Oberfläche des Brotes mit einem Geflecht von Hyphen dicht bedecken. Sehr bald entstehen sporenbildende Strukturen (zu ihrer

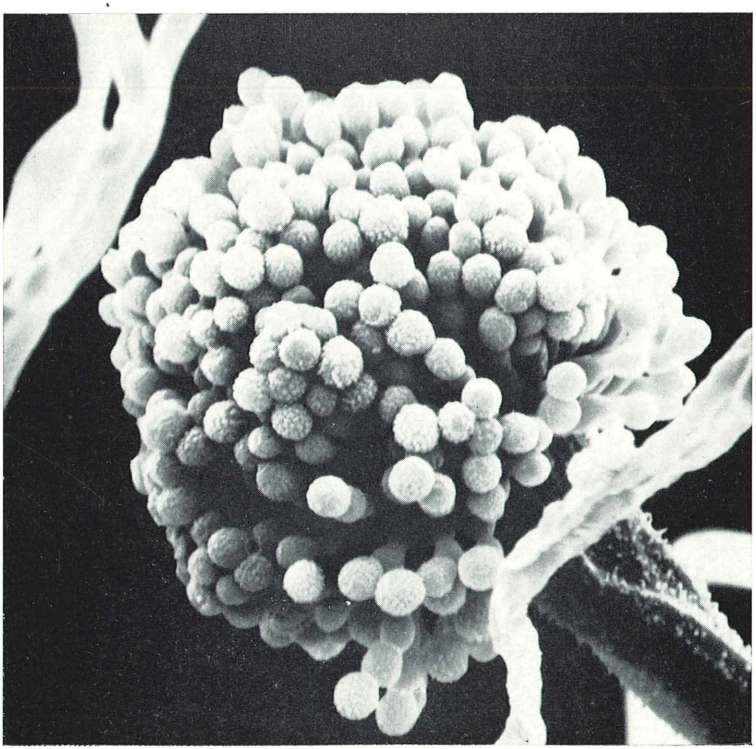


Bild 7: *Aspergillus flavus* (Rasterelektronenmikroskop). Sporenköpfchen mit den charakteristischen stachelwandigen Konidien.

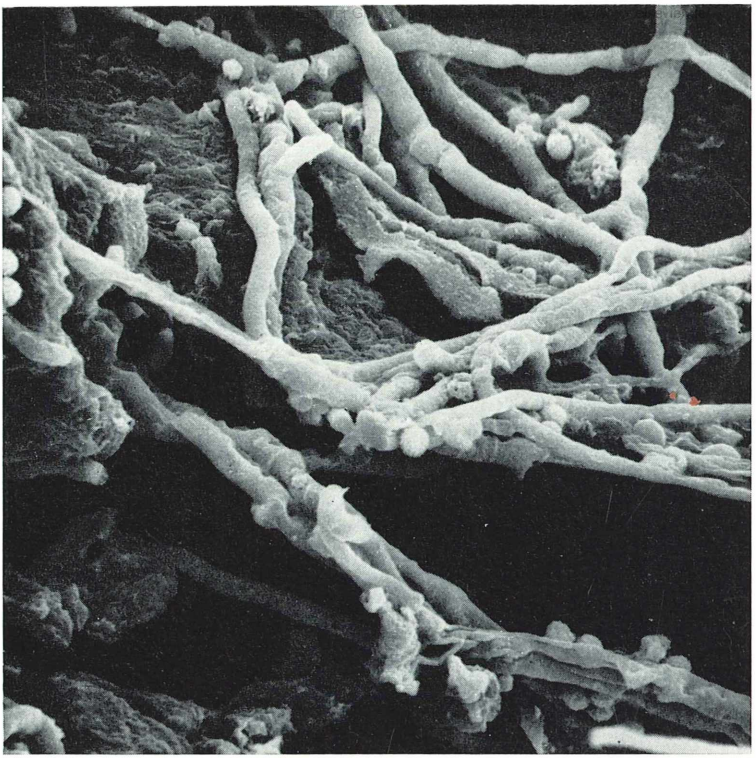


Bild 8: *Aspergillus flavus* (Rasterelektronenmikroskop). Hyphen auf der Brotoberfläche mit abgelösten Konidien.

Morphologie vgl. Reiß, 1971), die in reicher Zahl die ungeschlechtlichen Fortpflanzungszellen, in diesem Fall Konidien, produzieren. Aus den Abbildungen läßt sich im Vergleich zum Größenmaßstab anschaulich ersehen, in welcher großen Zahl die Konidien gebildet werden. So sind beispielsweise auf den Abbildungen 9 und 10 die watteartigen Gebilde an kurzen Seitenhyphen Massen von Konidien. Schon eine leichte Luftbewegung genügt, um die Konidien abzulösen und auf anderen Nährsubstraten eine neue Infektion hervorzurufen.

Untersucht man verschimmeltes Brot im Rasterelektronenmikroskop, dann erkennt man, wie die Pilze das Brot besiedeln (Reiß, 1977). Hyphen (Bilder 2, 5, 8, 11) und Konidien-bildende Strukturen (Bilder 3, 4,

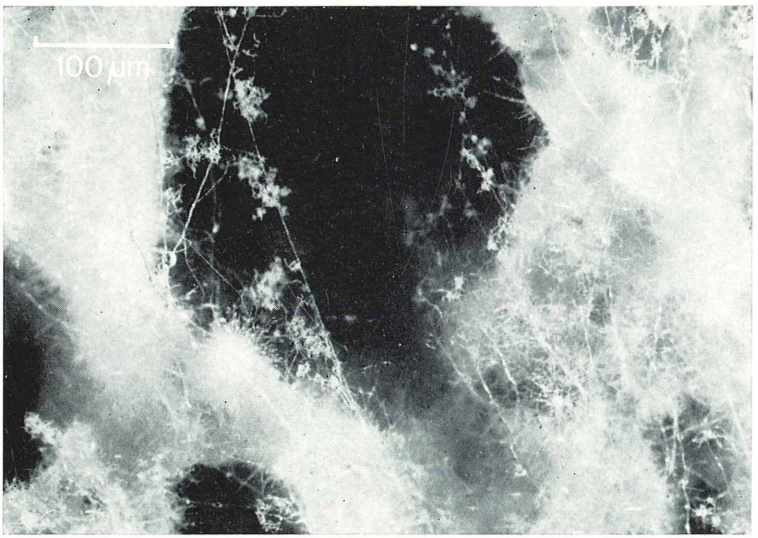


Bild 9: *Neurospora crassa* (Tessovar). Dichtes Hyphengeflecht und Konidien-bildende Strukturen.

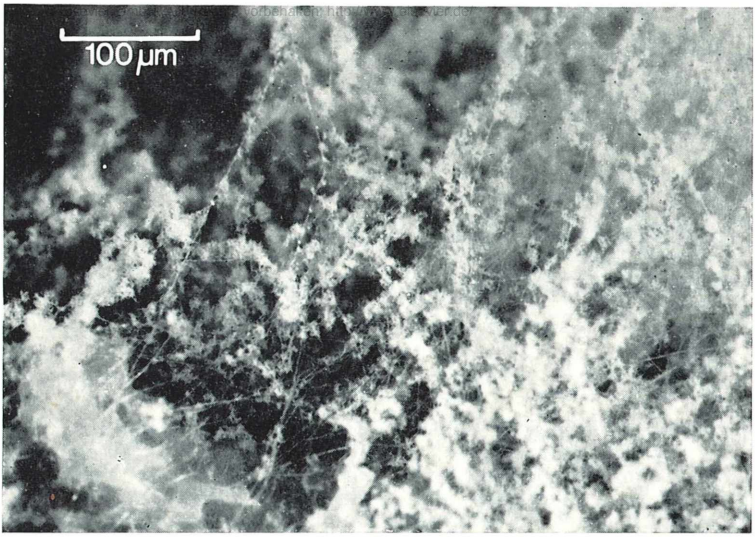


Bild 10: *Neurospora crassa* (Tessovar). Dichtes Hyphengeflecht und Konidien-bildende Strukturen. Stärker vergrößert.

7) bedecken dicht die Oberfläche. Die Pinsel von *Penicillium expansum* (Bilder 3, 4) und die „Gießkannenköpfchen" von *Aspergillus flavus* (Bild 7) zeigen ihre charakteristische Ausbildung. Bei *Neurospora crassa* sind die Konidien-bildenden Organe bei der elektronenmikroskopischen Präparation zerstört worden (vgl. Bild 23 bei Reiß, 1971), so daß hier die Konidien schon abgelöst sind.

Literaturhinweise:

Reiß, J.: Schimmelpilze. Mikrokosmos **60,** 333 bis 342 (1971).
Reiß, J.: Die Schimmelpilze des Brotes. Zbl. Bakt. II **128,** 685—728 (1973).
Reiß, J.: Mycotoxine, Giftstoffe von Kleinpilzen. Biologie in unserer Zeit **6,** 169—174 (1976).
Reiß, J.: Scanning electron microscopy of moulded bread. Mikroskopie (1977, im Druck).

Verfasser: Dr. Jürgen Reiß, Dürerstr. 24, 6550 Bad Kreuznach.

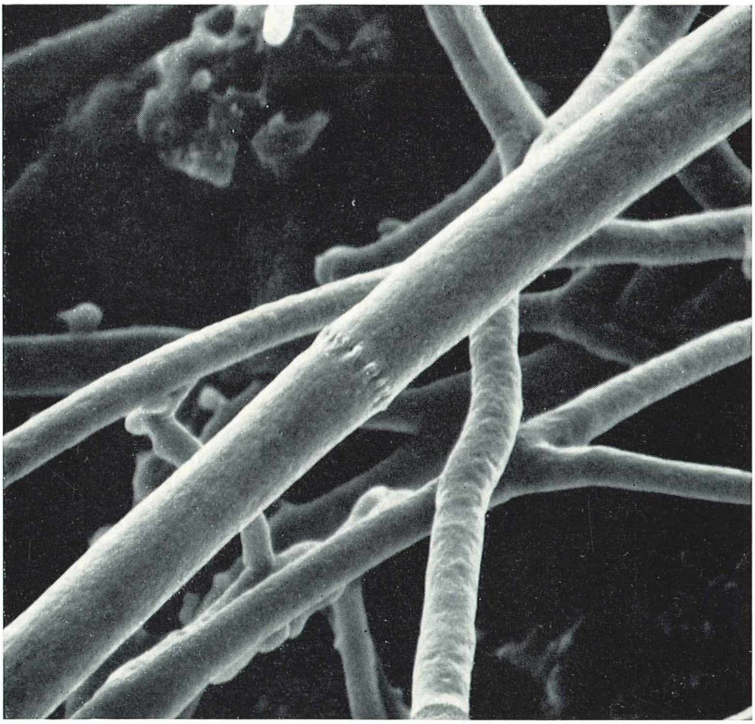


Bild 11: *Neurospora crassa* (Rasterelektronenmikroskop). Ausschnitt aus dem Mycelgeflecht. Bei der vorderen Hyphe ist eine Querwand zu erkennen.

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

Rudolf Drews

Randpartie eines Moosblättchens im Farb-Differential-Interferenzkontrast

Jedes mikroskopische Objekt, das im Durchlicht sichtbar sein soll, muß natürlichen Kontrast besitzen oder künstlich kontrastiert werden. Künstlichen Kontrast erzielt man durch geeignete Einschlußmittel, die den Brechungsunterschied zwischen Objekt und Medium hervorheben, durch Anfärbung oder durch besondere optische Verfahren. Dunkelfeld, Phasenkontrast und Interferenzkontrast sind in dieser Reihenfolge entwickelte Wege zur Sichtbarmachung ungefärbter transparenter mikroskopischer Objekte. Polarisationsoptische Methoden haben zudem die Welt der Interferenzfarben in der Mikroskopie erschlossen.

Um das Farbbild des Moosblättchens zu verstehen, muß man sich einige polarisationsoptische Tatsachen bewußtmachen, was hier aber nur in aller Kürze geschehen kann. Zum tieferen Verständnis sei auf den Literaturanhang verwiesen.

Ein doppelbrechender (anisotroper) Körper ist so charakterisiert, daß er auf ihn einfallendes Licht in zwei Wellenzüge zerlegt, deren Schwingungsebenen senkrecht aufeinander stehen. (Im Hinblick auf diesen Körper sind die Brechungsindizes dieser beiden Strahlen unterschiedlich; der des einen nämlich — des „außerordentlichen" — ist abhängig vom Einfallswinkel des Lichtes auf den Körper. Nur in der sog. optischen Achse sind die Brechungsindizes der beiden Strahlen gleich.)

Ist nun das auf den Körper einfallende Licht durch einen Polarisator linear polarisiert, und schwingt dieses Licht nicht parallel zu einer der beiden möglichen senkrecht aufeinander stehenden Schwingungsrichtungen im doppelbrechenden Körper, so verläßt ihn dieses Licht wiederum in zwei mit ihren Schwingungsebenen senkrecht aufeinander stehenden Wellenzügen. Zwischen beiden besteht aber nun eine Phasendifferenz (Gangunterschied). Sie ist abhängig von der Dicke des Objektes und von dem größt- und kleinstmöglichen Brechungsindex. Beide Wellenzüge vereinen sich zu einer einzigen Wellenbewegung. Beträgt der Gangunterschied eine halbe Wellenlänge, resultiert linear polarisiertes Licht, das im Vergleich zu dem, das den Polarisator verläßt, in seiner Schwingungsebene um 90° gedreht ist. Dieses Licht wird von einem Analysator, der sich in Kreuzstellung zum Polarisator befindet, vollständig durchgelassen. Bei Gangunterschieden von einer oder dem n-fachen einer ganzen Wellenlänge erfolgt Auslöschung, bei Gangunterschieden zwischen 0 und 1/2 Wellenlänge ergeben sich verschiedene Grade der Aufhellung.

Bei der Verwendung von nicht monochromatischem, sondern weißem Licht werden nun auf Grund der verschiedenen Wellenlängen der verschiedenen Lichtanteile des weißen Lichtes nur jeweils bestimmte Lichtqualitäten ganz oder teilweise gelöscht. Das Mischlicht des durch den Analysator hindurchgetretenen Restes ergibt die Farben, in dem ein anisotroper Körper im mikroskopischen Bild erscheint. Beim Gangunterschied von einer Welle für das monochromatische Gelb resultiert so rotes Licht. Dieses erzeugt man z. B. für besondere Effekte auch künstlich, indem man ein geeignetes Plättchen (Rot I. Ordnung) in den Strahlengang zwischen die gekreuzten Polarisatoren bringt.

Liegt über einem doppelbrechenden Körper noch ein zweiter, so addieren oder subtrahieren sich die Doppelbrechungen. Bei Verwendung eines λ-Plättchens und bei Kreuzstellung des Analysators nehmen nunmehr über einem roten Untergrund doppelbrechende Körper je nach ihrer Orientierung z. B. gelbe oder blaue Farben an. Da diese Interferenzfarben auch von der Dicke des Objektes abhängig sind und da sich damit Phasendifferenzen (Gangunterschiede) ändern, können alle erdenklichen Farben entstehen.

Die Zellulosewände der Pflanzenzellen sind ein Beispiel für einen doppelbrechenden Körper. Wieso, das erklärt ein Überblick über Entstehung und Bau einer Zellwand:

Lichtmikroskopisch läßt sich bei manchen Objekten leicht eine Schichtung erkennen: eine Mittellamelle, die auf jeder Seite von einer weiteren Lamelle begrenzt wird. Die Mittellamelle entsteht aus der sog. Zellplatte, einem Verschmelzungsprodukt von mit Zellwandsubstanz beladenen Bläschen (Golgi-Vesikel). Diese fließen bei der Zellteilung im Bereich der Äquatorialplatte zusammen, wobei sich die in ihrem Innern befindlichen makromolekularen Substanzen zum definitiven Protopektingerüst zusammenlagern. Hierbei werden die Moleküle der Polygalakturonsäure und ähnlicher saurer Polysaccharide durch Ca^{2+}- und Mg^{2+}-Ionenbrücken locker zu einem *ungeordneten* Gerüst zusammengehalten. Diese Mittellamelle ist nicht doppelbrechend. Sie erscheint im Bilde an manchen Stellen als Mittellinie in der Zellwand. An diese Mittellamelle werden von den Protoplasten beider Tochterzellen an jeder Seite weitere Schichten angelagert. Ihre Grundsubstanz besteht aus Hemizellulose (= Cellulosanen), ebenfalls Polysacchariden bestimmter Zusammensetzung. In diese Grundmasse (Matrix) sind Mikrofibrillen aus Zellulose eingelagert. In der jungen Zellwand (Primärwand) liegen sie noch relativ wirr durcheinander (Streuungstextur), in den späteren lamellenartigen Wandverdickungen (Sekundärwand) nehmen sie dagegen eine Parallelordnung ein (Parallelstruktur). Die Streichrichtung der Fibrillen ist von Lamelle zu Lamelle unterschiedlich („Sperrholzprinzip"). In den Mikrofibrillen treten die Zellulosemoleküle zu kristallinen und parakristallinen Einheiten zusammen. Da Doppelbrechung u. a. durch *geordnete* Struktur kleiner nicht doppelbrechender Teilchen zustande kommt (Formdoppelbrechung) oder durch Aufbau der Substanz aus bestimmten Kristallgittern (Eigendoppelbrechung), sind diese Schichten doppelbrechend.

Die bisherigen Erklärungen reichen zur Deutung des Bildes, z. B. der reliefartig erscheinenden Chloroplasten, noch nicht aus. Für diese Art der Kontrastierung leistet das DIK-Verfahren (Differentialinterferenzkontrast) gute Dienste. Beim Moosblättchen wurde es mit polarisationsoptischen Erscheinungen kombiniert.

Im DIK-Verfahren wird durch ein besonders verklebtes Doppelprisma aus Quarz oder Kalkspat (Wollastonprisma) ein linear polarisierter Lichtstrahl in zwei Strahlen aufgespalten. Beide entwerfen ein Objekt-Bild (Bildverdoppelung). Die Trennung dieser beiden Bilder ist aber so schwach, daß sie unter der Auflösungsgrenze des Mikroskopes liegt (differentielle Bildaufspaltung). Durch das Objekt erhalten beide Strahlen einen Gangunterschied. In einem 2. Prisma über dem Objektiv werden beide Strahlen miteinander vereinigt, und im Analysator kommt es zur Interferenz der Strahlen bzw. der Bilder.

Hierbei werden Gangunterschiede als Helligkeitsunterschiede oder als Farben sichtbar gemacht. In der Zeissschen Anordnung, die auf Nomarsky zurückgeht, 1967 zum ersten Male zur Verfügung stand und heute in etwas modifizierter Form im Einsatz ist, wird zunächst auf Kontrastierung durch Farben verzichtet. Da sich mit dem zweiten Wollastonprisma Gangunterschiede zwischen den beiden Strahlen auch ohne Objekt erzeugen lassen, resultieren daraus je nach Stellung des Prismas verschiedene Helligkeitsstufen des Untergrundes. Bei Vorhandensein eines Objektes kann dieses im Hellfeld-, Dunkelfeld- oder im Reliefkontrast dargestellt werden. Durch Verstärkung der Gangunterschiede, z. B. durch Einlegen eines λ-Plättchens zwischen Polarisator und Analysator, können Helldunkelkontraste in Farbkontraste verwandelt werden. So erscheint z. B. über farbigem Untergrund die eine Kante eines Phasenobjektes rot, die andere gegenüberliegende blau.

Helldunkel- oder Farbkontrast im DIK-Verfahren entsteht nur, wenn der Brechungsindex des Objektes sich von dem seiner Umgebung unterscheidet oder wenn bei gleichem Brechungsindex Dickenunterschiede vorliegen. Da man bei der mikroskopischen Beobachtung nicht beides voneinander trennen kann, lassen sich auf Grund des Reliefcharakters eines Bildes keine Aussagen über räumliche Verhältnisse des Objektes machen, wie man es je nach Licht- und Schattenwirkung eines einseitig beleuchteten Körpers normalerweise gewohnt ist. Da aber beim DIK-Verfahren Umrisse richtig wiedergegeben werden und die Auflösung sehr hoch ist, bringt es doch viele Vorteile in der mikroskopischen Beobachtung. Die nicht-doppelbrechenden Chloroplasten heben sich gut hervor; hier und da ist eine Chloroplastenteilung zu erkennen, selbst die körnige Innenstruktur (Grana) erscheint im Bilde.

Wenn das Objekt selbst nicht isotrop (wie hier die Chloroplasten), sondern anisotrop ist (Zellwände), so überlagern sich die Erscheinungen des DIK-Verfahrens mit denen des Polarisationsmikroskopes. Farbenprächtige Bilder mit z. T. plastischer Darstellung der Teile sind das Resultat.

Literaturhinweise:

1. Zeiss-Sonderdruck, S. 41—210. 2-5-d/1975.
2. *Gerlach, D.:* Das Lichtmikroskop. Thieme; Stuttgart. 1976.
3. *Freytag, K.:* Molekül und Welle. Salle; Frankfurt. 1962.
4. *Nultsch, W.:* Allgemeine Botanik. Thieme; Stuttgart. 1974.
5. *Mohr, H.:* Pflanzenphysiologie. Springer; Berlin, Heidelberg, New York. 1971.

Verfasser: Rudolf Drews, Homburgstr. 11, 1 Berlin 49.

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

Peter Rietschel

Fundgrube Feinschill

I. Einführung

Wer als Naturfreund die Gestade des Mittelmeeres aufsucht, wählt hier die felsigen Küsten, um unter Wasser die Vielfalt des Lebens zu schauen. Der reine Sandstrand, Hauptanziehungspunkt der sonnenbadenden Massen, scheint ihm wenig zu bieten. Und dennoch kann auch er uns zur Fundgrube größten Formenreichtums werden! Voraussetzung ist freilich reiches Tierleben weiter draußen, mag es für uns auch nicht unmittelbar erreichbar sein. Wo viele Tiere leben, sterben auch viele und weitaus die meisten schon lange vor der Reife. Hiervon zeugen Hartgebilde, die von den Wellen fortgetragen und an anderem Orte, auch am Strand, abgesetzt werden. Zu den Gehäusen einzelliger Wurzelfüßer (Foraminiferen) gesellen sich hier die Schälchen von Schnecken, Muscheln, Armfüßern und Muschelkrebsen, Kalkplatten von Seepokken, Kalkgehäuse von Moostierchen-Stökken, Kalkröhren von Röhrenwürmern (Polychaeten), die mannigfachen Kalkbildungen von Stachelhäutern. Schuppen und Knochen von Fischen, Schwammnadeln, dazu abgestorbene Kalk-Rotalgen und manch andere Zeugen für das Leben da draußen. Vieles davon wurde vom Spiel der Wellen abgeschliffen oder zertrümmert; dazwischen sind aber nicht wenige Hartgebilde noch völlig unversehrt. Es wäre freilich ein recht aussichtsloses Unterfangen, beliebigen Sand vom Strand nach ihnen zu durchsuchen (vgl. Stecknadel im Heuhaufen!); die Wellen selbst erleichtern uns das Sammeln: Sie reichern diesen „Feinschill" am Strande dort an, wo sie jeweils enden. Beim Zurückfließen nehmen sie allerdings einen Teil des Treibgutes wieder mit, doch bleibt ein für unseren Bedarf noch überreicher Saum von Feinschill zurück.

Dieser Vorgang der Anlandung von Feinschill läßt sich am Mittelmeer gut beobachten: Eine Foraminifere von zwei bis drei Millimeter Größe und von schön korallenroter Farbe kommt uns dabei zu Hilfe: *Miniacina miniacea*. Sie ist im Feinschill meist so reichlich vertreten, daß wir den Strandsaum schon an seiner Färbung mit bloßem Auge wahrnehmen, ja wir sehen den ankommenden Wellen zuweilen schon an, ob sie eine reiche Fracht herbeibringen oder nicht. Wir können sie ihnen schon bei Ankunft mit einem Handnetz abnehmen, bequemer und ebenso erfolgreich halten wir uns aber an die rötlichen, bogenförmigen Feinschill-Säume, die von früheren Wellen stammen. Sie befinden sich nicht jeden Tag an gleicher Stelle des Strandes, denn die Richtung der ankommenden Wellen ändert sich mit dem Wind, und offenbar sind nur die aus tierreichen Gebieten stammenden so reich an Fracht. So erwies sich der Strand eines beliebten Badeortes mit weit hinausreichendem Flachwasser als völlig steril, dafür um so reicher an abgerollten Glasscherben! Man braucht sich mit solchem unergiebigen Material nicht zu belasten, denn schon an Ort und Stelle gibt uns die zehnfache Lupe Auskunft über seine Güte. Den guten Feinschill sammeln wir mit Hilfe einer Miesmuschelschale oder eines Löffels (Strandgut) in einen Leinwandbeutel oder eine Plastiktüte. Ein halbes oder ganzes Kilo davon belastet selbst das Fluggepäck nicht über Gebühr und enthält trotzdem ein in seiner Vielfalt kaum auszuschöpfendes Material!

In der Heimat angekommen waschen wir unser aus salzigem Meerwasser kommendes Material erst einmal mit Süßwasser gründlich aus und trocknen es dann. Es ist auf unbegrenzte Zeiten haltbar; mit seiner Auswertung können wir uns daher Zeit nehmen. Zur Auslese verwenden wir jeweils nur kleine Proben von etwa einem Gramm, die wir möglichst gleichmäßig in einer Glasschale (Petrischale) von etwa zehn bis zwölf Zentimeter Durchmesser verteilen. Sie wird mit schwarzem Papier unterlegt, damit sich die einzelnen Hart-

© Alle Rechte



Bild: Feinschill vom Mittelmeer.

gebilde gut vom Untergrund abheben. Untersucht wird in auffallendem Licht. Die Kleinheit der Proben empfiehlt sich, damit sich die Gebilde nicht überdecken und ohne Wühlen entnommen werden können. Durchmustert wird bei 6- bis 10facher Vergrößerung, stärkere Optik ist wegen des zu kleinen Gesichtsfeldes ungeeignet. Unverletzte Gebilde entnehmen wir mit einem wasserbefeuchteten feinen Pinsel (Aquarell-Rotmarder Nr. 00 oder 0). Es sei davor abgeraten, das Ausgelesene schon im gleichen Arbeitsgang in die Foraminiferen-Objektträger zu sortieren. Man müßte hierzu ständig hundert oder zweihundert von ihnen geöffnet bereitstellen, ein Verstauben wäre unvermeidlich. So sammeln wir vorerst alles uns Auffallende in einen kleinen Glas- oder Kunststoff-Behälter und sortieren es erst später in die verschließbaren Foraminiferen-Objektträger. Es ist wohl selbstverständlich, daß der Rest aus der Petrischale nicht in den Vorrat zurückgeschüttet wird; man sollte ihn aber aufbewahren, denn man wird darin später noch Dinge entdecken, die man anfänglich übersah, dazu bemerkenswerte Bruchstücke, die uns neue Einblicke geben, und nicht zuletzt so massenhaft auftretende Formen, daß wir mit ihnen gerne auch anderen Freude bereiten.

Der nächste Arbeitsgang ist Ordnen und Überführen der Arten in die Foraminiferen-Objektträger (Franke-Zellen oder D-M-W-Zellen). Sie fassen kleine Formen in großer Zahl, größere in geringerer oder auch nur in Einzahl.

Nach diesen Arbeitsgängen, die unmittelbar erst einmal dem Sammeln des Materials dienten, also lediglich Vorbereitung waren, können wir mit der Untersuchung unserer Schätze beginnen, bei weit über hundert Arten aus den verschiedensten Klassen und Ordnungen des Tierreichs ein ebenso großes wie fesselndes Arbeitsfeld! Nun bedienen wir uns einer starken, etwa zwanzigfach vergrößernden Lupe oder noch besser eines binokularen Präpariermikroskopes. Auch hier arbeiten wir wieder mit auffallendem Licht. Wir können das Objekt in der Foraminiferenzelle belassen; lehrreicher ist es aber, es von allen Seiten zu betrachten. Dazu überführen wir es (wieder mit angefeuchtetem Pinsel) auf einen Objektträger, auf dem wir ein Plastilinkügelchen plattgedrückt haben. Leicht in die Knetmasse eingedrückt, behält es die gewünschte Lage bei und kann so in der üblichen Beleuchtung (von schräg links oben, vgl. Mikrokosmos **62,** 327) gezeichnet werden. Nur diese zeichnerische Durchdringung des Objektes führt zu seiner gründlichen Erfassung durch den Beobachter.

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

Die Abbildung möge dem angehenden Feinschill-Untersucher einen Vorgeschmack von der auch rein ästhetisch anziehenden Formenfülle geben, die sich ihm schon unter einer schwachen Lupe bietet. Der Seeigelstachel in der Mitte des Bildes ist genau zehn Millimeter lang, alle übrigen Gebilde sind kleiner, wobei mancher Einzeller den hoch organisierten Vielzeller an Größe übertrifft. So ist das knotige Foraminiferengehäuse *(Nodosaria)* rechts vom Seeigelstachel 3 1/3 mm lang, das links von ihm gar 4 mm. Dagegen beträgt die Länge des in Aufsicht spindelförmigen Schalenpaares des Muschelkrebschens (rechts von dem weiß punktierten Armfüßerschälchen links oben) nur wenig mehr als einen Millimeter; dabei beherbergte es einst ein Krebschen mit Gliedmaßen, Strickleiter-Nervensystem und allem, was eben zu einem Krebs gehört!

So beglückend die Beschäftigung mit dem Feinschill für den Naturfreund ist, so muß ihn doch eine Begegnung mit Sorge erfüllen: Ein nicht unbedeutender Teil der Schälchen von den meisten Stränden ist mit Schweröl behaftet. Noch findet man Nichtveröltes in genügender Zahl und notfalls lassen sich verölte Stücke mit Benzol reinigen. Alle Schalengebilde im Feinschill sind ja Zeugen einstigen Lebens, und wenn diesem Leben weiterhin durch die Ölpest ein Ende bereitet wird, wird das auch das Ende des Feinschills sein. Wie lange uns das Meer noch die Fundgrube Feinschill mit ihren wundervollen Formen bescheren wird, wissen wir nicht. Wer sie noch nutzen möchte, halte sich dran!

Verfasser: Prof. Dr. P. Rietschel, Erich-Kästner-Straße 6, 6000 Frankfurt a. M. 60.

Winke fürs Labor

Guido Georg Reinert

Der Objektrotator

Ein neuer Objekthalter zur allseitigen Betrachtung kleiner Gegenstände

Es wurde verschiedentlich versucht, Halter für Insekten, Edelsteine, Mikro-Stufen (Micromounts), Lagersteine und andere kleine Objekte, die man in verschiedenen Lagen mit einem Stereomikroskop oder einer Lupe beobachten will, zu schaffen.

In den meisten Fällen sind diese Halter so ausgebildet, daß man einen kleinen Gegenstand, z. B. ein Insekt, oder einen Kristall im Sehfeld des Mikroskops hin und her bewegen kann, um das Objekt in verschiedenen Lagen betrachten zu können. Bei diesen Haltern wird bei jeder Verstellung der Gegenstand zwar in die gewünschte Lage zur Beobachtungsrichtung gebracht, muß aber dann mit der zu betrachtenden Stelle wieder in die Mitte des Sehfeldes zurückgeführt werden, und das Mikroskop ist erneut scharf auf das Objekt einzustellen. Es sind also bei der Umlagerung des Gegenstands stets zwei bis drei Neueinstellungen von Halter und Mikroskop notwendig.

Der neue „Objektrotator" gestattet es im Gegensatz zu den bisherigen Haltern, den Gegenstand im Sehfeld des Stereo-Mikroskopes um einen fixen Punkt in der Einstellebene und optischen Achse in beliebige

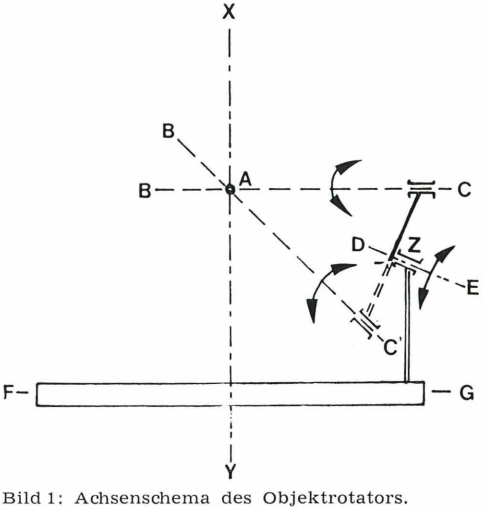


Bild 1: Achsenschema des Objektrotators.

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

Stellungen zu drehen. So kann man ohne wesentliche Verstellung des Mikroskops das Objekt in allen gewünschten Lagen betrachten.

Wie Bild 1 zeigt, kann der Gegenstand im Punke A um die Achse B—C einmal senkrecht zur optischen Achse X—Y gedreht werden. Hierdurch ist es möglich, ein Objekt dorsal, lateral rechts, ventral, lateral links und wieder dorsal in allen Zwischenlagen zu betrachten. Neigt man nun die Achse B—C durch Umschwenken um die Hilfsachse D—E, so schneidet die Achse B′—C′ die optische Achse X—Y im Punkte A nicht mehr senkrecht, sondern unter 45°. Dreht man in dieser Lage das Objekt um die Achse B′—C′, so bewegt sich der Gegenstand im Punkte A auf einem Kegelmantel, und an Stelle der dorsal-ventralen Ansicht ist es nun möglich, das Objekt dorsal-frontal zu betrachten, wobei es stets möglich ist, den Gegenstand so am Halter zu orientieren, daß der Bildpunkt A im Mittenbereich des Mikroskopsehfelds eingestellt bleibt. Die das Ganze tragende Basisplatte F—G, die die Lagerung Z der Hilfsachse D—E trägt, läßt sich um die optische Achse X—Y ebenfalls auf der Mikroskoptischplatte drehen, wodurch der Gegenstand nötigenfalls in drei Koordinaten bewegbar und dabei allseitig betrachtbar ist.

Der in seiner Funktion an Hand von Bild 1 beschriebene Objektrotator läßt sich, wie Bild 2 zeigt, an jedem besseren Stereomikroskop anbringen. Wie im Beispiel gezeigt, kann er anstelle der Tischeinlageplatte in den Kastenfuß des Stereomikroskops eingesetzt und darin auch um die optische Achse des Mikroskops gedreht werden. Die Tischeinlagenklemmschraube ermöglicht es, die gewünschte Stellung des Rotators zum Mikroskop zu fixieren.

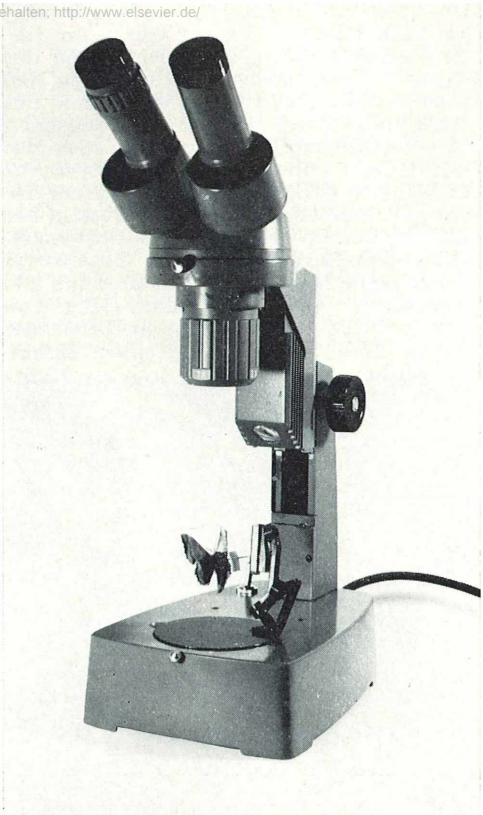
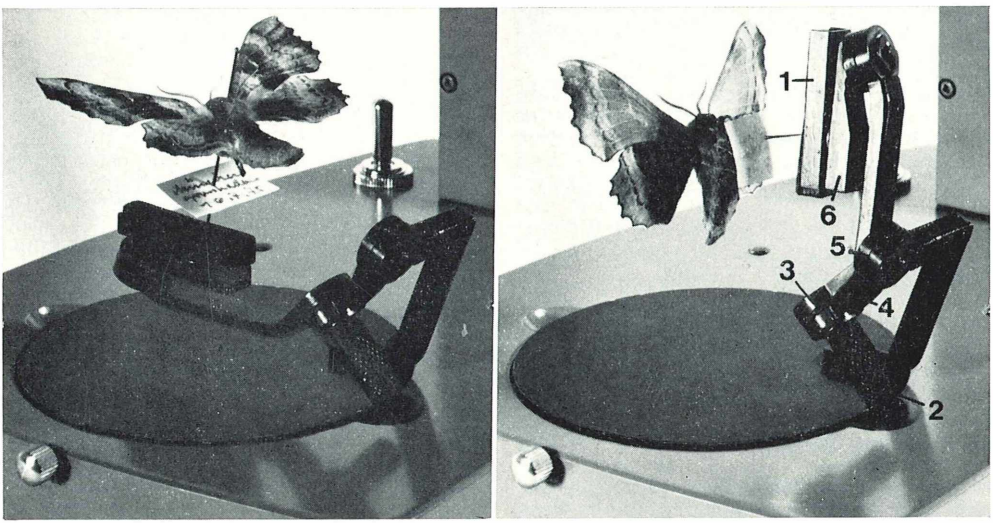


Bild 2: Der Objektrotator am Stereomikroskop.

Bild 3: Objektrotator. a in 0°-Stellung, dorsale Ansicht, b in 180°-Stellung frontale Ansicht.



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

Der Objektrotator (Bild 3 a—b) ist sehr einfach zu handhaben. Ist das Gerät am Stereomikroskop richtig ausgerichtet und der Gegenstand am Halter 1 so befestigt, daß die zu beobachtende Partie im Sehfeld des Mikroskops mittig sichtbar ist, so können die verschiedenen Seiten und Partien des Objekts betrachtet werden. Der Beobachter faßt den geriffelten Drehgriff 2 am besten mit Daumen und Zeigefinger. Man beginnt in der oberen Lage, also mit hochgeklapptem Lagerbock 3. Der Gegenstand rotiert beim Drehen des Knopfes um die waagerechte Achse und kann jetzt von oben, seitlich und von unten betrachtet werden. Will man, z. B. bei einem Insekt, den Nackenschild und die frontale Kopfpartie mit den Mandibeln nacheinander betrachten, so klappt man, ohne den Drehknopf loszulassen, den Tragarm 6 um 180° zum Lagerblock 3 um Lager 5. Dreht man nun die Achse mittels des Knopfs wie vorher, so beschreibt der Objekthalter einen Kegelmantel, dessen Spitze in der Sehfeldmitte liegt. Dabei kann man einmal senkrecht auf den Nackenschild (Bild 3 a) und nach einer Drehung von 180° frontal auf den Kopf mit den Mundwerkzeugen (Bild 3 b) sehen.

Der Objektrotator gestattet also eine praktisch Rundherumbetrachtung eines räumlichen Gegenstandes unterm Mikroskop. Er bietet dadurch eine Reihe von Anwendungsmöglichkeiten bei allen Beobachtungen mit Stereo-Lupen und Mikroskopen. Für Insektenbeobachtung steht eine schwenkbare Steckplatte, für Mineralien und Schmucksteine eine bis zu 16 mm Durchmesser fassende Haltezange und für Kleinteile ein Dreispitzenhalter zur Verfügung. Für Sonderzwecke sind jeweils entsprechende Einzweckhalterungen anpaßbar. Der Objektrotator ist an allen Stereomikroskopen mit Tischeinlagen von 80 mm Durchmesser ohne weiteres einzusetzen. Bei größeren Tischeinlagen stehen Adapterringe verschiedener Durchmesser zur Verfügung.
Das Gerät bietet also vielseitige Einsatzmöglichkeiten in allen Bereichen der Lupen- und Stereo-Mikroskopie.

Bezugsquelle: Elabat GmbH, Labor- und Apparatetechnik, Buchenstr. 3, 8011 Siegertsbrunn. Preis ca. DM 350,— + MWSt.

Verfasser: Guido Georg Reinert, Miesbacher Str. 2, 8011 Höhenkirchen.

Biologie in der Schule

Manfred Kaufmann

Vegetative und sexuelle Fortpflanzung beim Pantoffeltier Paramecium caudatum

Mit dem Pantoffeltierchen *Paramecium caudatum* steht dem Lehrer ein leicht zu haltendes Protozoon zur Verfügung, an dem sich neben der Nahrungsaufnahme und Verdauung (Stockem und Mitarbeiter, 1977) und der Variabilität (Halbach und Katzl, 1974) auch die vegetative und sexuelle Fortpflanzung demonstrieren lassen. Im Rahmen dieses Artikels sollen die Querteilung und die Konjugation als Vermehrungsformen besprochen werden. Auf die außerdem noch vorkommende Autogamie kann hier nicht näher eingegangen werden.

Material und Methoden

Paramecium caudatum läßt sich sehr leicht und ohne großen Arbeitsaufwand in einer Dauerkultur halten, wenn man einen Heuaufguß als Nahrungsgrundlage benutzt. Die Methodik der Tierbeschaffung und Anlage einer Paramecienkultur beschreiben Matthes und Wenzel (1966), Mayer (1975) und Stockem und Mitarbeiter (1977) so ausführlich, daß hier auf Einzelheiten verzichtet werden kann. Für die Beobachtung der Fortpflanzungsstadien im Unterricht müssen die folgenden Vorbereitungen getroffen werden:

1. Nährlösung

Rund eine Woche vor Beginn der Versuche setzt man die Nährlösung an. Dazu füllt man den Boden eines Einmachglases (1 Liter) 2—3 cm hoch mit kurzgeschnittenem

Heu und gießt darauf 3/4 Liter Wasser. Das Ganze wird eine Stunde im Dampfdrucktopf sterilisiert. Anschließend wird das Glas zugedeckt und zwei bis drei Tage stehengelassen. Während dieser Zeit entwickelt sich das Bakterium *Bacillus subtilis*, das im weiteren als Nahrungsgrundlage für die Pantoffeltierchen dient.
Zwei bis drei Tage vor Versuchsbeginn werden pro Schüler in einem Schnappdeckelglas 6 ml Nährlösung mit 2 ml Kulturflüssigkeit aus der vorhandenen Dauerkultur inkubiert. Danach gibt man einige Stückchen Heu aus der Nährlösung hinzu und bewahrt die Ansätze bei Zimmertemperatur im Schatten auf. Aufgrund der günstigen Umweltbedingungen erfolgt eine expotentielle Vermehrung der Parameciен, so daß sich im Unterricht zumindest in jeder zweiten Probe ein oder mehrere Teilungsstadien befinden sollten. Abweichungen von den genannten Richtzeiten können auftreten und müssen von Fall zu Fall ausprobiert werden.

2. Farbfixiergemisch

Einzelheiten der Fortpflanzungsvorgänge bei *Paramecium* lassen sich aufgrund der hohen Mobilität der Tiere und des im Leben schlecht sichtbaren Kerns nur am fixierten und gefärbten Präparat erkennen. Die Fixierung und Kernfärbung wird in einem Arbeitsgang mit 0,1% Methylgrünessigsäure (nach Mayer, 1975) vorgenommen. Dazu wird auf einem Objektträger ein Tropfen Kulturlösung, den man mit einer Pasteurpipette aus dem vorbereiteten Schnappdeckelglas entnimmt, mit der gleichen Menge an Farbfixiergemisch vereinigt und danach vorsichtig ein Deckglas aufgelegt. Nach ein bis zwei Minuten erscheinen die Zellkerne hellgrün gefärbt. Für die visuelle Beobachtung empfiehlt sich zur Erhöhung des Kontrastes die Verwendung eines Rotfilters. Letzteres ist jedoch für die Mikrofotografie nicht ratsam.
Das Farbfixiergemisch wird folgendermaßen angesetzt: 0,1 g Methylgrün werden in 99 ml destilliertem Wasser gelöst. Ruthmann (1966) rät, diese Lösung im Scheidetrichter mit Chloroform mehrere Male auszuschütteln, um meistens vorhandene Verunreinigungen durch Methylviolett zu entfernen. Danach wird zu den 99 ml Farblösung 1 ml Eisessig als Fixierungsmittel zugefügt. Das so gewonnene Gemisch färbt selektiv DNA, eignet sich aber nicht zur Herstellung von Dauerpräparaten (Mayer, 1975). Aufgrund der niedrigen Farbstoffkonzentration erübrigt sich eine Differenzierung, und auch Überfärbungen treten nicht auf.

Querteilung

Die typische Form der vegetativen Vermehrung bei den Ciliaten ist die Teilung quer zur Längsachse (Ausnahme: Peritricha). Um den Ablauf der Teilung verstehen zu können, sind einige theoretische Vorbemerkungen nötig.
Paramecium caudatum zeichnet sich durch einen obligaten Kerndualismus aus. Die Tiere enthalten einen vegetativen Makronucleus, der polyploid ist. Er dient der Steuerung der Stoffwechselvorgänge und ist im unfixierten Zustand typischerweise bohnenförmig (vgl. Bild 1). Weiterhin ist ein diploider Mikronucleus vorhanden, der

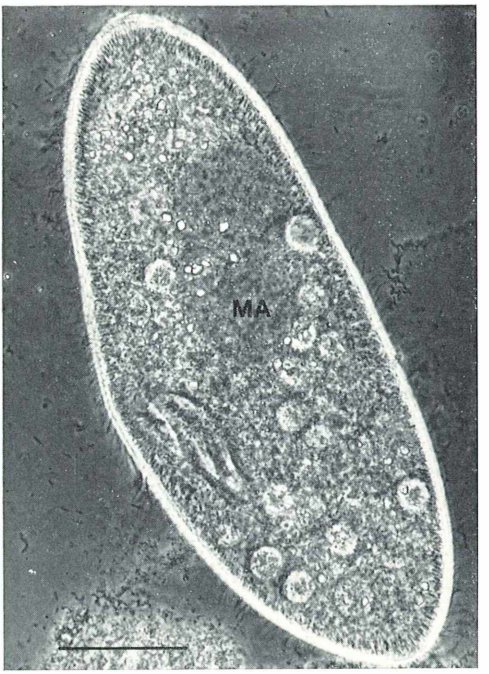
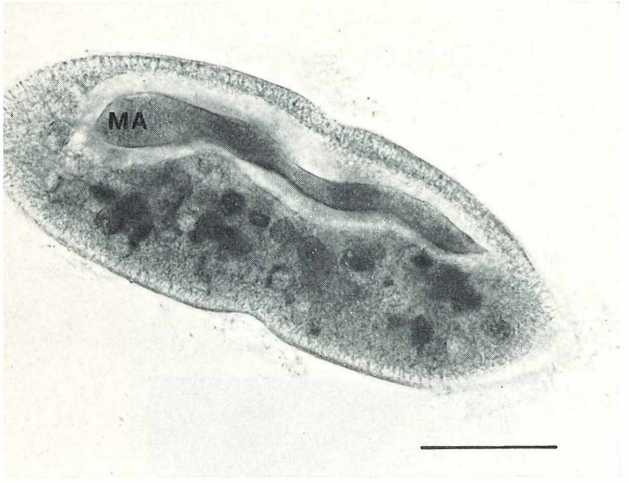
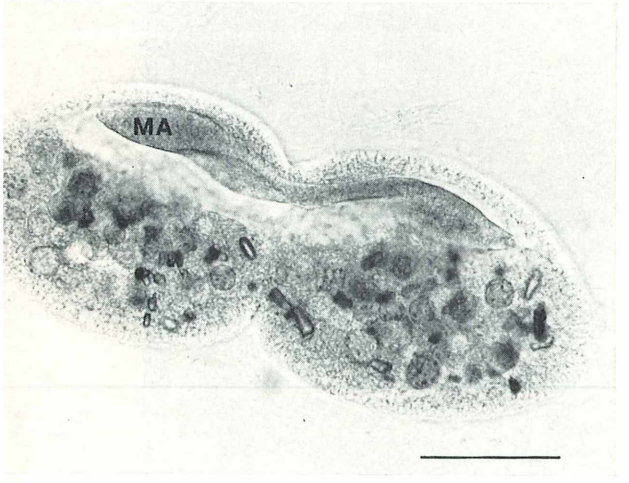


Bild 1: Lebendaufnahme von *Paramecium caudatum* (Elektronenblitz) im Phasenkontrast. *MA* Makronucleus. Maßstabslänge = 50 µm.

als generativer Kern die sexuelle Fortpflanzung ermöglicht. Tiere, die keinen Mikronucleus mehr besitzen, können sich nur noch vegetativ vermehren.
Eine Zellteilung läuft schematisch wie folgt ab: Der Mikronucleus teilt sich mitotisch und je ein Teilungsprodukt wird noch im Ausgangstier auf den Vorder- und Hinterpol verteilt. Der Makronucleus streckt sich in die Länge und wird in einem späteren Stadium in der Mitte amitotisch durchgeschnürt, so daß auch jede Tochterzelle hiervon ein Stück erhält. Außerdem muß jeweils noch ein Vorder- oder Hinterende neu gebildet werden, bevor eine endgültige Durchtrennung des Ausgangsindividu-

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







ums stattfinden kann (vgl. dazu Matthes/Wenzel, 1966, S. 11, Bild 10).
Die Gesamtdauer einer Querteilung beträgt nach Kalmus (1931) vom Einsetzen der Mitose des Mikronucleus bis zum Auftreten von zwei vollwertigen neuen Individuen rund eine Stunde. Die von außen sichtbare Durchschnürung des Zelleibes dagegen geschieht in wenigen Minuten.
Die Bilder 2 a—2 e zeigen die typischen Stadien, die während eines Querteilungsvorganges durchlaufen werden. Man orientiert sich bei der Beobachtung am besten an der Körperform und am Makronucleus. Der Mikronucleus kann bei der Verwendung von *Bacillus subtilis* als Nahrungsgrundlage nicht mit Sicherheit angesprochen werden, weil die Nahrungsvakuolen teilweise durch darin enthaltene Bakterien-DNA ebenfalls grün angefärbt werden. Durch Anzuchten mit Milch oder Liebigs Fleischextrakt könnte man dieser Schwierigkeit aus dem Wege gehen, jedoch ist die Vermehrungsrate der Paramecien hierbei wesentlich geringer (Müller, 1977). Man kann daher besser auf die Darstellung des Mikronucleus verzichten.
Im Anfangsstadium (Bild 2 a) erkennt man eine geringe Einschnürung des Zelleibes in der Mitte des Tieres und einen langgestreckten, leicht mäanderförmigen Makronucleus (MA), der sich fast über die gesamte Länge ausdehnt. Der Mikronucleus hat sich zu diesem Zeitpunkt bereits mitotisch geteilt, und jeweils ein Teilungsprodukt befindet sich in der oberen und unteren Hälfte des Tieres in der Nähe des Makronucleus. Bild 2 b zeigt fast die gleiche Kernform, nur ist die Einschnürung stärker geworden. Die Teilung schreitet weiter fort (Bilder 2 c, 2 d), jedoch durchzieht der Makronucleus weiterhin das gesamte Tier. Bild 2 e demonstriert ein *Paramecium* kurz vor Ende des Teilungsvorganges. Die beiden Tochterzellen sind nur noch über eine schmale Brücke miteinander verbunden und der Makronucleus ist durchtrennt. Bei Zimmertemperatur und Heuaufgußkultur teilen sich die Paramecien etwa ein bis zwei Mal alle 24 h (Hartmann, 1928).

Konjugation

Neben den Teilungsstadien werden sich in einigen Präparaten möglicherweise konjugierende Paramecien finden. Diese lassen sich mit Sicherheit von den Querteilungen unterscheiden, wie Bild 3 zeigt. Die Konjugation ist eine besondere Form der sexuellen Fortpflanzung der Protozoen und dient vor allem dem Genaustausch. Bild 4 zeigt stark schematisch ihren Ablauf. Die Konjuganten, die verschiedenen Paarungstypen angehören, verschmelzen in der Mundregion (Bild 4 A). Der Makronucleus

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten. Urheberrechtsschutz

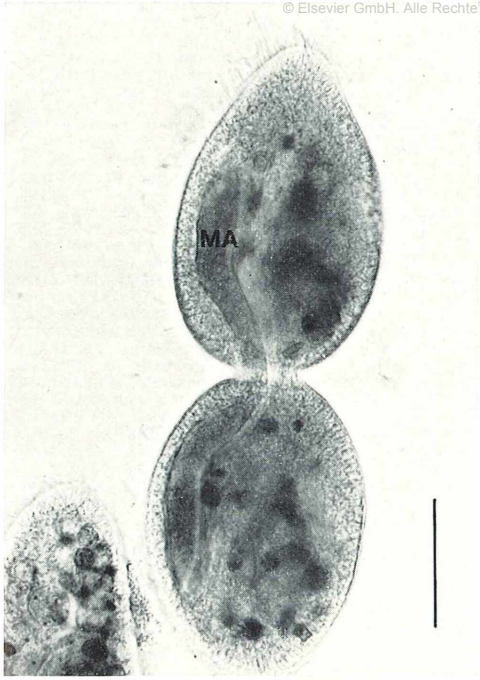
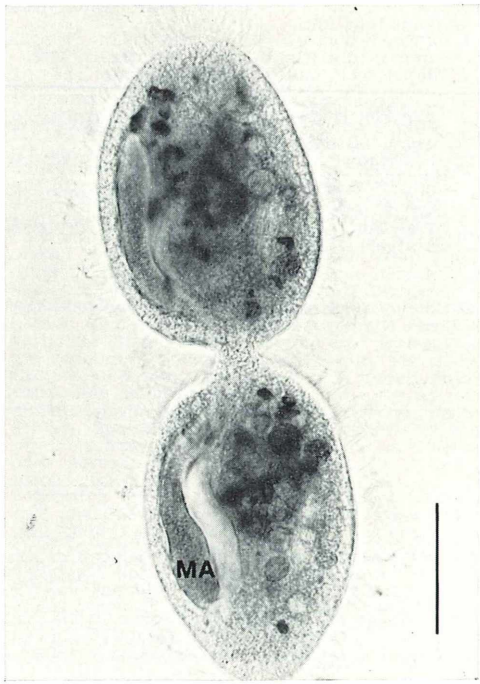


Bild 2 (Serie S. 288 und S. 289, linke Spalte): Stadien der Querteilung von *Paramecium caudatum*. Farbfixierung mit 0,1% Methylgrünessigsäure. *MA* Makronucleus. Maßstabslänge = 50 μm.



wird langsam aufgelöst und der Mikronucleus teilt sich meiotisch in vier Tochterkerne (Bild 4 B). Davon degenerieren drei, und der verbleibende haploide Kern teilt sich mitotisch in einen „männlichen" Wanderkern und einen „weiblichen" Stationärkern. Wanderkern des einen Individuums und Stationärkern des anderen verschmelzen zu einem Synkarion und vice versa (Bilder 4 C, 4 D). Danach trennen sich die Konjuganten. Das Synkarion teilt sich dreimal mitotisch. Von den dabei entstehenden acht Kernen gehen drei zugrunde, und einer wird zum definitiven Mikronucleus. Die restlichen vier Kerne sind Makronucleusanlagen. In zwei anschließenden Zellteilungen werden sie auf die Deszendenten

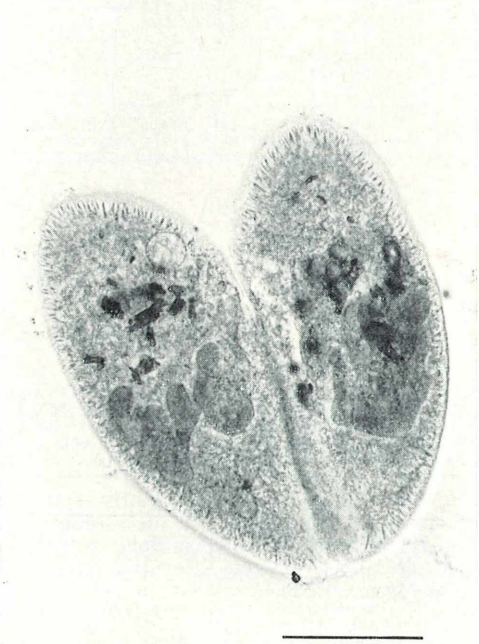


Bild 3: Konjugierende Paramecien. Farbfixierung mit 0,1% Methylgrünessigsäure. Maßstabslänge = 50 μm.

verteilt. Erst dann ist das normale Kernverhältnis (1 Makronucleus und 1 Mikronucleus) wieder hergestellt (Bild 4 E). Die Gesamtdauer der Konjugation beträgt nach Hartmann (1928) ca. 12 h. Eine Induktion der Konjugation soll durch Nahrungsmangel und Kälteeinwirkung vorgenommen werden können.

Bild 3 zeigt ein konjugierendes Paar. Im linken Konjuganten erkennt man deutlich, daß sich die Zellkerne in Teilung befinden. Ein sicheres Ansprechen, ob es sich noch um einen zerklüftenden Makronucleus oder einen sich teilenden Mikronucleus handelt, war aufgrund von fehlendem Vergleichsmaterial nicht möglich.

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

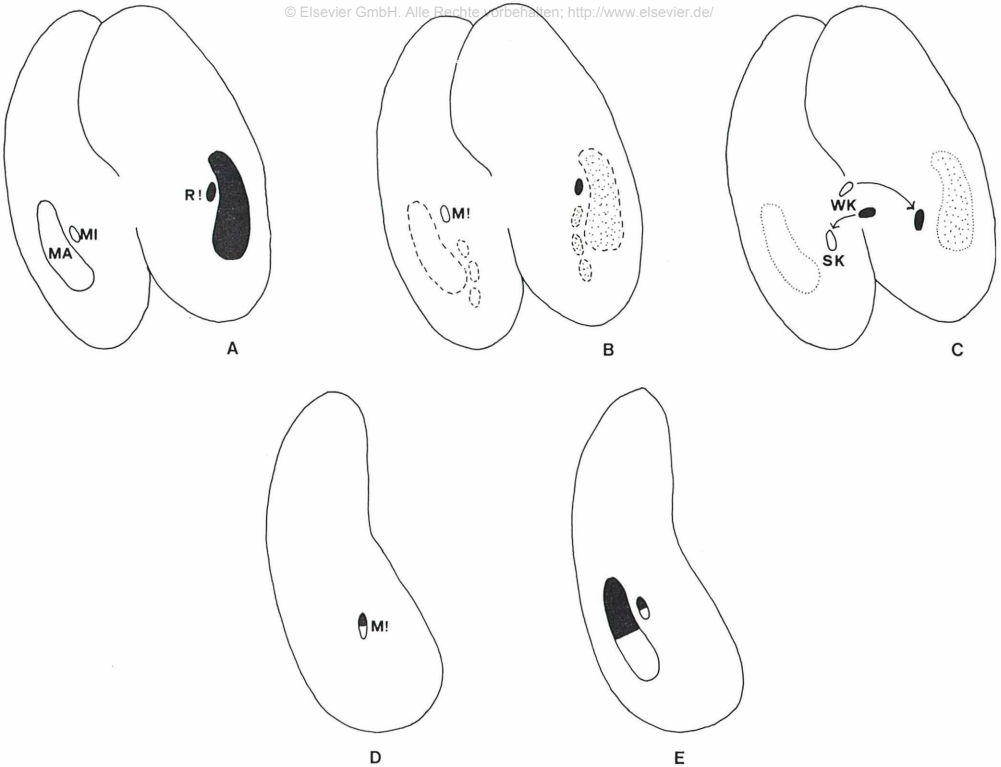


Bild 4: Schematische Darstellung der Konjugation von *Paramecium caudatum*. *MA* Makronucleus. *MI* Mikronucleus. *M!* Mitose. *R!* Meiose (Reduktionsteilung). *SK* Stationärkern. *WK* Wanderkern (nach verschiedenen Autoren).

Da die Konjugation ein relativ seltener Vorgang ist, empfiehlt sich die Anlage von Dauerpräparaten. Hinweise dazu entnehme man der einschlägigen Literatur, insbesondere Mayer (1975).

Literaturhinweise:

1. *Doflein-Reichenow:* Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena. 1954.
2. *Grell, K. G.:* Protozoologie. Berlin. 1956.
3. *Halbach, U. & F. Katzl:* Ursachen der Variabilität. Biologie in unserer Zeit. 1974. S. 58 ff.
4. *Hartmann, M.:* Praktikum der Protozoologie. Jena. 1928.
5. *Kalmus, H.:* Paramecium. Das Pantoffeltierchen. Jena. 1931.
6. *Matthes-Wenzel:* Wimpertiere. In: Einführung in die Kleinlebewelt. Stuttgart. 1966.
7. *Mayer, M.:* Kultur und Präparation von Protozoen. In: Einführung in die Kleinlebewelt. Stuttgart. 1975.
8. *Müller, M.:* Unveröffentlichte Staatsexamensarbeit. Aachen. 1977.
9. *Ruthmann, A.:* Methoden der Zellforschung. Stuttgart. 1966.
10. *Stockem* und Mitarbeiter: Mikrokosmos **66**, 1977. S. 163 ff.
11. *Westphal, A.:* Spezielle Zoologie I. Protozoa. Stuttgart. 1974.

Verfasser: Manfred Kaufmann, Esdoornstraat 39, Heerlen/Niederlande.

Bücherschau

Kater, S. B., Nicholson, C., editors: Intracellular Staining in Neurobiology (Intrazelluläre Färbemethoden in der Neurobiologie). XII + 332 Seiten mit 132 Abbildungen, davon einige farbig. Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York, 1973, DM 75,60.

Bis in die 60er Jahre unseres Jahrhunderts war es in der Neurobiologie sehr schwierig, auf zellulärer Basis anatomische Befunde mit elektrophysiologischen Ergebnissen überzeugend zu korrelieren. Einerseits gab es die schon klassischen Methoden der Neuroanatomie wie das von Camillo Golgi entwickelte und von Santiago Ramon Cajal weiterausgebaute Silberchromatverfahren und die vor allem bei Wirbellosen mit Erfolg angewandte Methylenblaumethode von Paul Ehrlich, die beide — wenn sie gelangen — je-

weils einzelne Nervenzellen mit allen ihren Ausläufern, dem Neuriten oder Axon und den Dendriten, vor ungefärbt bleibendem Hintergrund darstellten. Andererseits war es den Elektrophysiologen gelungen, mit Hilfe von Mikroelektroden, ganz feinen Metallnadeln oder feinen Glaskapillaren, die mit einem Elektrolyten gefüllt worden waren, aus der unmittelbaren Nähe oder, nach Einstechen in die Zelle, direkt von einzelnen Nervenzellen Impulse abzuleiten, die nach entsprechender Verstärkung entweder auf Tonband oder auf Filmstreifen registriert werden konnten. Jedoch konnten die Neuroanatomen über die Funktion der von ihnen dargestellten Nervenzellen nur Vermutungen anstellen, die Neurophysiologen wiederum konnten nicht mit Bestimmtheit angeben, von welchem Zelltyp sie die Impulse abgeleitet hatten, da es keine brauchbaren Methoden gab, nach einer elektrophysiologischen Untersuchung die getestete Zelle genau zu markieren. Das wurde erst möglich, nachdem es Stretton und Kravitz 1968 nach umfangreichen Versuchen ihrer Kollegen Alvarez und Furshpan durch systematisches Suchen nach geeigneten, intrazellulär applizierbaren Farbstoffen schließlich gelungen war, mit einigen, sonst zur Textilfärberei verwendeten, sogenannten Procionfarbstoffen einzelne Zellen im Bauchmark des Hummers sowohl genau zu markieren, als auch mit allen ihren Ausläufern darzustellen. Der in Wasser gelöste und mit Hilfe einer Glaskapillare in die Zellen eingebrachte Farbstoff überstand die histologische Weiterverarbeitung so gut, daß er im Fluoreszenzmikroskop auf Querschnitten auch von sehr feinen Ausläufern der injizierten Zellen nachgewiesen werden konnte. 1972 folgten Pitman, Tweedle und Cohen mit der Kobaltsulfidmethode, bei der das nach elektrophysiologischer Untersuchung einer Nervenzelle in diese eingebrachte Kobaltchlorid durch Einlegen des gesamten Ganglion oder des die Zelle enthaltenden Nervengewebes in Ammoniumsulfidlösung als schwarzes Kobaltsulfid ausgefällt wird und so — wie ein gutes Golgi-Präparat — die Zelle in ihrer Gesamtheit zeigt.

Der großen Bedeutung dieser beiden Methoden und ihrer Anwendung in der Praxis ist das hier besprochene Buch gewidmet, das auf ein zweitägiges Symposion an der Universität von Iowa im Jahre 1973 zurückgeht; aus erster Hand wird in den 20 Kapiteln, an die sich jeweils ein ausführliches Literaturverzeichnis und sehr aufschlußreiche Diskussionsbeiträge anschließen, sehr genau auf die Methodik und alle ihre möglichen Modifikationen, für Wirbellose wie für Wirbeltiere, auch für elektronenmikroskopische Untersuchungen und auf alle noch bestehenden Schwierigkeiten eingegangen. Nebenbei lernt man dabei noch etwas Neurophysiologie und kann verfolgen, wie es zu den Forschungsergebnissen, die später in den Physiologielehrbüchern stehen, kommt. Das mit zahlreichen Schwarzweißfotos, mit instruktiven Zeichnungen und mit 6 Farbtafeln hervorragend ausgestattete Buch kann jedem, der sich mit der Anatomie oder Physiologie des Nervensystems und seiner Bestandteile beschäftigt, nur empfohlen werden.

Alexander Pareto

Kleine Mitteilungen

Überblick über verschiedene Verfahren, pflanzliche Objekte durchsichtig zu machen

Im allgemeinen bezeichnet man als durchsichtig machende Substanzen Stoffe, in denen Einbettungsmedien löslich sind, bzw. Flüssigkeiten mit hohem Brechungsindex; in erweitertem Sinn kann man auch Stoffe dazu zählen, deren durchsichtig machende Wirkung darauf beruht, daß bestimmte Gewebebestandteile wie z. B. Protoplasma selektiv aufgelöst werden. Bei einem durchsichtig gemachten pflanzlichen Objekt heben sich dann ein bis mehrere Zelltypen wegen ihrer spezifischen chemischen oder physikalischen Eigenschaften besonders heraus, meistens verholzte Elemente wie Xylem und Sklereiden, die besonders widerstandsfähig sind. Durch geeignete Methoden lassen sich auch andere interessierende Strukturen wie Kristalle, verkieselte Zellen, tanninreiche Idioblasten, Trichome, Milchröhren, Spaltöffnungen oder Zellkerne (bei Embryonen) hervorheben. Es kann frisches, fixiertes oder getrocknetes Material verarbeitet werden, jedoch ist Formolfixierung wegen seiner vernetzenden Wirkung auf Proteine meist ungeeignet, das Protoplasma wird dadurch schwer löslich. Ebenso entstehen durch Reaktion von Formaldehyd mit pflanzlichen Phenolen, insbesondere kondensierten Tanninen, schwer herauzulösende Polymere. Daher ist Formolfixierung nur angezeigt, wenn die Tannine erhalten bleiben sollen, im übrigen empfiehlt sich Fixierung in 70%igem Äthanol oder in Carnoy. Besonders tanninreiches Material sollte 1—5 Tage in mehrfach gewechseltem, warmem, leicht angesäuertem 70%igen Äthanol fixiert werden, um möglichst viel Tannin zu extrahieren. Das ist besonders bei zartem Material wichtig, das eine nachfolgende Bleichung nicht verträgt. Ein genaues Zurechtschneiden und Kennzeichnen der Objekte ist wichtig, insbesondere, wenn natürliche Markierungs- und Orientierungspunkte fehlen. Haare und andere Epidermisanhänge sollten, soweit sie nicht von besonderem Interesse sind, vorher entfernt werden, wie auch überflüssige Blätter. Störendes Protoplasma läßt sich durch dreitägiges Behandeln der Objekte mit 5%iger NaOH- oder KOH-Lösung bei 40° C entfernen; bei sehr stark pigmentiertem Material sollte diese Lösung nicht mit H_2O dest., sondern mit 50%igem Äthanol angesetzt werden. Das Protoplasma läßt sich auch durch Behandlung mit Säuren, die jedoch meist zu heftig wirken, entfernen. Papain, eine natürlich vorkommende Protease, löst NaOH-resistentes Protein auf; diese milde Methode versagt jedoch bei den sehr stark tanninhaltigen Blüten von *Syzygium*, einer Myrtacee. Die bei der Alkalibehandlung entstandenen phenolischen Pigmente lassen sich zumindest teilweise — eventuell sogar ganz — durch wiederholtes Waschen mit warmem Wasser, warmem, 70%igem Äthanol und warmem, 90%igem Äthanol entfernen. Nach der Alkalibehandlung können auch störende Calciumoxalatkristalle durch möglichst kurzes Einlegen der Objekte in warme, verdünnte HCl-Lösung (10%ige HCl, bei 40° C 2 Stunden) entfernt werden. Wenn es dagegen auf die Verteilung der Kristalle in durchsichtig gemachtem Material ankommt, muß die

Behandlung mit NaOH oder KOH möglichst kurz sein, weil dadurch und durch anwesendes Äthanol die Kristalle angegriffen werden. Hier empfiehlt sich Papain. Die als Bleichmittel zur Entfernung der dunklen Pigmente benutzten Substanzen wie Wasserstoffsuperoxid, reiner Sauerstoff, Chromtrioxid, Hypochloritlösung, Chlor oder angesäuerte Natriumchloritlösung haben fast alle den Nachteil, daß sie Cellulose und Lignin auflösen können, und sind daher bei zarten Geweben nur mit äußerster Vorsicht anzuwenden. Das gilt insbesondere für jene Bleichmittel, die in saurem Milieu arbeiten. Wichtig ist auch, daß das Bleichmittel schnell genug eindringt, um ganz tief im Gewebe gelegene Pigmente zu zerstören, bevor die außen befindlichen Pflanzenteile infolge der starken Oxidation zerbröckeln. Daher empfiehlt es sich, das zu bleichende Gewebe vor dem eigentlichen Bleichvorgang mit dem Bleichmittel zu durchtränken, z. B. mit 20%igem H_2O_2 über Nacht im Eisschrank, und die Reaktion dann bei Zimmertemperatur im alkalischen Milieu ablaufen zu lassen. Chromtrioxid als Bleichmittel muß sehr gut ausgewaschen werden, um die in-situ-Bildung grüner Chromionen zu verhindern. Natriumdithionit (NaS_2O_4) hat als konzentrierte Lösung den Vorteil, in neutralem Milieu zu bleichen, so daß die Cellulose kaum hydrolysiert wird; leider lassen sich damit nicht alle Pigmente entfernen. Wenn Kristalle untersucht werden sollen, sind H_2O_2 und NaS_2O_4 besonders geeignet, da sie diese nicht angreifen. Die Cellulosewände der so vorbehandelten Objekte werden nach Durchtränken mit einer Substanz von ungefähr gleichem Brechungsindex durchsichtig, so daß verholzte Elemente, Kristalle und Pigmentablagerungen sichtbar werden. Dazu wird das Material entweder nach Entwässern über die aufsteigende Alkoholreihe in einem der üblichen Mittel wie z. B. Xylol, Chloroform, Methylbenzoat, Nelkenöl oder Zedernöl aufgehellt oder direkt in Milchsäure, Phenol, Chloralhydrat oder Mischungen aus diesen dreien eingeschlossen. Die letztgenannten Substanzen sind sehr beliebt, weil man die Objekte darin sofort, d. h. ohne langes Entwässern, einschließen kann. Die Protoplasten werden darin allmählich aufgelöst, insbesondere nach Säurezusatz. Durch Erwärmen läßt sich das Durchsichtigwerden beschleunigen. Jedoch können dabei durch phenolische Gewebebestandteile Verfärbungen bewirkt werden, worauf man bei phenolhaltigen Einschlußmedien besonders achten muß. Nach Verfärbung müssen die Objekte wieder ausgewaschen, gebleicht und neu durchtränkt werden. Daher muß man auch das Gewebe nach Fixierung in formaldehydhaltigen Lösungen sehr gut auswaschen, wenn es mit phenolhaltigen Substanzgemischen durchsichtig gemacht werden soll. Herrs „4½-Gemisch" aus Milchsäure, Chloralhydrat, Phenol, Nelkenöl und Xylol ist daher in seinem Anwendungsbereich beschränkt. Diese „Schnellverfahren" sind im allgemeinen nur für zarte, nicht tanninhaltige Objekte, z. B. krautige Sprosse geeignet. Nach Alkalibehandlung und Bleichen zeigen die Gewebe häufig ein verändertes Färbeverhalten; meist ist es dann schwierig, Lignin und Cellulose färberisch zu differenzieren. Ohne vorausgehendes Bleichen ist für Übersichtspräparate 24—48stündiges Färben in alkoholischer Safraninlösung zu empfehlen, woran längeres Differenzieren in 95%igem Äthanol angeschlossen wird. Untersucht wird nach dem Entwässern in Xylol, das wegen seiner härtenden Eigenschaften auch nachfolgende Präparation von sehr zarten Objekten ermöglicht. Lignin kann in durchsichtig gemachten Pflanzengeweben auch durch Phloroglucin-HCl in angesäuertem Methylbenzoat oder angesäuertem Chloralhydrat-Phenol dargestellt werden oder mit Thiobarbitursäure in Milchsäure oder Xylol-Äthanol; letztere Reaktion liefert meist jedoch nur eine schwache Färbung. Phloroglucin-HCl und Thiobarbitursäure reagieren mit Aldehydgruppen im Lignin, die Färbung fällt daher nach Alkalibehandlung schwächer aus und mißlingt nach oxidativem Bleichen. Nach Bleichen mit Chlor kann das Material mit gesättigter Natriumsulfitlösung durchtränkt werden, wodurch Lignin rosarot gefärbt wird; eingeschlossen wird dann in einem alkalischen Medium, z. B. Natriumlactat, worin sich die Färbung einigermaßen hält. Das Phloem läßt sich bisher schwer darstellen, z. B. durch Polarisationsmikroskopie, durch Färbung mit Anilinblau mit eventuell anschließender Betrachtung im Fluoreszenzmikroskop, jedoch befriedigen diese Methoden nicht bei sperrigen Objekten.

Gardner, R. O.: An overview of botanical clearing technique. Stain Techn. **50**, 99—105 (1975).

Alexander Pareto

Bekanntmachungen

Arbeitsprogramm der Mikrobiologischen Vereinigung Hamburg

Unsere nächsten Arbeitsabende sind am:

21. 10. 1977 Dr. Holger Penzhorn: „Alsterplankton, Anregungen für den Amateur-Mikroskopiker"
18. 11. 1977 Max Blädtke: Nahaufnahmen aus der Tier- und Pflanzenwelt"
16. 12. 1977 Dr. Georg Rosenfeldt: „Mikrochemische Nachweise"

im Gymnasium Hamburg-Meiendorf, Schierenberg 60.
Beginn der Vorträge: 20.00 Uhr.
An den genannten Abenden wird von 18.00—19.30 Uhr auch ein Praktikum für Anfänger und Fortgeschrittene durchgeführt.
Gäste sind willkommen!
Anschrift der Geschäftsstelle:
Alfred Jentzen, Sülldorfer Knick 79b, 2000 Hamburg 55.

Bayerische Landesanstalt für Wasserforschung München
(Vorm. Bayer. Biologische Versuchsanstalt)

Vom 17. bis 21. Oktober 1977 findet ein Abwasserbiologischer Fortbildungskurs statt.
Anmeldungen zu diesem Kurs bis spätestens 7. 10. 1977 an die Bayerische Landesanstalt für Wasserforschung, Kaulbachstraße 37, 8000 München 22. Kursgebühren DM 200,—.

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

E 20877 E

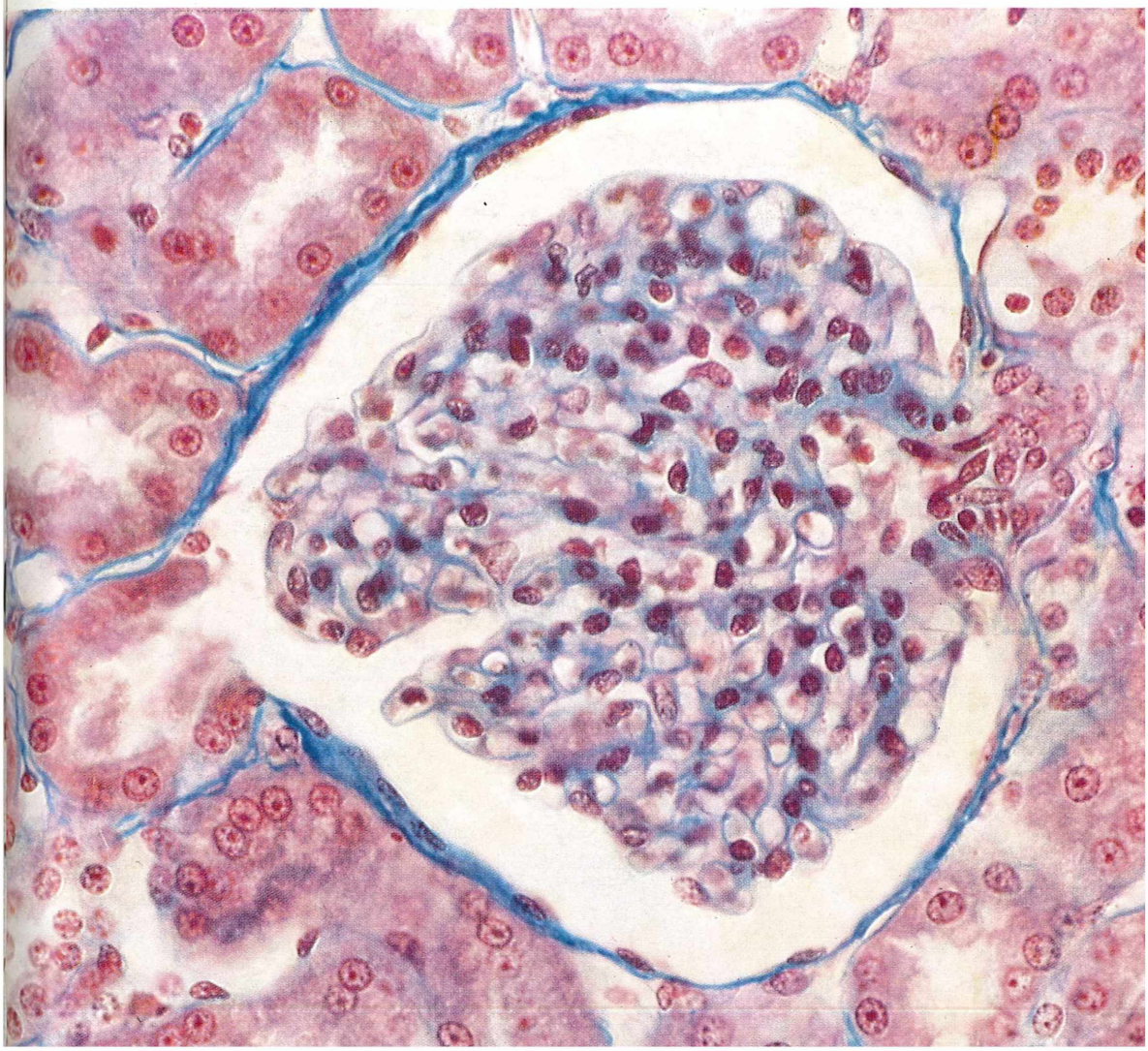
MIKROKOSMOS

66. Jahrgang · Heft 10/Oktober 1977

Eine Zeitschrift aus dem Kosmos-Verlag

ISSN 0026-3680 66. 1977, Nr. 10, S. 293–324

Nierenkörperchen



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

Peter Burwitz

Eine sonderbare „Koloniebildung" des Rädertieres Philodina megalotrocha

Einige bdelloide Rädertiere[1] neigen dazu, sich zu Tiergesellschaften von Individuen gleicher Art zusammenzuschließen. Neben anderen Rädertieren, die Kolonien bilden, gibt es auch einige, die in einem gemeinsame Nest leben, wie z. B. *Ptygura tihanyensis* (Wulfert 1969).

Nun kann es vorkommen, daß das bdelloide Rädertier *Philodina megalotrocha* koloniebildende Rotatorien aufsucht und dort als Kommensalist[2] lebt, so z. B. auf *Ptygura*- und *Collotheca*-Arten (Varga 1937). Neben diesen werden auch *Asellus aquaticus* und *Lophopus crystallinus* besiedelt (Bartoš 1945; Pittock 1894).

Während einer im Sommer des Jahres 1976 erfolgten Auswertung von Objektträger-Exponaten zu Besiedelungsversuchen im Kühlwasser-Auslaufkanal eines Großkraftwerkes am Untermain konnte ein epizoisches[3] Verhalten von *Philodina megalotrocha* fotografisch festgehalten werden. Dieses weitverbreitete Rädertier, das sonst auch häufig schwimmend beobachtet werden kann, besiedelte im Beobachtungszeitraum die ausgelegten Objektträger in Massen.

Das Foto zeigt sechs Individuen dieser Art an der Stielverzweigung des Wimpertiers *Epistylis hentscheli* angeheftet, wobei das

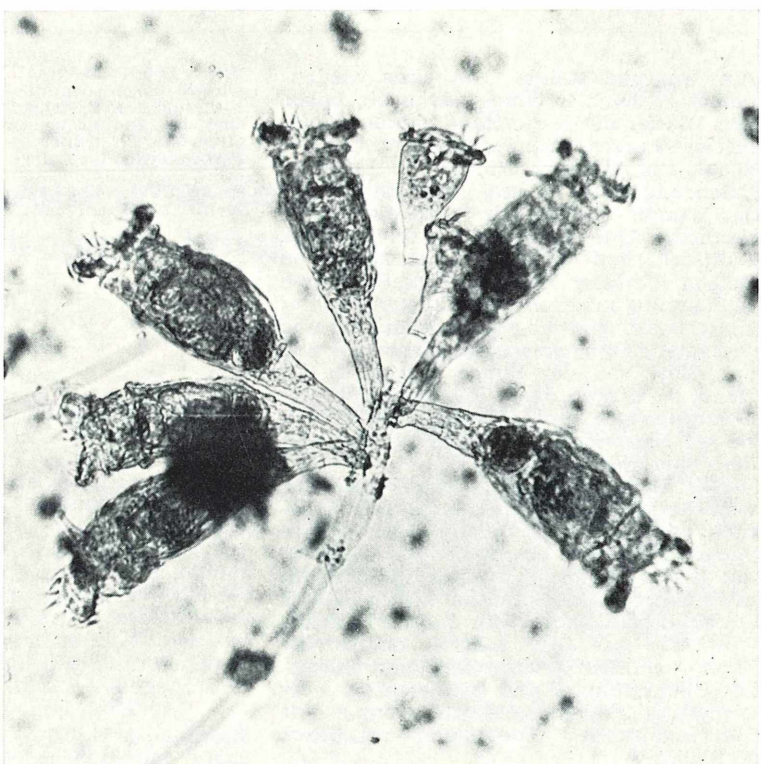


Bild: Sechs Individuen von *Philodina megalotrocha*, angeheftet an der Stielverzweigung des Wimpertiers *Epistylis hentscheli*.

Das Inhaltsverzeichnis finden Sie in diesem Heft auf S. 324

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

Strudelverhalten der beiden Wirtsindividuen in keiner Weise beeinträchtigt scheint. Bei flüchtiger Betrachtung täuscht das Aussehen dieser Tiergemeinschaft eine Koloniebildung vor, die in dieser Anordnung den Vorteil des Kommensalismus für diese Rädertierart bietet.

Erläuterungen:

[1] bdelloide Rädertiere: Ordnung der Egelrädertiere, bewegen sich spannerraupenartig.
[2] Kommensalismus: Zusammenleben von Tieren zwecks Mitfressen, ohne sich gegenseitig zu schädigen.
[3] epizoisch: auf Tieren aufsitzend.

Literaturhinweise:

Bartos, E.: On the Bohemian epizoically-living Bdelloidea. — Zvláštní otisk ze Sborníku Přírodovědeckého klubu v Brně za r. roč. XXVI: 13 bis 19, 1944—45.
Budde, E.: Die parasitischen Rädertiere mit besonderer Berücksichtigung der in der Umgegend von Minden i. W. beobachteten Arten. — Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere. 3. Band, 5. Heft: 707—784, Berlin; 1925.
Donner, J.: Ordnung Bdelloidea. — Bestimmungsbücher zur Bodenfauna Europas. Lieferung 6: 209, Berlin; 1964.
Pittock, G. M.: Rotifer-hunting in Minster Marches, Thanet. — Science gossip 1.: 1894.
Varga, L.: Die Rotatorien des Tihanyer Belsö Tô. — Arbeiten der 1. Abteilung des ungarischen Forschungsinstitutes. IX: 154—202, Tihany; 1937.
Voigt, M.: Rotatoria, die Rädertiere Mitteleuropas. — Text- und Tafelband, Berlin; 1957.
Wulfert, K.: Rädertiere (Rotatoria). — Neue Brehm-Bücherei: 85—89, Wittenberg; 1969.

Verfasser: Dipl.-Biol. Peter Burwitz, Forschungsinstitut Senckenberg, Senckenberganlage 25, 6000 Frankfurt/M.

Werner Negretti

Warum kann man sich an Gräsern schneiden?

Sichtbar gemacht am Knäuelgras (Dactylis aschersoniana)

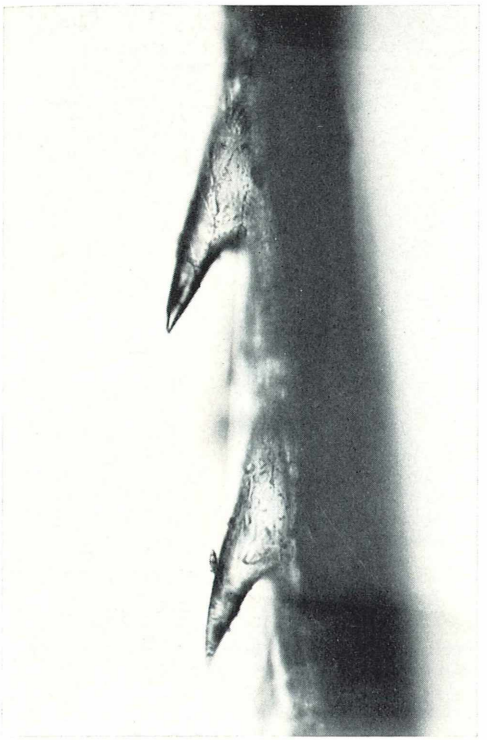
Am Wegrand stehen Grashalme. Gedankenlos reißen wir einige davon ab, lassen ihre Blätter durch die Hand gleiten. Plötzlich ein kurzer, scharfer Schmerz, das Ergebnis eine blutende Wunde.
Belehrung über Ursache und Entstehung der Wunde erhalten wir durch die mikroskopische Untersuchung der Blattspreite. Blattkiel- und Rand sind von mehreren Reihen kleinster Zähnchen besetzt. Durch Einlagerung mineralischer Substanzen, hier Kieselsäure, sind die Zahnspitzen hart und widerstandsfähig geworden. Ziehen wir nun das Blatt von der Spitze her durch die Hand, so wirken die Zähnchen als Widerhaken, dringen in die Haut ein und reißen sie auf. Es entsteht also keine Schnitt-, sondern eine Rißverletzung.
Dieser Vorgang ist nur deshalb möglich, weil die kaum 0,2 Millimeter langen Zähnchen mit einer fast vollkommenen Spitze versehen sind, mit einem Spitzenradius von nur 1—2 µm. Eine so schlanke und dennoch nicht abbrechende Spitze zu bilden, ist eine erstaunliche Leistung der Natur. Daneben wirkt die mit aller Sorgfalt hergestellte Spitze der Metallnadel plump und stumpf. Die Bilder 2 und 3 sind mit derselben Vergrößerung aufgenommen und können daher unmittelbar miteinander verglichen werden.



Bild 1: Das Knäuelgras wird 50—70 cm hoch; die 2—0,8 mm dicken Stengel sind hohl. Die Blätter von olivgrüner bis grüner Farbe werden bis 7 mm breit. Blattkiel und -Rand sind mit mehreren Reihen kleiner Zähnchen besetzt.

Verfasser: W. Negretti, Postfach 69, CH-8212 Neuhausen 2.

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



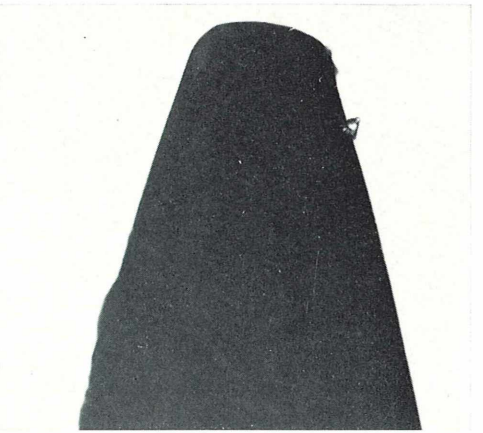


Bild 3: Das Bild zeigt die Spitze einer mit aller Sorgfalt hergestellten Metallnadel, die auf einem Drehautomaten zur Herstellung von Uhrenteilen gefertigt wurde. Der Spitzenradius der Nadel ist etwa 20mal größer als der Radius der Zähnchenspitze in Bild 1. Vergrößerung 200 : 1.

◁

Bild 2: Seitenansicht von zwei auf dem Blattrand in mehreren Reihen versetzt angeordneten Zähnchen. In der Aufsicht haben die ca. 0,2 mm langen Zähnchen die Form eines breiten Schiffsbuges. Der Klüverbaum entspricht der Zahnspitze. Vergrößerung 200 : 1.

Gerhard Jurzitza

Pflanzengewebe unter dem Raster-Elektronenmikroskop

12. Die Epidermis

Die Epidermis ist das Abschlußgewebe des primären Pflanzenkörpers. Bei Organen ohne oder mit geringem sekundären Dickenwachstum bleibt sie lebenslang erhalten, anderenfalls wird sie durch andere Abschlußgewebe wie das Kutisgewebe, den Kork oder die Borke ersetzt. Nur ausnahmsweise sind ihre Zellen teilungsfähig und können „dilatieren". Das ist etwa bei der Mistel der Fall; selbst ältere, dicke Stämme haben eine Epidermis und sind grün. Zumeist ist sie einschichtig; als Beispiel für eine „multiple Epidermis" sei das „Velamen radicum" der Orchideenwurzel erwähnt.

Epidermiszellen sind meist plattenförmig und schließen lückenlos aneinander. Ihre Protoplasten weisen keine Besonderheiten auf, Chloroplasten fehlen meist. Nur bei Farnen und einigen Schattenpflanzen erfolgt die Photosynthese auch in der Epidermis. Die Zellwände können gerade verlaufen oder wellig verzahnt sein. Nicht selten sind sie verdickt, nur ausnahmsweise jedoch lignifiziert. Gelegentlich treten Sonderbildungen auf, wie die Cystolithen bei Maulbeer- und Nesselgewächsen. Sie bestehen aus einem Zellulosestiel, der mit Kalziumkarbonat überkrustet ist.

Nach außen hin ist die Epidermis von einem Kutinhäutchen überzogen, der „Kutikula". Diese außerordentlich widerstandsfähige, makromolekulare Verbindung wird

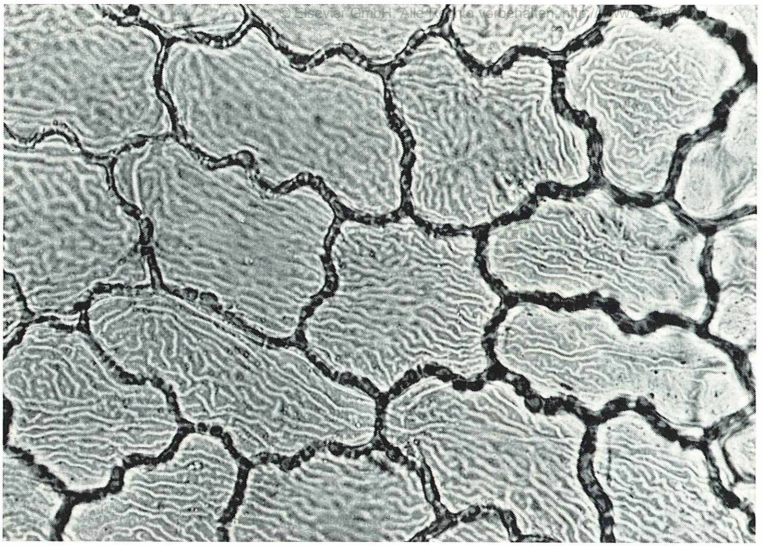


Bild 1: Obere Epidermis des Blattes von *Helleborus niger* im Lichtmikroskop (Wasserpräparat), 350 : 1. Die Zellwände sind wellenförmig verzahnt, die Kutikula gefältelt.

durch netzförmige Veresterung von Polyhydroxifettsäuren gebildet. An dem dreidimensionalen Molekülgerüst stehen zahlreiche freie Endgruppen, die zum Teil hydro-, zum Teil lipophil sind; so erklärt sich der eigenartige, „semihydrophile" Charakter des Kutins. Er ist nämlich in beschränktem Maße sowohl für Wasser und Salze als auch für wachsartige Verbindungen durchlässig.

Die Ausbildung der Kutikula ist weitgehend standortabhängig. Bei Pflanzen feuchter Biotope („Hygrophyten") ist sie dünn, bei Wasserpflanzen („Hydrophyten") kann sie fehlen. Dagegen ist sie bei Trockenpflanzen („Xerophyten") sehr dick und wi-

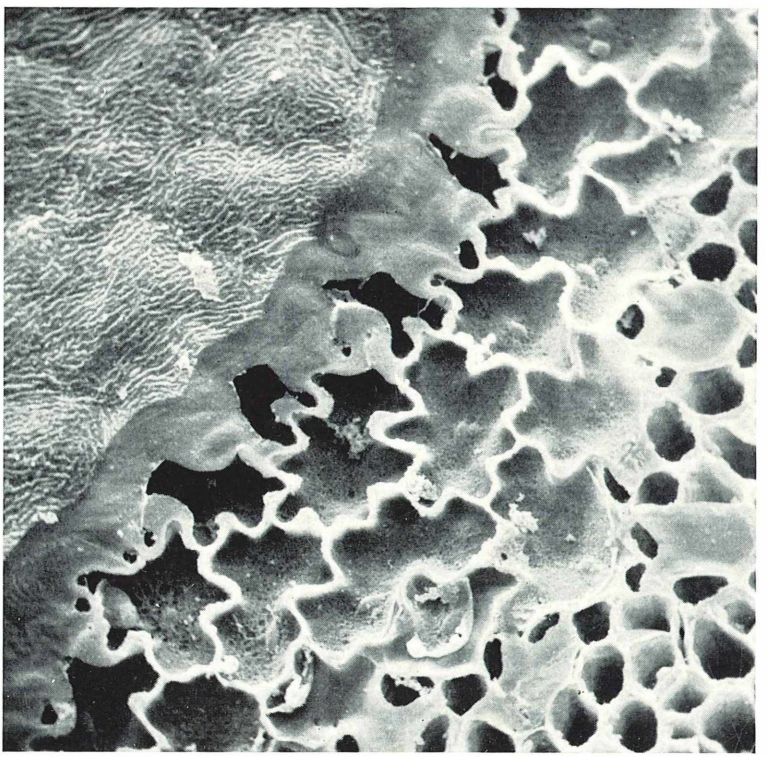


Bild 2: Obere Epidermis des Blattes von *Helleborus niger*, Schrägschnitt; REM-Aufnahme, 235 : 1. Links oben blickt man auf die gefältelte Kutikula, weiter rechts auf die Epidermiszellen mit ihren welligen Wänden. Ganz rechts unten wurde Palisadenparenchym freigelegt.

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

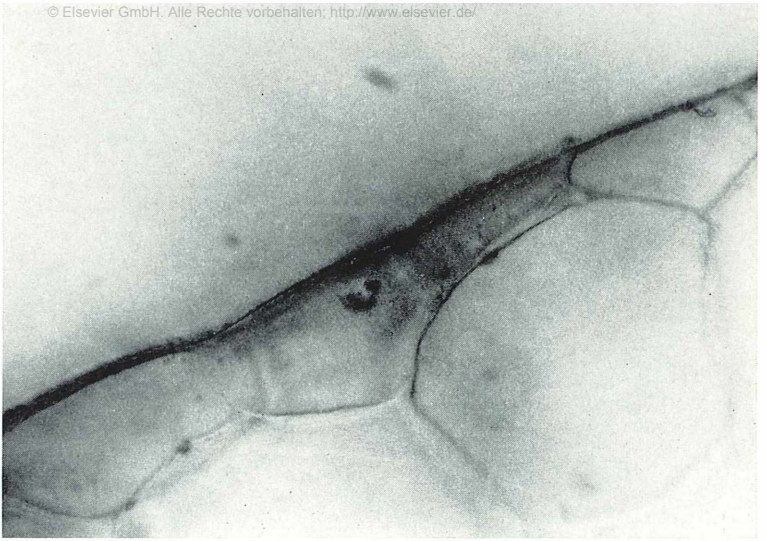


Bild 3: Untere Epidermis des Blattes von *Rhoeo spathacea*, quer (Wasserpräparat), im Lichtmikroskop; 350 : 1. Die Zellwände sind sehr zart, die Kutikula ist kaum zu erkennen. Die anschließende Hypodermis ist als Wasserspeichergewebe ausgebildet.

derstandsfähig. Ihre Oberfläche kann glatt oder strukturiert sein. Bei manchen Pflanzen ist sie von Wachsausscheidungen überzogen, die aus Körnchen oder Stäbchen bestehen und als bläulicher Reif in Erscheinung treten (Rotkraut, Weinbeeren, Pflaumen).

Samenepidermen (die „Testa") sind auf Druckfestigkeit ausgelegt; ihre Zellwände sind oft stark verdickt und verholzt, die Zellen selbst können palisadenförmig gestreckt sein.

Bilder 5—11 auf den Seiten 298—301

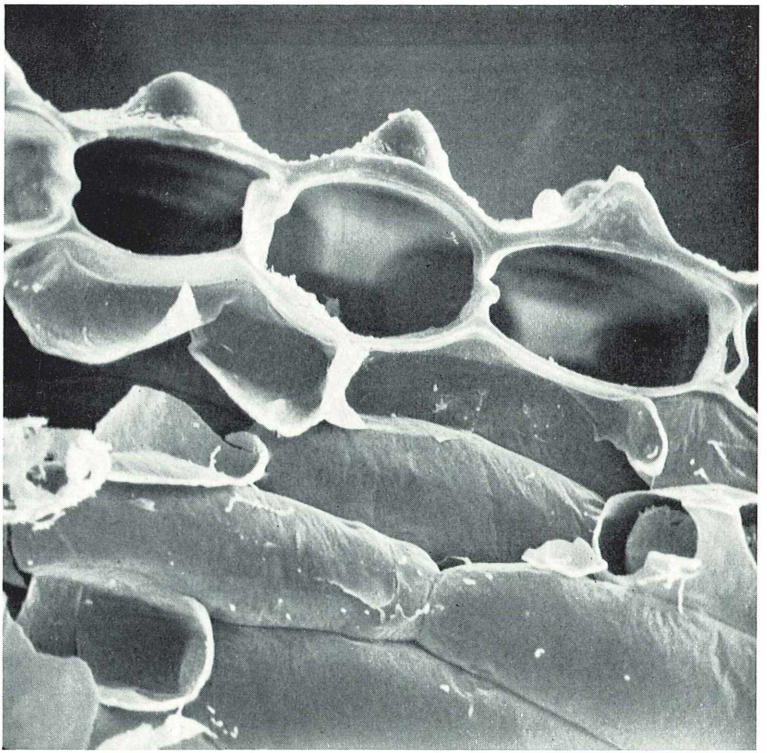


Bild 4: Querschnitt durch die Epidermis eines *Iris*-Blattes; REM-Aufnahme, 930 : 1. Die Zellwände sind mäßig verdickt, die Kutikula bildet über jeder Zelle eine Papille. Das anschließende Photosynthesegewebe besteht aus Zellen, die parallel zur Blattoberfläche gestreckt sind.

© Elsevier



Bild 5: Epidermis des Rundblattes von *Hakea* spec., quer; REM-Aufnahme, 950 : 1. Die Zellen sind klein, ihre Wände verdickt. Eine mächtige, wellige Kutikula überdeckt sie. In dem anschließenden Palisadenparenchym liegt ein verholzter Idioblast.

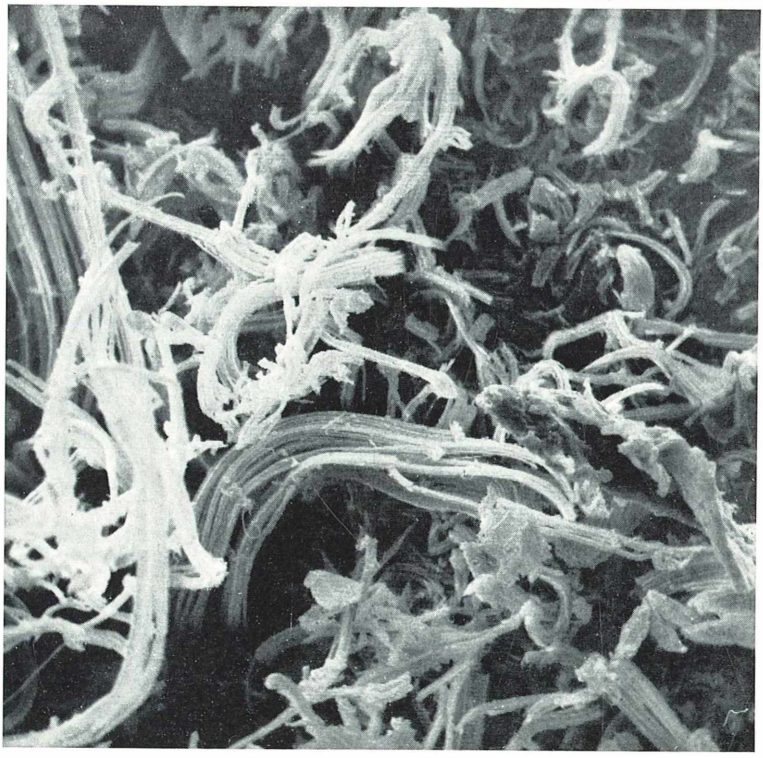


Bild 6: Fruchtepidermis von *Scorzonera* spec. mit Wachsauflagerung; REM-Aufnahme, 550 : 1. Bei vielen Pflanzen trägt die Kutikula Wachsüberzüge, die sie wasserabweisend machen und einen wirksamen Verdunstungsschutz darstellen. In diesem Falle bildet das Wachs lange, gekrümmte Stäbchen.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

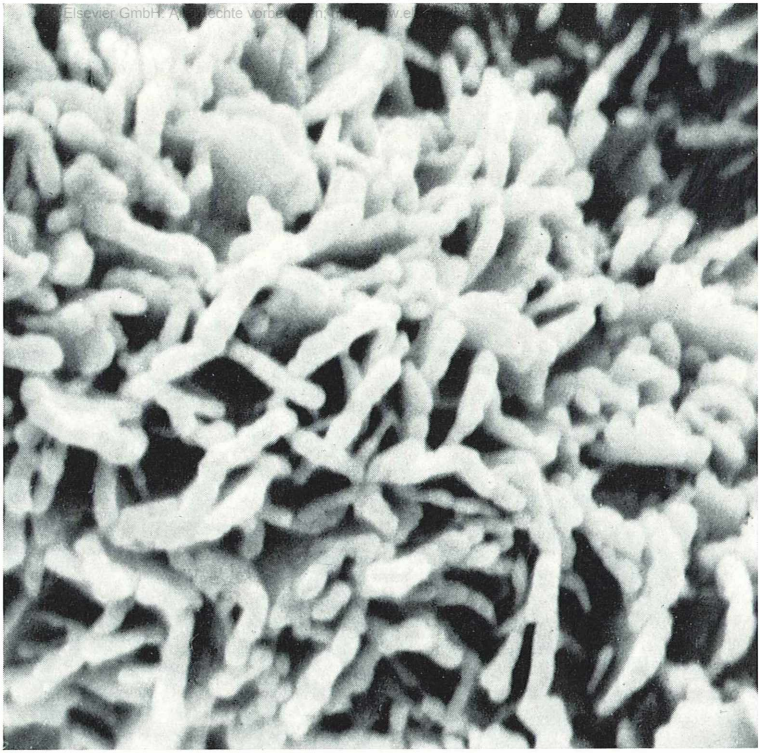


Bild 7: Epidermis eines *Eucalyptus*-Blattes mit Kautschuk-Überzug; REM-Aufnahme. 10 500 : 1. Auch diese Ausscheidung erfolgte in Form von Stäbchen.

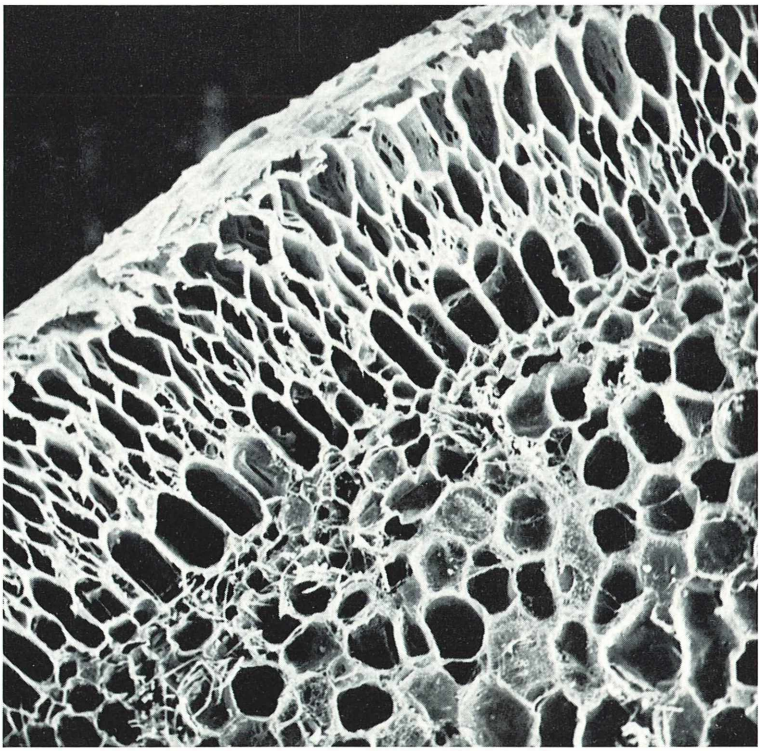


Bild 8: Querschnitt durch das Velamen radicum einer Orchideenwurzel; REM-Aufnahme, 115 : 1. Die weißliche Hülle, die die Luftwurzeln von Orchideen überzieht, ist eine mehrschichtige („multiple") Epidermis. Die Zellen sind tot, ihre Wände sind faserig aufgelöst und weisen zahlreiche Durchbrüche auf (Bild 9). Das Velamen radicum wird als Absorptionsorgan für Wasser sowie als Isolierung für das darunter liegende, grüne Rindengewebe aufgefaßt; neuerdings wurde nachgewiesen, daß nur ein Teil der untersuchten Orchideenwurzeln das hier kapillar festgehaltene Wasser zu resorbieren vermag.

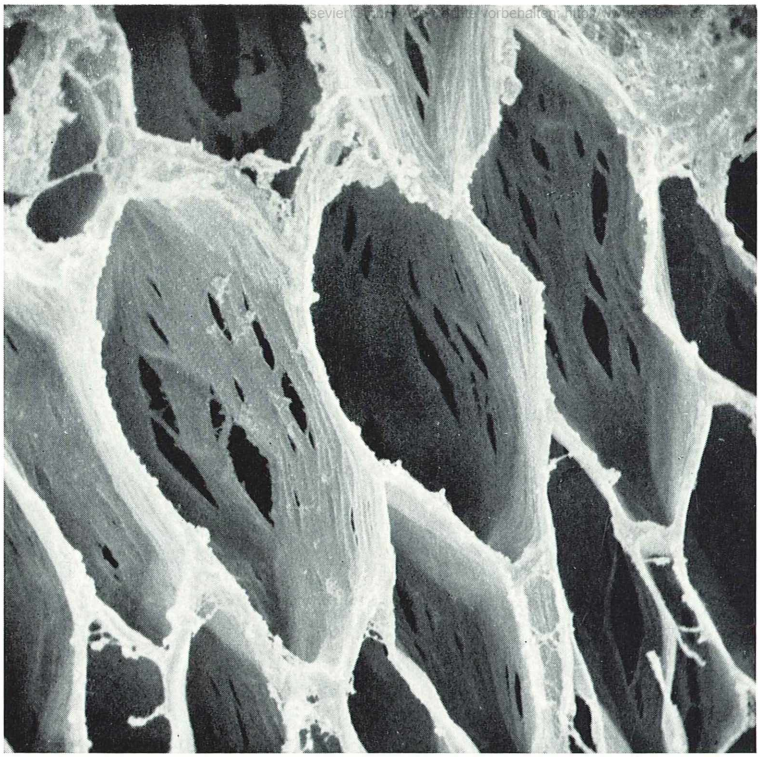


Bild 9: Querschnitt durch das Velamen radicum einer Orchideenwurzel; REM-Aufnahme, 570 : 1.

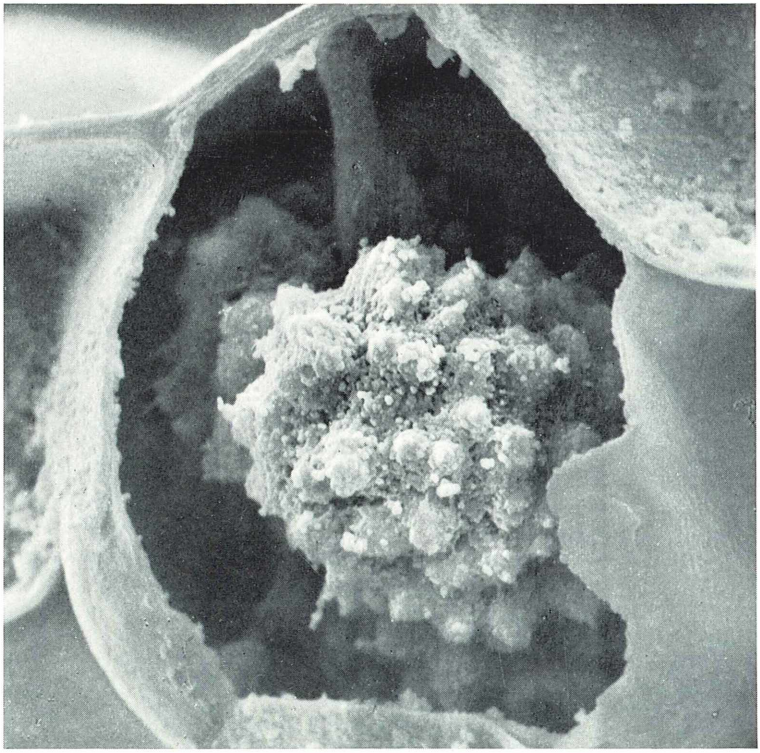


Bild 10: Cystolith im Blatt von *Urtica* spec.; REM-Aufnahme, 2750 : 1. Hier ist eine Epidermiszelle vergrößert und zur Lithocyste geworden. Cystolithen treten bei Nessel-, Maulbeer-, Acanthus- und Kürbisgewächsen auf

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



Bild 11: Querschnitt durch das Blatt von *Ficus elastica* mit Cystolith im Lichtmikroskop (Wasserpräparat), 260 : 1. Die Epidermis ist dreischichtig. Die Zellen der äußeren Lage sind stark verdickt, die der beiden inneren zartwandig und wirken als Wasserspeicher. Einzelne Zellen sind stark vergrößert und ragen tief ins Palisadenparenchym hinein. An der Stelle, an der sich die Wände der darüberliegenden Zellen treffen, ragt ein Zellulosestiel in diese „Lithocyste" hinein, der durch eine dicke Kruste von Ca-Karbonat zu einem keulenförmigen Gebilde geworden ist, dem „Cystolithen".

In dieser Serie sind bisher erschienen: *1.* Kiefernholz, **63,** 355—359, 1974; *2.* Hoftüpfel, **64,** 1—5, 1975; *3.* Laubhölzer, **64,** 33—36, 1975; *4.* Thyllenbildung, **64,** 101—105, 1975; *5.* Bast und Kork, **64,** 129 bis 134, 1975; *6.* Primärer Aufbau des Sprosses, sekundäres Dickenwachstum, **64,** 259—263, 1975; *7.* Die Wurzel, **64,** 327—331, 1975; *8.* Die Leitbündel, **65,** 39—43, 1976; *9.* Die Elemente der Wasser- und Assimilateleitung, **65,** 112—116, 1976; *10.* Das bifaziale Laubblatt, **65,** 336—340, 1976; *11.* Blatt-Typen, **66,** 14—19, 1977.

Verfasser: Prof. Dr. Gerhard Jurzitza, Botanisches Institut der Universität, Lehrstuhl 1, Kaiserstr. 12, 7500 Karlsruhe.

Viktor B. Meyer-Rochow

Zähne — eine vergleichend-anatomische Studie

Zähne, also Organe, die dem Erfassen und der Zerkleinerung der Nahrung dienen, sind im Tierreich weit verbreitet. Insbesondere Wirbeltierzähne sind wegen ihrer außerordentlichen Haltbarkeit wichtige Indizien in der archäologischen Forschung. Doch nicht nur Altertumsforscher, auch Mikroskopiker wissen Zähne zu schätzen.

Eine Zahnspezialisierung in Reiß-, Schneide-, Mahl-, Nagezähne usw. findet man nur bei plazentalen Säugetieren; Niedere Wirbeltiere haben in der Regel ein homodontes Gebiß. Entwicklungsgeschichtlich lassen sich alle Wirbeltierzähne von den zahnähnlichen Placoid-Schuppen der Knorpelfische (Haie und Rochen) ableiten. Charakteristisch für diese Zähne ist eine knochenähnliche Substanz, die als Dentin bezeichnet wird, und die reich ist an Calciumphosphaten, die aber im Gegensatz zum Knochen keine Haverschen Kanäle zur Blutzirkulation besitzt. Bei höheren Wirbeltieren findet man häufig eine ausgesprochen harte, als Zahnschmelz bekannte Substanz, die den Zahn außen überzieht. Die Zahnbasis bildet im allgemeinen ein Sokkel aus dem knochenartigen Zahnzement. Keils Buch „Grundzüge der Odontologie" sei demjenigen empfohlen, der sich näher mit Wirbeltierzähnen befassen möchte.

Während bei Haien und Rochen Zähne auf der gesamten Körperoberfläche vorkommen und sich diejenigen im „Gesicht" nur durch ihre größere Dimensionen auszeichnen, hat bei Knochenfischen eine Lokalisierung der Zähne in den Mundinnenraum stattgefunden. Innerhalb der Mundhöhle jedoch können Zähne auf fast allen Strukturelementen auftreten, einschließlich der Zunge.

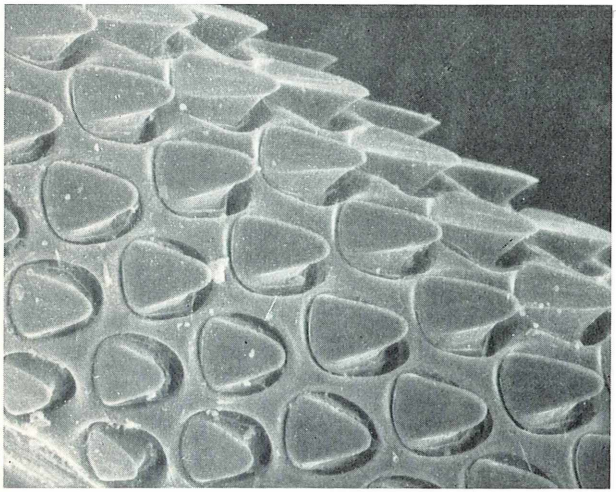


Bild 1: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme 200fach vergrößerter Zahnreihen des stutzschwänzigen Tiefseeaals *Cyema atrum*. Jeder Zahn besitzt eine schräge Kaufläche, die von hinten nach vorne abnimmt.

Die übermäßige Entwicklung der Fangzähne mancher Tiefseefische verleiht vielen Arten ein oftmals groteskes Aussehen. Es gibt jedoch auch Tiefseefische, bei denen man eine Bezahnung nur mit Hilfe des Mikroskops erkennen kann (Bilder 1, 2). Der stutzschwänzige Tiefseeaal *Cyema atrum* ist einer von ihnen. Fische dieser merkwürdig beschnabelten, etwa fingerlangen Art wurden 1967 auf der Südatlantik-Expedition des FFS „Walther Herwig" in der Umgebung von Ascension Island in 700 m Tiefe erbeutet.

Ober- und Unterkiefer von *Cyema* sind bedeckt mit parallelen Reihen amboßähnlicher Zähnchen, die alle zum Schlund weisen. Ihre flache oder sogar schwach konkav gewölbte Oberfläche (Bild 2) deutet auf eine drückend-quetschende Funktion hin. Leider sind die Nahrungsgewohnheiten dieses pelagischen Tiefseeaals nicht genauer bekannt, aber es ist anzunehmen, daß er sich kleine planktonische Krebstiere schnappt.

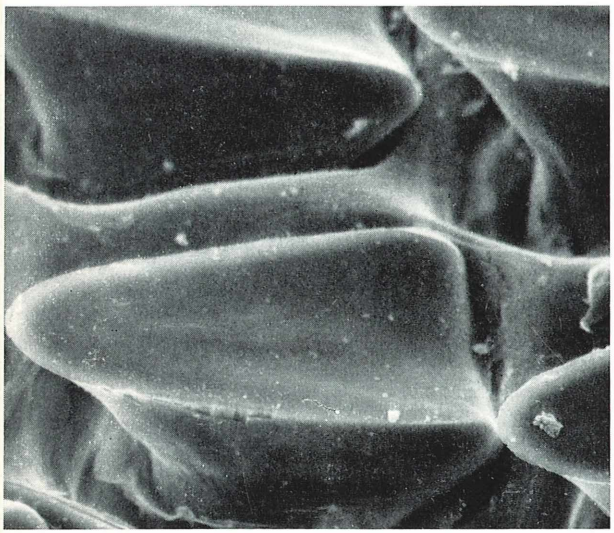


Bild 2: Einzelzahn von *Cyema atrum*. Vom Sokkel aus Zahnzement erhebt sich der amboßartige Dentinzahn mit seiner dreieckigen Kaufläche etwa 0,05 mm über die Zahngrube. Das spitze Ende weist zum Schlund.

Etwas mehr weiß man von dem zweiten Fisch, dessen Zähne ich unter dem Mikroskop untersuchte. Auf der Südostasien-Expedition des amerikanischen Forschungsschiffes „Alpha Helix" 1975 sammelte ich über 30 Exemplare kommensaler Fische, die zu drei verschiedenen Arten gehörten und die entweder in Seegurken (Holothurien) oder Seesternen (Gattung *Culcita*) zu Hause waren. Es ist verschiedentlich vorgeschlagen worden (z. B. Trott, 1970) die mittleren Gaumenzähne, die bei diesen Fischen auftreten, zur Artenkennzeichnung zu verwenden, doch nach meinen Beobachtungen sind weder Form noch Zahl der Zähne artkonstant (Bild 3).

Fische der Art *Carapus mourlani* fand ich mit einer Ausnahme (15 Fische in einer einzigen Seegurke: Meyer-Rochow 1977) ausschließlich in Seesternen. Es ist denkbar, daß der Seestern der falsche Wirt ist und daß *C. mourlani* tatsächlich lieber in einer Seegurke hausen würde. Wie dem auch sei, Fische, die im dunklen Innern des Seesterns leben, ernähren sich von den Gonaden und Darmdivertikeln ihres Wirts und sind möglicherweise sogar in der Lage, mit ihren starken, spitzen Zähnen ein Loch in die Wand des Stachelhäuters zu nagen. Ich habe nämlich des öfteren beobachtet, wie Fische in den Seestern durch die Mund/Magenöffnung eindringen; daß sie aber auf demselben Weg in der Lage sind, ihren Wirt zu verlassen, ließ sich trotz nächtelanger Beobachtungen und Experimente mit verdünntem und gekühltem Seewasser nicht nachweisen.

Außer Dentinzähnen, die allerdings auf Wirbeltiere beschränkt sind, gibt es noch Zähne, die aus anderen Materialien aufgebaut sind. Wie der Schnabel der Vögel, die scharfen Beißränder der Schildkrötenkiefer und die sandpapierähnlichen Schabezähne der Neunaugen bestehen die Zähne der Kaulquappen (Bild 4) zum größten Teil aus Keratin, der Grundsubstanz allen Hornmaterials. Die hornigen Kiefer wachsen, erneuern und vergrößern sich mit zunehmendem Alter der Kaulquappen, bis diese zum Landleben übergehen. Dann werden die Hornkiefer und -zähne abgestoßen und durch winzige Dentinzähne ersetzt (Meyer-Rochow, 1968).



Funktionell scheinen die Hornzähne ihren Dentinäquivalenten absolut ebenbürtig zu sein. Die beiden strukturell verschiedenen Zahntypen sind also einander analog (gleiche Aufgaben). Die Hornsubstanz besteht aus mächtigen Lagern von Epidermiszellen, die verhärtet und bis zur Unkenntlichkeit abgeplattet bei Behandlung mit Kalilauge unter dem Mikroskop zu erkennen sind.

Bild 4: Mikroskopisches Ganzheitspräparat vom Mund einer auf der Insel Sankt Helena im Südatlantik gesammelten Kaulquappe von *Rana grayi*. Die gezackten Zähne der Froschlarven bestehen aus Horn und haben mit Dentinzähnen nur die Funktion gemein.

Einen anderen Typ von Zahnausbildung, dieses Mal bei einem Invertebraten, finden wir bei Weichtieren. Die Raspelzunge oder Radula der Schnecken besitzt zahlreiche, in artcharakteristischem Muster angeordnete Reihen winziger Chitinzähnchen. Man kann die Radula mittelgroßer Schnecken vorsichtig herauspräparieren, von anhaftendem Gewebe durch kurzes Kochen in 10%iger Pottaschelösung befreien, und in einer Mischung aus Alkohol und Pikrinsäure unter dem Mikroskop betrachten. Die

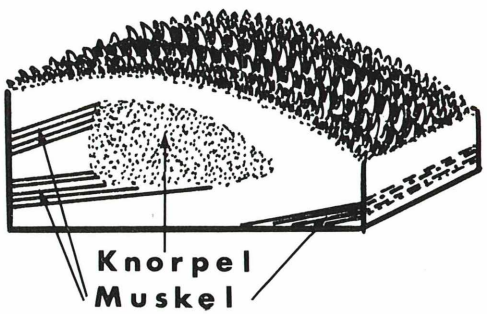
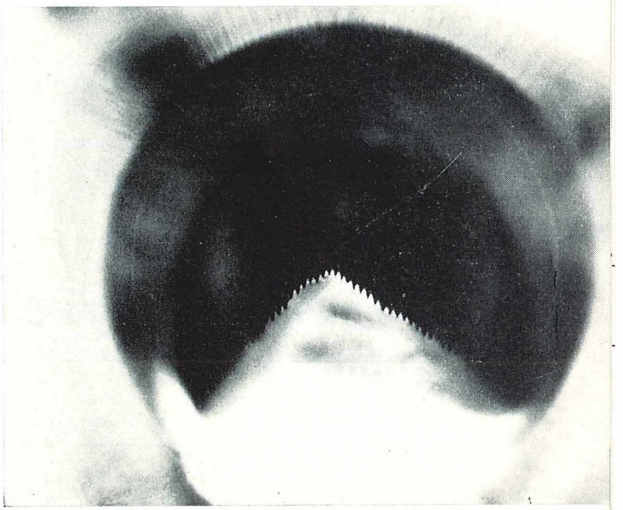


Bild 3: Diese nashornartigen, kräftigen, bis zu 1 mm langen Zähne gehören dem in Seesternen schmarotzenden Fisch *Carapus mourlani*. Man hat versucht, Anzahl und Anordnung der Zähne zur Artbestimmung zu verwenden.

Oberflächenstruktur der Radula und die Anordnung der mehr oder weniger gekrümmten Zähnchen (Bild 5) überzeugen einen leicht von der Schabe- und Raspelfähigkeit dieses Organs.
Man hat gefunden, daß bei Napfschnecken der Brandungszone, die härtestes Gestein abzunagen vermögen, die Radula bis zu 65% aus Magnetit, einem eisenhaltigen Material außerordentlicher Härte, bestehen kann (Lowenstam, 1962).
Zähne, die ebenfalls zum größten Teil aus anorganischem Material bestehen, findet man auch bei Seeigeln. Das als „Laterne des Aristoteles" bekannte Gebiß der Seeigel besteht aus fünf gegeneinanderarbeitenden Stäbchen, deren jedes aus Calciumcarbonat besteht, wie die Salzsäureprobe



leicht zeigt (Bild 6). Die fünf Zähne, in Analogie zu denen der Nagetiere, wachsen zeitlebens. Ihre größte Härte haben sie auf der Außenseite. Aus diesem Grunde werden die Zähne asymmetrisch abgenutzt und erhalten eine meißelartige Spitze.
Ich hoffe mit dieser kleinen Auswahl von verschiedenartigen Zähnen gezeigt zu haben, daß eine vergleichend-anatomische Untersuchung von Zähnen, verbunden mit einer Verhaltensstudie, ein reizvolles Gebiet sowohl für professionelle Biologen als auch interessierte Mikroskopiker sein kann. Die Präparation (will man nicht gerade

Bild 5: Die Radula oder Raspelzunge der Schnekken ist ein dicht mit Chitinzähnchen besetztes Schabeinstrument. Manche Pantoffelschnecken bauen eisenhaltige Verbindungen wie z. B. Magnetit in ihre Zähne ein, um deren Härte zu erhöhen.

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

Schnitte anfertigen) ist denkbar einfach, und auch die Materialbeschaffung sollte keine Schwierigkeiten bereiten. Jedenfalls sind weder Rasterelektronenmikroskop noch Tiefseefische Vorbedingung, auch wenn sie beide in diesem Artikel erwähnt wurden.

Literaturhinweise:

1. *Keil, A.* (1966): Grundzüge der Odontologie. Borntraeger, Berlin.
2. *Lowenstam, H. A.* (1962): Magnetite in denticle capping in recent chitons (Polyplacophora). Geol. Soc. Am. Bull. **73**, 435—438.
3. *Meyer-Rochow, V. B.* (1968): Kaulquappen und ihre Zähne. Natur u. Museum **98**, 385—391.
4. *Meyer-Rochow, V. B.* (1977): Fifteen *Carapus mourlani* in a single holothurian. Copeia, in press.
5. *Trott, L.* (1970): Contributions to the biology of carapid fishes. Univ. Calif. Publ. Zool. **89**, 1—41.

Verfasser: Dr. V. Benno Meyer-Rochow, Diekmoorweg 12 VIII., 2 Hamburg 62. Jetzige Adresse: Department of Biological Sciences, University of Waikato, Hamilton, Neuseeland.



Bild 6: Das als „Laterne des Aristoteles" bekannte Gebiß der Seeigel besteht aus fünf gegeneinander arbeitenden Calciumcarbonat-Zähnen, deren Außenseite härter als die Innenseite ist. Aus diesem Grunde nutzen sich die Zähne meißelartig ab.

Klaus Dietrich

Sporenkeimung beim Schimmelpilz Phycomyces



Die zu den Mucoraceen (Köpfchenschimmel) gehörenden *Phycomyces*-Arten bilden schlanke, bis zu 50 mm hohe Sporangienträger, an deren Ende die kugelförmigen Sporangien sitzen. In diesen Sporangien liegen dicht gepackt zwischen 140 bis 170 Sporen. Die hier untersuchten Sporen der Art *Phycomyces blakesleeanus* haben nach ihrer Ausreifung eine Größe, die zwischen 10 und 20 µm schwankt.

Wie im Mikroskop zu erkennen ist, sind sie von einer stark lichtbrechenden Wand umgeben. In ihrem Innern sind zwar schwache Strukturen zu erkennen, eine plasmatische Bewegung ist jedoch nicht zu beobachten.

Nach 6stündiger Hydrolyse mit 1 N-HCl bei 60 °C und anschließender Nuklealreaktion

Bild 1: Reife *Phycomyces*-Sporangiosporen vor der Keimung.

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

nach Feulgen werden 7—12 Kerne sichtbar.
Die reifen Sporen einer 1 Woche alten Kultur keimen zu einem hohen Prozentsatz aus, nachdem sie in ein geeignetes Medium gelangt sind. Als Einschlußmedium zur Untersuchung der Keimung (Nährlösung oder Nährsubstrat) eignen sich z. B. Pflanzendekokte. Eine geeignete Nährlösung stellt man sich so her, daß man ein Stück Brot über Nacht in Leitungswasser aufweicht, am nächsten Tag einige Minuten aufkocht und danach mehrfach filtert.
Da die meisten Brote heute mit keimungshemmenden Zusätzen versehen sind, sollte man nur Brot mit dem Aufdruck „Ohne Zusatz" aus dem Reformhaus verwenden. Für meine Versuche verwendete ich ausschließlich „Kreuznacher Vollkornbrot".
Neben den natürlichen Nährsubstraten wie Brotdekokte, Malzlösungen o. ä. eignen sich auch künstliche Nährlösungen mit definier-

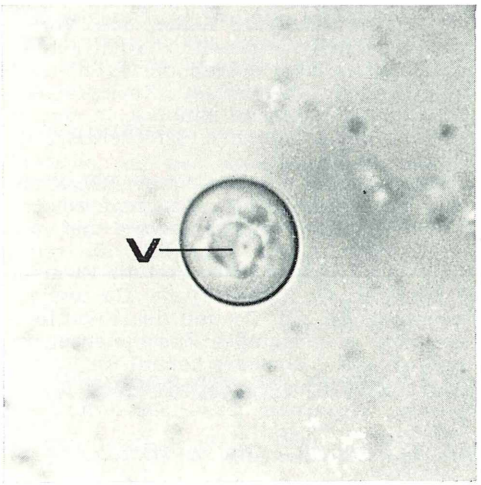


Bild 2: Die beginnende Keimung der Spore ist an der Volumenvergrößerung und der Bildung einer zentralen Vakuole zu erkennen. *V* Vakuole.

ter Zusammensetzung für Keimungsversuche.
Die Keimung der Spore beginnt mit einer Abrundung und Vergrößerung des Volumens. Dieses Stadium ist nach 2—4 Stunden erreicht. Danach wird eine Zellsaftvakuole sichtbar, die sich zuerst wenig vom Cytoplasma abgrenzt. Die Vakuole wird aber rasch größer und nimmt dann die Hälfte bis dreiviertel des Volumens der Spore ein.
9—10 Stunden, nachdem die Spore in das Nährmedium gebracht wurde, bildet sich an einer vorher nicht erkennbaren Stelle eine bläschenartige Ausbuchtung. Dabei reißt die feste Sporenwand auf und ein kleiner Keimschlauch wächst heraus. Der Keimschlauch wächst rasch weiter und beginnt sich bald darauf zu verzweigen.
Die meisten Sporen keimen mit einem Keimschlauch. Einige keimen mit zwei

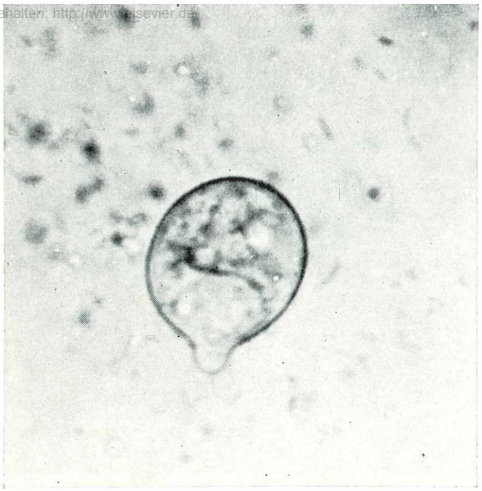


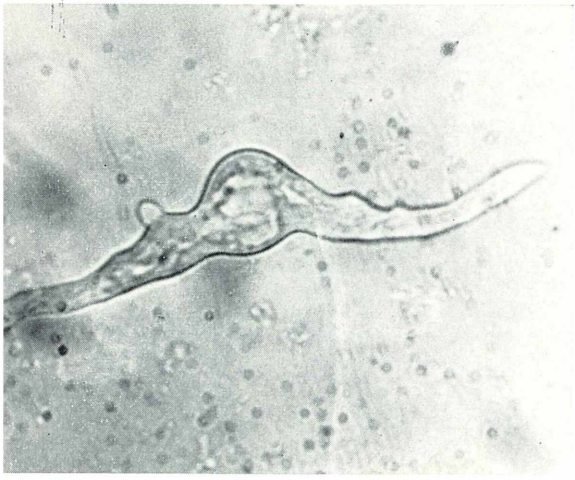
Bild 3: Aus der keimenden Spore wächst an einer vorher nicht erkennbaren Stelle ein kleiner Keimschlauch heraus.

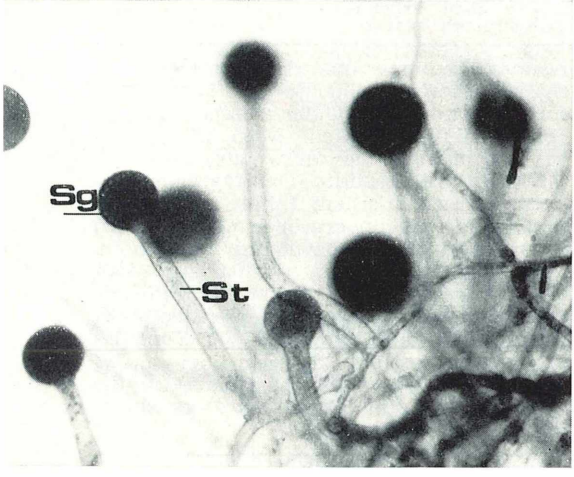
Keimschläuchen, wobei diese entweder an entgegengesetzten Stellen der Spore entspringen oder miteinander annähernd einen rechten Winkel bilden. Nach 24 Stunden hat sich ein vielfach verzweigtes und verästeltes Myzel gebildet. Das Myzel ist mit dichtem plasmatischem Inhalt gefüllt. Bei starker Mikroskopvergrößerung läßt sich eine lebhafte Plasmabewegung beobachten. Nach etwa 30 Stunden wächst aus einer Myzelverzweigung ein dicker keulenförmiger Ast heraus — der Sporangienträger. Ist dieser 1 mm lang, bildet sich der Kopf des Sporangienträgers — das Sporangium. Die Hauptmenge des Plasmas wandert in die Sporenanlage. Im Myzel wird es durch wäßrigen Zellsaft ersetzt.

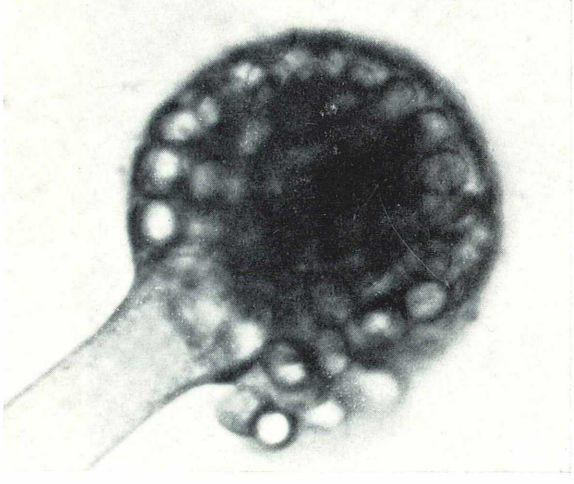


Bild 4: Der Keimschlauch wächst sehr schnell weiter und beginnt sich bald zu verzweigen.

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







Sporangium und Sporangienträger sind durch eine vorgewölbte Scheidewand — die Kolumella — voneinander getrennt. Mit zunehmender Reifung färben sich die Sporen dunkler, und der Sporangienträger streckt sich schnell um das 20—25fache seiner Länge, während sich im Myzel in unregelmäßigen Abständen Scheidewände bilden. Der Sporangienträger selbst bleibt unseptiert. Im reifen Zustand platzt das Sporangium sehr leicht auf und die Sporen quellen hervor.

Der Pilz benötigt wegen seiner heterotrophen, saprophytischen Lebensweise für Sporenkeimung und Myzelwachstum neben anorganischen auch organische Stoffe. Findet die Spore diese Stoffe in dem umgebenden Medium nicht oder nur unvollständig, dann keimt sie nicht aus oder Keimung und Wachstum des Myzels hören vorzeitig auf.

Die organischen Nährsubstrate wie Brot o. ä. haben einen chemisch komplexen Aufbau. Hier finden die Sporen in der Regel alle lebenswichtigen Aufbaustoffe. Diese natürlichen Substrate haben den Vorteil, daß sie schnell hergestellt werden können. Sie gestatten aber wegen der größtenteils unbekannten chemischen Zusammensetzung keinen genauen Einblick in die ernährungsphysiologischen Erfordernisse des Pilzes.

Diese Einblicke gewähren nur Nährlösungen mit definierter Zusammensetzung. Durch Versuche und Analysen hat man herausgefunden, daß der Pilz für seinen Bau- und Energiestoffwechsel die Elemente C, N, S, K, O, H, Mg, P, Fe, Ca sowie in Spuren B, Zn, Cu, Co und das Vitamin B_1 (Aneurin) in geeigneter Zusammensetzung benötigt. Als C-Spender kommt für ihn nur Zucker in Form von Glucose und als N-Spender Asparagin bzw. das Anion von $Ca(NO_3)_2$ in Frage.

Alle anderen Elemente in Form anorganischer Salze.

Bei stark verminderter Keimungsrate eignet sich folgende A-Nährlösung:

D+Glucose	40 g	m/10 $Ca(NO_3)_2$	5 ml
L-Asparagin	1 g	m/100 $FeCl_3$	5 ml
m/1 KH_2PO_4	10 ml	ad Aqua dest.	1000 ml
m/5 $MgSO_4$	5 ml	10 γ/ml Aneurin	1 ml

Die wichtigsten Spurenelemente (2) in einer B-Lösung:

1,5 mg	H_3BO_3

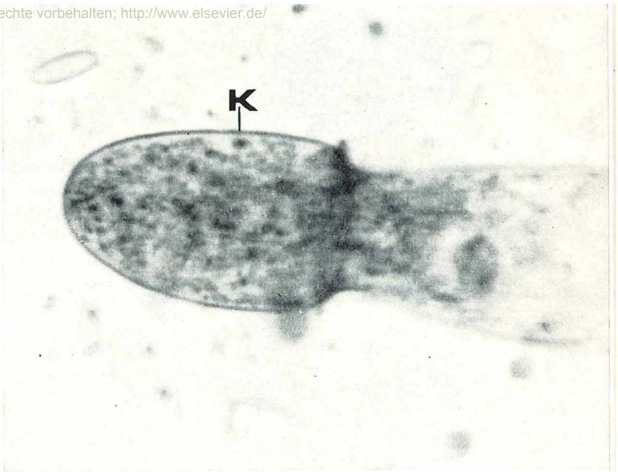
Bild 5: Einige Sporen keimen mit zwei Keimschläuchen, die an entgegengesetzten Stellen herauswachsen.

Bild 6: *Phycomyces*-Myzel mit kurzen, ca. 1 mm großen Sporangienträgern. Das Sporangium ist bereits angelegt, die Sporen sind aber noch nicht reif. *Sg* Sporangium, *St* Sporangienträger.

Bild 7: Reifes Sporangium mit hervorquellenden Sporen.

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

Bild 8: Kolumella — Das Sporangium ist geplatzt, die Sporen sind verstreut; übriggeblieben ist die Kolumella *K* auf der Traghyphe.



3,0 mg	$MnSO_4 \cdot 5\,H_2O$
0,3 mg	$ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$
0,3 mg	$CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$
0,3 mg	$Co(NO_3)_2 \cdot 6\,H_2O$
ad 1000 ml	Aqua bidest.

Der pH-Wert der Nährlösung sollte bei 7,0 bis 7,5 liegen.
Durch verschiedene Vorbehandlung der Sporen soll die Keimungsrate erhöht werden können, z. B. durch Säurebehandlung mit verdünnter Salzsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure und Phosphorsäure oder mit oberflächenaktiven Stoffen wie Octyl-, Decyl- und Dodecylsulfat und durch andere Stoffe wie Ammoniumacetat (200/m) (3)(4). Zum Ansatz der Keimungsversuche eignen sich am besten sterile Einmal-Petrischalen. In diese pipettiert man die vorbereitete Nährlösung und beimpft mit einigen ml der Impfsuspension (1). Die Untersuchung des Keimungsfortschrittes kann dann in einem vorher festgelegten Zeitplan durch mikroskopische Kontrolle erfolgen.

Literaturhinweise:

1. *Dietrich, K.:* Der Schimmelpilz Phycomyces blakesleeanus. Mikrokosmos 5, 123—126 (1977).
2. *Paech, K., Simonis, W.:* Pflanzenphysiologisches Praktikum Bd. 1. Übung zur Stoffwechselphysiologie der Pflanzen.
3. *Sommer, L., Halbsgut, W.:* Grundlegende Versuche zur Keimungsphysiologie von Pilzsporen. Westdeutscher Verlag, Köln 1957.
4. *Rudolph, H.:* Ein Beitrag zum Versuch der Kausalanalyse der Wärmeaktivierung von Phycomyces blakesleeanus Bgff., Naturwissenschaften 48 (1961).

Verfasser: Klaus Dietrich, Leopoldsweg 9 A, 6380 Bad Homburg

Franz Buxbaum

Kakteensamen unter Lupe und Mikroskop

II. Die steinharten Samen der Opuntioideen

Waren die Samen der meisten Kakteen, wie ich im ersten Teil der „Samenuntersuchungen" zeigte, relativ einfach, wenn auch z. T. erst mit einiger Übung mit den üblichen Methoden zu präparieren, so erfordern die steinharten Samen der Unterfamilie Opuntioideae ganz neue, ungewöhnliche Methoden.
Diese Samen werden ganz von einer überaus harten Arillusschicht eingehüllt, die jeden Versuch, sie mit dem Rasiermesser zu schneiden, mit dem Verlust des Rasiermessers bestraft. Es muß also anders gehen!
Die Samenanlagen aller Kakteen sind von einer Hautschicht überzogen (man nennt sie auch das „Dritte Integument"), die flügelartig die Samenanlage umschließt. Bei den meisten Gattungen geht diese Schicht bei der Samenreife überhaupt verloren, oder sie bildet eine mehr oder minder dünne Hautschicht, die leicht abzulösen ist.
Nicht so in der Unterfamilie Opuntioideae, die schon darum eine eigene Unterfamilie bildet. In dieser verwandelt sich das „Dritte Integument" bei der Reifung des Samens in einen steinharten, verholzten und dazu noch z. T. durch Calziumoxalatkristalldrusen verstärkten Mantel. Da der Arillus aber eben aus einem Teil des Samenstranges hervorging, der bei vielen Opuntien, besonders der Untergattung *Thephrocactus*, dicht zottig behaart ist, ist schließlich auch der Arillusmantel noch dicht mit stei-

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

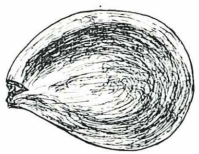


Bild 1: Samen nach Entfernen der Arillusbehaarung.

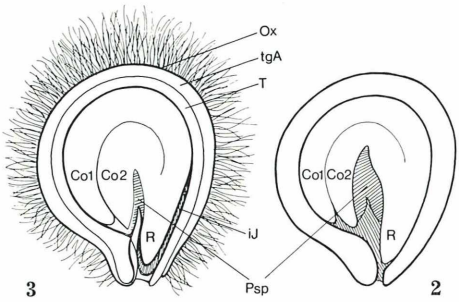
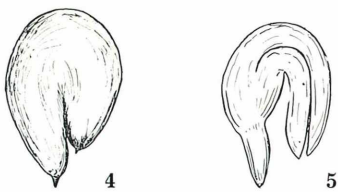


Bild 2: Schliff parallel aber noch über der Medianebene.

Bild 3: Schliff in der Medianebene (*Ox* Oxalatschicht, *gA* Außenschicht, *T* Innenschicht (Testa). Erläuterung der weiteren Abkürzungen im Text.



Bilder 4 und 5: Herausgeschälter Embryo.

fen, zottigen Haaren bedeckt, die die Fruchthöhle meist ganz ausfüllen. Vermutlich haben diese Zotten die biologische Aufgabe, die Wasseraufnahme durch den harten Arillusmantel überhaupt erst zu ermöglichen.

Bei allen höher abgeleiteten Opuntien sind die Samen seitlich stark abgeplattet, also flach; diese sind daher relativ einfach zu behandeln. Aber einige primitive Arten, so auch die sonderbare Gattung *Tacinga* aus der brasilianischen Caatinga, sind eiförmig, was die Untersuchung nicht unerheblich erschwert. Darum soll eben der Samen von *Tacinga funalis* als Musterbeispiel herangezogen werden.

Auch dieser Samen ist überaus dicht von zähen Haaren bedeckt, die sich aber relativ leicht ablösen lassen. Ohne sie erscheint er spitz, eiförmig, leicht gekielt und kaum merklich seitlich abgeplattet (Bild 1).

Zur Untersuchung muß man aber technisch eine Anleihe bei der Mineralogie machen: Statt zu schneiden muß man schleifen!

Hierzu braucht man den Klebstoff „Uhu-Plus", der aus zwei Bestandteilen vermischt wird und schließlich steinhart wird.

In die frisch verrührte Klebstoffmischung wird der Samen samt den Haaren, die einen sehr guten Halt gewähren, eingerührt und, mit einem dicken Tropfen bedeckt, auf die vollkommen ebene Endfläche eines Flaschenkorkes gebracht. Dabei muß er äußerst sorgsam so zentriert werden, daß seine Medianebene genau parallel zur Korkfläche liegt. Das ist eine sehr heikle Arbeit, die man sich erleichtern kann, wenn man zuvor die Medianebene mit einem Tuschestrich markiert hat.

Am nächsten Tag ist der Uhu-Plus-Kitt fest, aber noch schneidbar. Nun schneidet man mit einem scharfen, allenfalls befeuchteten Messer den über dem Samen befindlichen Teil des Kittes soweit ab, bis man an die harte Samenschale kommt. Dies ermöglicht noch eine Kontrolle, wie der Samen im Kitt liegt. Korrigieren kann man natürlich nicht mehr, wohl aber die Schliffebene danach einstellen.

Nach mindestens weiteren 24 Stunden, besser nach einigen Tagen, ist der Kitt steinhart. Nun beginnt das Schleifen. Zunächst kann man dazu feines Glaspapier verwenden, bis man die äußersten Schichten der Schale abgeschliffen hat — immer unter Kontrolle der richtigen Lage. Sobald man aber bemerkt, daß die harte Schale an einer Stelle durchgeschliffen ist, geht man an den Feinschliff, den man mit der feinsten Nummer Wasserschmirgel-Papier ausführt. (Das ist jene Nummer, mit der man Lackierungen nachschleift!) Das Schmirgelpapier wird durchtränkt und mit Wasser auf eine Glasplatte aufgequetscht, so daß es fest und flach aufliegt. Es muß immer tropfnaß sein. Das Schleifen erfolgt unter ständiger Kontrolle mit der Präparierlupe, besonders vorsichtig, sobald bereits die Keimblätter angeschliffen sind. Man schleift zunächst so weit, daß man parallel zur Medianebene, aber noch über dieser ist.

In einem Wassertropfen unter dem Deckglas kann man nun bereits den Bau des Samens untersuchen (Bild 2). Man sieht unter der dicken harten Schale eine dünne braune Schicht: die „innere Testa"; sie umhüllt den im Bereich der Keimblätter kreisförmig eingekrümmten Embryo, der das in dieser Ebene schildförmig die Mitte überdeckende Perisperm (Nährgewebe) umschließt.

Man kann aber schon vorher, sobald beim Schleifen die braune „Innentesta" sichtbar wird, die nun schon dünnen überdeckenden Ränder der Schale mit einer Präpariernadel (Starnadel!) aufbrechen und so den in die Innentesta eingehüllten Embryo herausschälen (Bild 4). Man kann dann in der gewohnten Weise die innere Schale mit der Starnadel abpräparieren und den Embryo freilegen (Bild 5). Dabei bemerkt man, daß das Perisperm in dem schmalen Raum zwischen Radicula und Keimblättern wie ein Sattel aufsitzt.

Dies zeigt sich aber besonders beim genauen Medianschliff (Bild 3).
Man kann den Schliff soweit fortsetzen, daß man in die Medianebene gelangt und in Auflicht (Opakbeleuchtung) untersuchen; man kann aber, besonders, wenn man ein Dauerpräparat haben will, auch anders vorgehen. Dazu schält man (am besten mit einer Rasierklinge), sobald das Stadium von Bild 2 annähernd erreicht ist, den ganzen Kunstharzblock (evtl. auch samt einer dünnen Korkschicht) vom Tragkork ab. Das Objekt kittet man nun mit der Schliffläche nach unten, entweder auf einen anderen Kork, oder — besser — gleich auf einen Objektträger auf, ganz so, wie es die Mineralogen mit Gesteinsschliffen machen. Die Kittschicht muß dazu natürlich sehr dünn aufgetragen werden, um dann nicht zu stören. Dazu drückt man das Objekt vorsichtig, aber fest an, besonders, wenn man gleich mit dem Objektträger arbeitet. Dann läßt man allerdings das Objekt am besten mehrere Tage lang erhärten. Erst wenn der evtl. überstehende Kitt sich nicht mehr mit einem Messer schneiden läßt, kann der Endschliff erfolgen (Natürlich wieder mit dem feinsten Wasserschmirgel und reichlich Wasser; bei diesem Vorgang sind die Arillushaare eine wertvolle Hilfe, da sie, mit Kitt durchsetzt, den nun dünngeschliffenen Samen gut auf dem Objektträger festhalten. Große Vorsicht ist natürlich dennoch vonnöten).

Wahrscheinlich wird es nicht gelingen, den Schliff so dünn zu machen, daß eine Untersuchung in Durchlichtbeleuchtung möglich ist. Das ist aber auch gar nicht nötig. Man sieht, auch opak, genau das Bild (Bild 3):
Die harte Schale zeigt drei Schichten. Eine dünne Zone dicht unter der Oberfläche, die von Calciumoxalatkristalldrusen durchsetzt ist; sie gehört eigentlich schon zur äußeren Holzschicht, deren Zellen tangential liegen (*tgA*). Die etwa ebenso dicke darunter liegende Schicht (*T*) hat mehr oder minder radial gestellte Zellreihen und ist das Produkt des äußeren Integuments der Samenanlage, also die eigentliche Testa. Auf sie folgt eine dünne braune Haut, die „innere Testa“ (*iI* = Inneres Integument), die wir früher herausschälen konnten. Sie umschließt prall den Embryo mit seinen großen Keimblättern (Co_1, Co_2) und der schlanken, zur Mikropyle gerichteten Radicula (*R*), und — hier in der Medianebene ganz schmal — das Perisperm (*Psp*).
Die gleiche Präparationstechnik kann man natürlich auch bei anderen harten Samen anwenden, die nicht zu groß sind.

Der erste Teil dieser Arbeit erschien in Mikrokosmos 66, 268—274, H. 9, 1977.

Verfasser: Prof. Dr. Franz Buxbaum, A 8750 Judenburg, Sackgasse 13/I/4

Zur Einführung in die Mikroskopie

Alexandra Mandl

Untersuchung der gebräuchlichsten Heilteemischungen

I. Husten- und Brusttees

Die in der heutigen Zeit in den verschiedensten Bereichen zu beobachtende Tendenz „Zurück zur Natur“ macht sich auch in der Medizin bemerkbar. Diverse Heiltees, die in den letzten Jahrzehnten als Medikamente von untergeordneter Bedeutung waren, kommen zu neuem Ansehen und werden nicht nur in der Volksmedizin verwendet, sondern auch immer häufiger von Ärzten verschrieben. Es handelt sich bei diesen Tees um Mischungen aus mehreren pflanzlichen Drogen, die in zerkleinerter Form vorliegen und deren wirksame Inhaltsstoffe durch Überbrühen mit kochendem Wasser in Lösung gehen.
Es ist nun für den Mikroskopiker eine interessante und lohnende Aufgabe, derartige Teemischungen auf ihre Zusammensetzung hin zu analysieren. Da sich einige dieser Drogen auch für den botanisch Versierten nur mit Hilfe von Lupe und Mikroskop identifizieren lassen, wurden für die nach Indikationsgebieten geordneten Heiltees botanische Bestimmungsschlüssel ausgearbei-

© Biologiezentrum Linz/Austria; Alle Rechte vorbehalten; http://www.biologiezentrum.at/

tet, wobei die morphologischen und anatomischen Grundbegriffe zum Teil als bekannt vorausgesetzt werden.

Husten- und Brusttees

Diese Arbeit beschäftigt sich mit verschiedenen Husten- und Brustteemischungen. Das Untersuchungsmaterial, das durchweg „ungiftige" Bestandteile enthält, kann in Apotheken, Drogerien und Reformhäusern bezogen werden. Bei der Identifizierung eines derartigen Tees geht man so vor, daß man vorerst mit dem freien Auge eine Sortierung in die verschiedenen Pflanzenorgane wie Blätter, Blüten usw. vornimmt. Hierauf erfolgt die genauere Differenzierung mit Hilfe einer Lupe und vor allem durch Betrachtung unter dem Mikroskop. Zu diesem Zweck werden Schnitte oder Quetschpräparate auf einen Objektträger gebracht, mit einigen Tropfen Chloralhydrat befeuchtet, mit einem Deckglas bedeckt und kurz über dem Mikrobrenner erwärmt. Um spezifische Inhaltsstoffe wie Stärke oder Schleim feststellen zu können, muß man zusätzlich noch ein Wasser- und ein Jodpräparat anfertigen.

Bestimmungsschlüssel zur Analyse von Hustenteemischungen:

1. a) Blätter oder Blatteile 2
   b) Blüten oder Blütenteile 12
   c) Früchte 18
   d) Wurzeln oder Rhizome 19
   e) andere Pflanzenorgane 23

2. a) Blätter höchstens bis 4 cm lang, schmal lanzettlich 3
   b) Blätter über 4 cm lang, oft in Bruchstükken vorliegend, wenn kleiner, dann nicht schmal lanzettlich 4

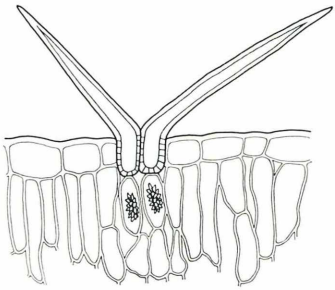


Bild 3: Eibisch, *Althea officinalis*, Querschnitt durch das Blatt. Vergr. 200 : 1.



Bild 4: Lungenkraut, *Pulmonaria officinalis*, Haar mit Zystolith. Vergr. 300 : 1.

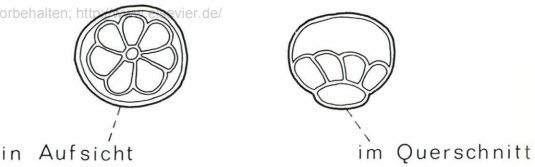


Bild 1: Scheibenförmige Drüsenschuppe. Vergr. 300 : 1.

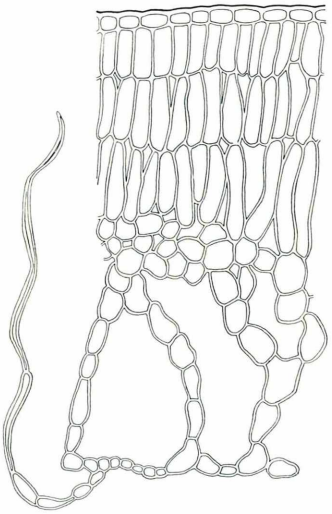


Bild 2: Huflattich, *Tussilago farfara*, Querschnitt durch das Blatt. Vergr. 200 : 1.

3. a) Blätter bis 4 cm lang, nach unten eingerollt, beidseitig drüsig punktiert, beim Zerreiben aromatischer Geruch, mit freiem Auge keine Behaarung festzustellen.
   Anat.: Einzellige, eckzahnförmige Haare mit stark gewarzter Cuticula, Drüsenhaare mit 1—2zelligem Kopf, scheibenförmige, ungef. 16zellige Drüsenschuppen (Bild 1), an Blattunterseite Spaltöffnungen mit zwei senkrecht zur Spaltrichtung liegenden Nebenzellen, keine Kristalle
   Hyssopus officinalis — **Ysop** (Labiatae)

   b) Blätter nur bis 10 mm lang, nach unten eingerollt, an Oberseite drüsig punktiert, an der Unterseite schwache Behaarung, beim Zerreiben aromatischer Geruch.
   Anat.: An Blattoberseite einzellige, eckzahnförmige Haare, an Blattunterseite 2-zellige, knieartig gebogene Haare mit feinen Calciumoxalatnädelchen im Lumen, scheibenförmige Drüsenschuppen (Bild 1), Spaltöffnungen mit zwei senkrecht zur Spaltrichtung liegenden Nebenzellen
   Thymus vulgaris — **Thymian** (Labiatae)

4. a) Mit freiem Auge oder mit der Lupe Haare zu erkennen 5
   b) Mit freiem Auge oder mit der Lupe keine Haare zu erkennen 9
5. a) Behaarung auf Blattober- und Unterseite 6
   b) Behaarung nur auf der Blattunterseite als dichter, heller Filz, Blätter groß, mit buchtigem Rand, Nervatur handförmig.
   Anat.: Haare der Blattunterseite mit mehrzelligem Stiel und langer, peitschenförmiger Endzelle, im Schwammgewebe große Lufträume (Bild 2), in den Meso-

phyllzellen gelegentlich Klumpen oder sphärische Kristalle von Inulin, keine Oxalatkristalle

Tussilago farfara — **Huflattich** (Compositae)

c) Behaarung vorwiegend am Blattgrund, Blattrand und Stengel, Nervatur netzförmig. Spreite dünn.
Anat.: Haare einzellig, lang, stark verdickt, am Blattrand retortenförmig gekrümmt, Epidermiszellen gewellt, Spaltöffnungen nur unterseits, keine Oxalatkristalle

Hepatica nobilis — **Leberblümchen** (Ranunculaceae) (junges Blatt)

6. a) Blätter eiförmig mit netzförmiger Nervatur 7
b) Blätter rundlich mit handförmiger Nervatur, Behaarung dicht.
Anat.: Haare einzellig, derbwandig mit getüpfelter, in die Epidermis eingesenkter Basis, zu Büscheln verwachsen (Bild 3), selten Drüsenhaare aus mehreren übereinanderliegenden Zellen, Calciumoxalatdrüsen entlang der Nerven

Althaea officinalis — **Eibisch** (Malvaceae)

7. a) Blätter bis 5 cm lang, im Ganzen vorliegend 8
b) Blätter bis 10 cm lang, in Bruchstücken vorliegend, eiförmig, ganzrandig.
Anat.: Auf beiden Blattepidermen bis 2 mm lange Borstenhaare mit retortenförmig erweiterter Basis, in der gelegentlich ein traubenförmiger Zystolith enthalten ist (Bild 4), daneben kürzere und schlankere Haare, selten Drüsenhaare mit 4 Stielzellen und kugeliger Endzelle, Spaltöffnungen unterseits, keine Oxalatkristalle

Pulmonaria officinalis — **Lungenkraut** (Boraginaceae)

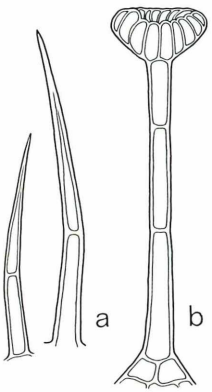


Bild 5: Hohlzahn, *Galeopsis segetum*, Deckhaare (a) und Drüsenhaar (b). Vergr. 200 : 1.

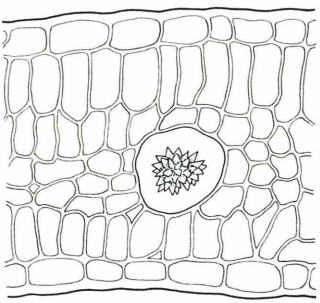


Bild 6: Vogelknöterich, *Polygonum aviculare*, Querschnitt durch das Blatt. Vergr. 200 : 1.

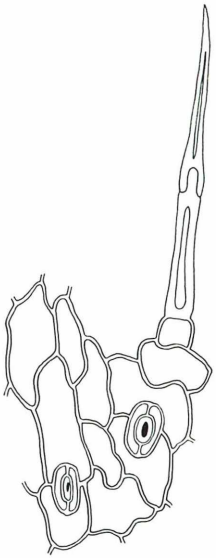


Bild 7: Spitzwegerich, *Plantago lanceolata*, Aufsicht auf Blattepidermis. Vergr. 300 : 1.

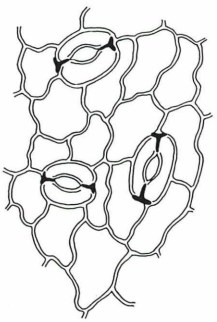


Bild 8: Edelkastanie, *Castanea sativa*, Blattepidermis mit Spaltöffnungen. Vergr. 200 : 1.

8. a) Blätter bis 5 cm lang, Blattrand gesägt, Behaarung weich, beim Zerreiben schwacher Geruch.
Anat.: Haare 1—3zellig mit kugelig erweiterter Basis, am Blattrand langgestielte Drüsenhaare mit 16zelligem Kopf (Bild 5). Scheibendrüsen selten, Spaltöffnungen mit 3—4 Nebenzellen, im Mesophyll kleine Calciumoxalatnädelchen

Galeopsis segetum — **Hohlzahn** (Labiatae)

b) Blätter 2—3 cm lang, ganzrandig, Behaarung graufilzig, beim Zerreiben starker Geruch.
Anat.: Haare 1—5zellig, gerade oder gebogen, dünnwandig, mit schwach gewarzter Endzelle, einzellige Köpfchenhaare, häufig scheibenförmige Drüsenschuppen (Bild 1), Spaltöffnungen mit zwei senkrecht zur Spaltrichtung liegenden Nebenzellen, in den Ecken der Gliederhaare gelegentlich Oxalatnädelchen

Majorana hortensis — **Majoran** (Labiatae)

9. a) Blätter länglich-lanzettlich, meist in Bruchstücken 10
b) Blätter breit eiförmig, meist in Bruchstükken 11

10. a) Blätter mit netzförmiger Nervatur und knotig gegliedertem Stengel, an den Kno-



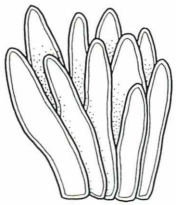
Bild 9: Wollblume, *Verbascum phlomoides*. a Korolle aufgeschnitten, b Haar des Staubblattes. Vergr. 150 : 1.



ten eine verwachsene Scheide aus zerschlitzten weißlichen Nebenblättern (Ochrea).
Anat.: Blattbau isolateral (Palisaden an Blattober- und Unterseite), im zentralen Schwammgewebe große Calciumoxalatdrusen, keine Haare (Bild 6)
Polygonum aviculare
Vogelknöterich (Polygonaceae)

b) Blätter mit fast paralleler Nervatur, keine Blattscheiden, Blätter in getrocknetem Zustand meist dunkel.
Anat.: Blattbau isolateral, keine Oxalatkristalle, 2—3zellige Haare nur an den Nerven, selten Drüsenhaare mit vielzelligem, länglichem Köpfchen, Spaltöffnungen mit zwei senkrecht zur Spaltrichtung angeordneten Nebenzellen (Bild 7)
Plantago lanceolata —
Spitzwegerich (Plantaginaceae)

11. a) Blätter dreilappig, ganzrandig, Spreite ledrig.
Anat.: Haare einzellig, verdickt, nur an der Blattunterseite, am Blattrand retortenförmig gekrümmte Haare, Epidermiszellen gewellt, Spaltöffnungen nur unterseits, keine Oxalatkristalle
Hepatica nobilis —
Leberblümchen (Ranunculaceae)
(altes Blatt)



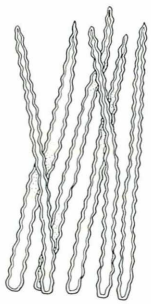


Bild 10: Veilchen, *Viola odorata*. Flaschenförmige Haare (a) und Buckelhaare (b) der Korollepidermis. Vergr. 300 : 1.

b) Blätter breit eiförmig, Blattrand gesägt, Spreite etwas ledrig.
Anat.: An Blattunterseite vereinzelt einzellige, dickwandige Haare, selten Drüsenhaare mit 3zelligem Stiel und großem, mehrzelligem bzw. kleinem einzelligen Köpfchen, Mesophyll mit zum Teil sehr großen Calciumoxalatdrusen, an Blattunterseite Spaltöffnungen mit T-förmigen Verdickungen an den Polen (Bild 8)
Castanea sativa —
Edelkastanie (Fagaceae)

12. a) Blüten mit gelben Korollblättern . . . 13
b) Blüten mit anders gefärbten Korollblättern. 14

13. a) Im Tee nur Korollblätter mit anhaftenden Staubblättern, 5 Korollblätter (bis 2 cm lang) im unteren Teil gelegentlich noch verwachsen, mit 5lappigem Saum, intensiv oder schmutzig gelb, an der Innenseite flaumig behaart, 5 Staubgefäße, zwei kahl mit längsgestellten Antheren, drei stark behaart mit quergestellten Antheren (Bild 9 a).
Anat.: Haare der Korolle strauchästig verzweigt, die der Staubblätter keulenförmig mit cuticularer Warzung (Bild 9 b), Kristalle fehlen, Pollenkörner kugelig, rötlich gefärbt, mit 3 Austrittsporen
Verbascum phlomoides —
Wollblume (Scrophulariaceae)

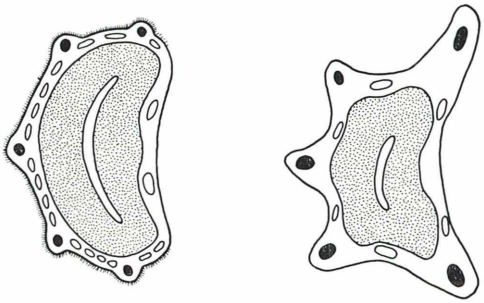


Bild 12: Fenchel, *Foeniculum vulgare*, Querschnitt durch die Frucht. Vergr. 20 : 1.

Bild 11: Anis, *Anisum vulgare*, Querschnitt durch die Frucht. Vergr. 20 : 1.

b) Blüten vollständig mit Kelch und Korolle, klein, oft noch in Scheinquirlen, Kelch röhrenförmig, Korolle verwachsen-blättrig mit bleichgelber Oberlippe und weißlicher Unterlippe mit gelbem Fleck, behaart, vier zweimächtige Staubblätter, oberständiger Fruchtknoten.
Anat.: An Kelch und Korolle zahlreiche scheibenförmige Drüsenschuppen (Bild 1), an der Korolle zusätzlich 1—3zellige Haare mit erweiterter Basis, Pollen kugelig mit 6 Austrittsporen
Galeopsis segetum —
Hohlzahn (Labiatae)

14. a) Blüten mit blau-violetten Korollblättern 15
b) Blüten mit hellrosa-dunkelroten Korollblättern 17

15. a) Korolle freiblättrig 16
b) Korolle verwachsenblättrig, Blüten ungefähr 1 cm lang, oft in Scheinquirlen, mit fünfzähligem, röhrenförmigem, blauüberlaufenem Kelch, Korolle in Ober- und Unterlippe ausgezogen, vier zweimächtige Staubblätter, oberständiger Fruchtknoten.
Anat.: An allen Blütenteilen scheibenförmige Drüsenschuppen (Bild 1) und einzellige Eckzahnhaare, keine Kristalle, Pol-

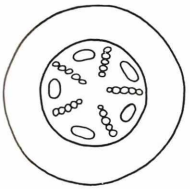


Bild 13: Schlüsselblume, *Primula veris*, Querschnitt durch die Wurzel, schematisch.

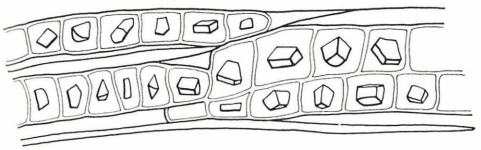


Bild 14: Süßholz, *Glycyrrhiza glabra*. Faserbündel mit Kristallzellreihen im Längsschnitt. Vergr. 150 : 1.

© Rechte vorbehalten; http://www.zobodat.at

lenkörner kugelig, mit glatter Exine und 6 Austrittsporen

Hyssopus officinalis — **Ysop** (Labiatae)

16. a) Blüten bis 2 cm lang, mit 5 weich behaarten Kelch- und 3 borstig behaarten Außenkelchblättern, Korolle intensiv violett gefärbt, zahlreiche zu einer Röhre verwachsene Staubblätter, Fruchtknoten 10fächerig mit 10 violetten Narbenschenkeln.
Anat.: Kelch und Außenkelch: starre, einzellige, an der Basis zu Büscheln verwachsene Haare, daneben einzelstehende gebogene Haare und mehrzellige Drüsenhaare, im Mesophyll Calciumoxalatdrusen entlang der Nerven.
Korolle: im Mesophyll durchsichtige, hellaufleuchtende Schleimzellen und Oxalatdrusen entlang der Nerven. Pollenkörner kugelig, mit stacheliger Exine, bis 170 µm groß

Malva silvestris — **Käsepappel** (Mavaceae)

b) Blüten bis 1 cm lang, fünfzählig, mit 3-fächerigem Fruchtknoten, im Tee auch bereits die 3klappig aufspringenden mehrsamigen Kapseln vorhanden.
Anat.: Kelchblätter: einzellige, spitzkegelförmige Haare mit cuticularen Längswarzen, im Mesophyll des Blattgrundes Calciumoxalatdrusen.
Korolle: dünnwandige einzellige Haare mit buckelartigen Ausstülpungen und vorwiegend am Blattgrund einzellige, flaschenförmige Haare (Bild 10)

Viola odorata — **Veilchen** (Violaceae)

17. a) Im Tee nur Korollblätter vorhanden, diese purpurrot-rotbraun, bis 6 cm lang mit sehr dünner Spreite, am Grund mit dunklem Fleck, freiblättrig.
Anat.: Epidermiszellen in Flächenansicht rechteckig mit gewellten Seitenwänden, keine Oxalatkristalle, keine Haare, Pollenkörner kugelig, mit glatter Exine und 3 Austrittsporen

Papaver rhoeas — **Klatschmohn** (Papaveraceae)

b) Blüten vollständig, bis 1 cm lang, oft noch in Scheinquirlen in den Achseln von graufilzig behaarten Deckblättchen, Kelch röhrenförmig, Korollblätter verwachsen mit Ober- und Unterlippe, weißlich-rosaviolett, vier zweimächtige Staubblätter, vierfächeriger Fruchtknoten.
Anat.: Auf allen Blütenteilen 1—3zellige meist gebogenen Haare und scheibenförmige Drüsenschuppen (Bild 1), keine Oxalatkristalle, Pollenkörner kugelig, mit glatter Exine und 6 schlitzförmigen Austrittsöffnungen

Majorana hortensis — **Majoran** (Labiatae)

18. a) Früchte aus 2 Teilfrüchtchen bestehend, die meist noch aneinander haften, gelegentlich Stielchen vorhanden, Teilfrucht bis 6 mm lang, birnenförmig, bräunlichgrau, mit 5 wenig hervortretenden Längsrippen, Geruch aromatisch.
Anat.: Epidermis der Fruchtwand mit einzelligen, gewarzten Haaren bedeckt, im Fruchtfleisch ungefähr 15 ovale, braunausgekleidete Ölstriemen, Samenschale einreihig, braun, im Nährgewebe fettes Öl und Aleuronkörner mit kleinen Oxalatdrusen (Bild 11)

Anisum vulgaris — **Anis** (Umbelliferae)

b) Früchte immer in die zwei Teilfrüchtchen zerfallen, keine Stiele vorhanden, Teilfrucht bis 10 mm lang, zylindrisch, bräunlichgrau, mit 5 stark hervortretenden Längsrippen, Geruch aromatisch.
Anat.: Epidermis der Fruchtwand kahl, im Fruchtfleisch 6 braun ausgekleidete ovale Ölstriemen (jeweils in den Tälchen der Frucht) von braunen Parenchymzellen umgeben. Samenschale einreihig, braun, im Nährgewebe fettes Öl und Aleuronkörner mit kleinen Calciumoxalatdrusen (Bild 12)

Foeniculum vulgare — **Fenchel** (Umbelliferae)

19. a) Droge besteht aus regelmäßigen, im Durchschnitt 3—5 mm dicken Wurzelstücken **20**
b) Droge besteht aus 3 mm dicken, grobhöckerigen, braunen Rhizomen und 1 mm dicken hellen Wurzeln.
Anat.: Rhizom mit breiter Rinde aus getüpfelten Parenchymzellen, innerhalb der Endodermis zwei voneinander getrennte Gefäßbündelkreise, im Inneren großes Mark aus getüpfelten Parenchymzellen mit kleinen, kugeligen Stärkekörnern.
Wurzel mit pentarchem Gefäßbündel (Bild 13), Grundgewebe aus getüpfelten Parenchymzellen mit Stärke (Wasserpräparat)

Primula veris — **Schlüsselblume** (Primulaceae)

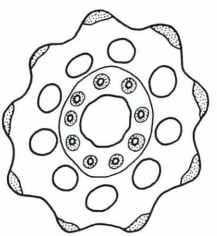


Bild 15: Schachtelhalm, *Equisetum arvense*, Querschnitt durch den Hauptsproß. Vergr. 15 : 1.

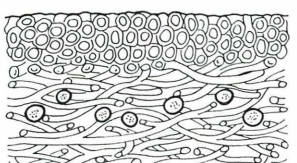


Bild 16: Isländische Flechte, *Cetraria islandica*, Querschnitt durch den Thallus. Vergr. 200 : 1.

© Springer-Verlag GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.springer.com

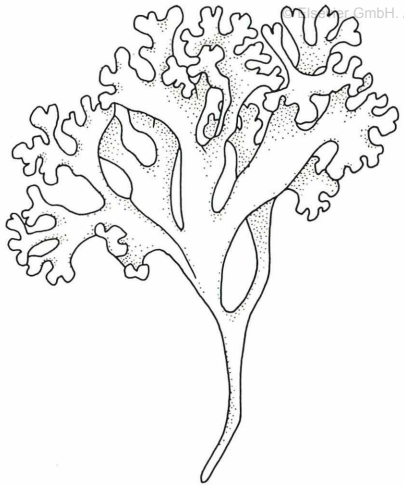


Bild 17: Irländische Alge, *Chondrus crispus*, Thallus. 1 : 2.

---

20. a) Wurzelstücke ohne Kork, Bruch faserig oder stäubend **21**
b) Wurzelstücke mit Kork, nicht faserig, nicht stäubend **22**

21. a) Wurzelstücke gelb, Bruch durchwegs faserig, Geschmack süßlich.
Anat.: In Rinde und Holzkörper radiale Reihen von Faserbündeln, von Parenchymzellen mit Einzelkristallen umgeben (Bild 14), im Holzkörper große, gelbe Gefäße, Stärke rundlich, mit Spalt
Glycyrrhiza glabra —
Süßholz (Leguminosae)

b) Wurzelstücke weißlich, Bruch stäubend, im Rindenteil faserig, Geschmack schleimig.
Anat.: In der Rinde tangentiale Reihen von Faserbündel, Holzkörper fast faserfrei, wenig Gefäße. In allen Teilen der Wurzel Calciumoxalatdrusen und rundliche, hell aufleuchtende Schleimzellen sowie reichliche Menge von nierenförmigen Stärkekörnern mit länglichem Spalt
Althaea officinalis —
Eibisch (Malvaceae)

22. a) Wurzelstücke mit hellbraunem, längsfurchigen Kork, Rinde und Holzkörper weiß-hellbraun.
Anat.: In Rinde und Holzkörper große ovale Sekretgänge, braune Kambiallinie, Gefäße des Holzteiles in radiären Reihen, keine Oxalatkristalle, keine Fasern, keine Stärke, in den Parenchymzellen manchmal Klumpen von Inulin
Inula helenium —
Alant (Compositae)

b) Wurzelstücke mit rotbraunem Kork, Rinde weißlich, Holzkörper gelb.
Anat.: In allen Teilen der Wurzel große Calciumoxalatdrusen, selten Kristallsand. Gefäße des Holzkörpers in radiären Reihen, keine Sekretgänge, keine Fasern, keine Stärke
Saponaria officinalis —
Seifenkraut (Caryophyllaceae)

23. a) Stücke von knorpeliger Konsistenz, verzweigt, gelb-braun **24**
b) Grüne Stengelstücke, ungefähr 3—5 mm dicke, gegliederte Hauptstengel mit 9—16 Längsrippen, an den Knoten zu Blattscheiden reduzierte dreieckige Blättchen mit braunen Spitzen, und wirtelig angeordnete Seitenäste, die nur 1 mm dick sind und 4—5 stark hervortretende Längsrippen aufweisen.
Anat.: Hauptstengel: In den Rippen Faserbündel, in den Tälern im Mesophyll je ein großer Hohlraum, innerhalb der Endodermis Gefäßbündel mit kleinen Hohlräumen, im Zentrum eine große Markhöhle (Bild 15).
Seitenast: Keinerlei Hohlräume, Gefäßbündel im Zentrum. Haupt- und Seitenäste haben längliche Epidermiszellen mit ovalen Spaltöffnungen, die von je 2 Nebenzellen mit leistenförmigen Verdickungen überdacht sind
Equisetum arvense —
Schachtelhalm (Equisetaceae)

24. a) Stücke knorpelig, geweihartig verzweigt, an Unterseite weiße rundliche Atemöffnungen zu sehen (Thallus einer Flechte).
Anat.: Thallus besteht vorwiegend aus länglichen, verflochtenen Hyphen, in der Mitte eine Schicht aus runden, grünen Algenzellen (Bild 16)
Cetraria islandica —
Isländische Flechte (Lichenes)

b) Stücke knorpelig, gelappt, keine Atemöffnungen (Thallus einer Alge, Bild 17).
Anat.: Thallus besteht aus verflochtenen Zellfäden, deren Wände Schleimauflagerungen tragen, keine Algenzellen eingelagert
Chondrus crispus —
Irländische Alge (Rodophyta)

Zeichnungen: Heidemarie Thiele

Verfasserin: Dr. Alexandra Mandl, Biberstr. 8/7, A-1010 Wien, Österreich.

Ausstrichverfahren zur Untersuchung der Chromosomen von Schmetterlingen

Von den mehr als 100 000 beschriebenen Schmetterlingsarten sind bisher nur ungefähr 1% auf ihre Chromosomenzahl untersucht worden, was einerseits an der geringen Größe und der isodiametrischen Form der Chromosomen liegen mag, andererseits aber auch darauf zurückzuführen ist, daß sich befriedigende Quetschpräparate der Hoden, die von einem dickwandigen Beutel umschlossen werden, nur schwer herstellen lassen. Einige Autoren haben sich damit beholfen, larvale Hoden zu untersuchen, die noch nicht von einem gemeinsamen Beutel umschlossen sind. Von adulten Tieren lassen sich gute Ausstrichpräparate gewinnen, indem man nach dorsalem Einschneiden des Abdomens zwischen dem 3. und 4. Segment den Hoden entnimmt, in kalter Ringer-Lösung gut abspült, um ihn von anhaftendem Gewebe zu reinigen, auf das Ende eines Objektträgers überträgt und mit einer scharfen Präpariernadel ansticht, damit der Inhalt auslaufen kann. Nach Zugabe eines kleinen Tropfens kalter Ringer-Lösung wird der Beutel entfernt und der verbleibende Tropfen mit Hilfe eines 22×50 mm messenden Deckglases auf dem Objektträger ausgestrichen. Entweder wird sofort 2%ige Eisessig-Orcein-Lösung zugegeben und das Deckglas aufgelegt oder aber nach Lufttrocknung sofort in Dämpfen der Carnoyschen Fixierlösung fixiert und dann erst gefärbt.

Murty, A. S. and Rao, N. N.: Smear technique for studying lepidopteran chromosomes. Stain Technol. **52**, 177—178 (1977). A. Pareto

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

Bruno P. Kremer

Beobachtungen zur Blattanatomie an Pflanzen mit C_4-Photosynthese

Unter den heute weltwirtschaftlich bedeutenden Kulturpflanzen fallen einige Arten wie etwa Zuckerrohr (*Saccharum officinarum*) oder auch Mais (*Zea mays*) durch eine überdurchschnittlich hohe Produktivität auf. Zahlreiche vergleichende Messungen ergaben dabei, daß unter konstanten Untersuchungsbedingungen die Nettoassimilationsraten dieser Arten (bezogen auf den Chlorophyllgehalt oder die Blattfläche) den 3fachen Wert sonst üblicher Photosyntheseleistungen durchaus überschreiten können. In den zurückliegenden 10 Jahren sind diesem bemerkenswerten Effekt zahlreiche physiologische und biochemische Forschungsarbeiten gewidmet worden, die zu der überraschenden Feststellung führten, daß die sogenannten tropischen Hochleistungspflanzen vom Typ des Zuckerrohrs oder des Mais mit einem einzigartigen Zusatzmechanismus zur photosynthetischen CO_2-Assimilation ausgestattet sind, der sie zu einer ungewöhnlichen Produktivität befähigt.

Die meisten grünen Pflanzen verbinden das aufgenommene atmosphärische Kohlendioxid üblicherweise mit dem Zucker Ribulose-1,5-biphosphat zu einem kurzlebigen, instabilen C_6-Zwischenprodukt, das unmittelbar in 2 C_3-Körper (=3-Phosphoglycerinsäure) zerfällt, die ihrerseits als erste stabile Zwischenprodukte der photosynthetischen Kohlenstoffreduktion in der Pflanze vorgefunden werden können. Zukkerrohr, Mais und eine Reihe weiterer Arten bilden hingegen aus atmosphärischem CO_2 mit einem anderen Akzeptormolekül, Phosphoenolbrenztraubensäure, zunächst eine C_4-Dicarbonsäure (=Oxalessigsäure), die in Äpfelsäure (=Malat) und/oder Asparaginsäure umgewandelt, anschließend in

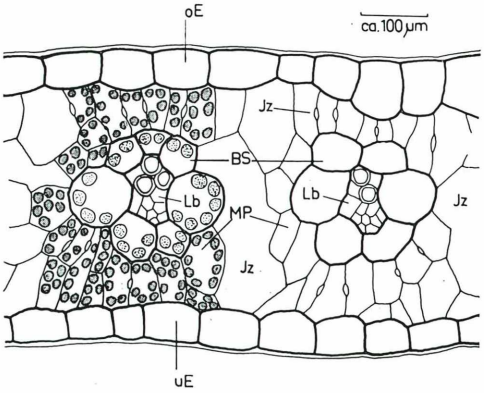


Bild 1: Schematische Darstellung eines Querschnitts durch ein Blatt von Mais *Zea mays*. *oE*, *uE* obere bzw. untere Epidermis *Lb* Leitbündel; *Iz* Interzellularen; *BS* Bündelscheide; *MP* Mesophyllzellen. Der unterschiedliche Plastidenbesatz beider Gewebe ist nur in dem links dargestellten Leitbündel skizziert.

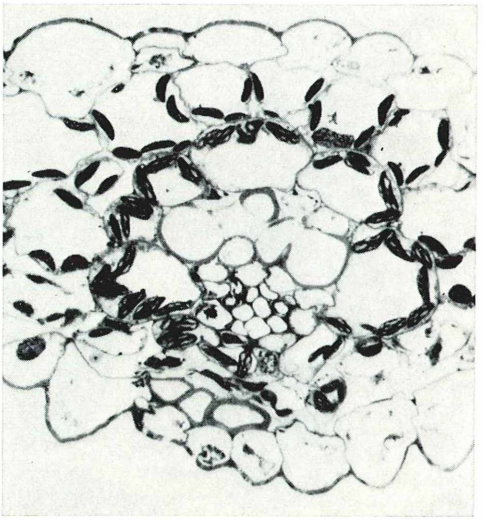


Bild 2: Schnitt durch ein Blattleitbündel von *Zea mays*. Neben der charakteristischen Anordnung von Bündelscheide und Mesophyll ist auch die unterschiedliche Struktur der Chloroplasten erkennbar. Vergr. ca. 200×.

andere Zellen transportiert wird, und nach Decarboxylierung ihr CO_2 schließlich auch auf Ribulose-1,5-biphosphat überträgt. Da in diesen Pflanzen als erste wichtige Photosyntheseprodukte mithin verschiedene C_4-Dicarbonsäuren erscheinen, bezeichnet man die u. a. in Mais und Zuckerrohr beobachtete Reaktionsfolge auch als C_4-Photosynthese. Arten mit dem herkömmlichen Ablauf der photosynthetischen Kohlenstoffassimilation über 3-Phosphoglycerinsäure tragen die Bezeichnung C_3-Pflanzen; Spezialisten mit dem zusätzlichen Dicarbonsäure-Weg werden entsprechend C_4-Pflanzen genannt.

Die genauere biochemische Unterscheidung zwischen C_3- und C_4-Pflanzen ist nur über den Einsatz komplizierterer Untersuchungsmethoden, meist unter Verwendung von Radioisotopen, möglich. C_4-Pflanzen unterscheiden sich von den C_3-Arten jedoch nicht nur in speziellen biochemischen Reaktionsfolgen, sondern außerdem in einer Reihe anatomischer und physiologischer Eigenheiten. Diese eher strukturellen Unterscheidungsmerkmale sind uns auch in lichtmikroskopischen Untersuchungen vergleichsweise leicht zugänglich. Ihre Charakteristika können am Beispiel der gut beschaffbaren Maispflanze beobachtet und erkannt werden. Hierzu können etwa 8 Tage alte Pflanzen verwendet werden, die aus Maiskaryopsen auf feuchtem Filtrierpapier in Petrischalen angezogen worden sind.

Querschnitte durch die Blätter beliebiger grüner Pflanzen lassen im allgemeinen den verbreitetsten Strukturtypus dieser Assimilationsorgane erkennen: unter der farblo-

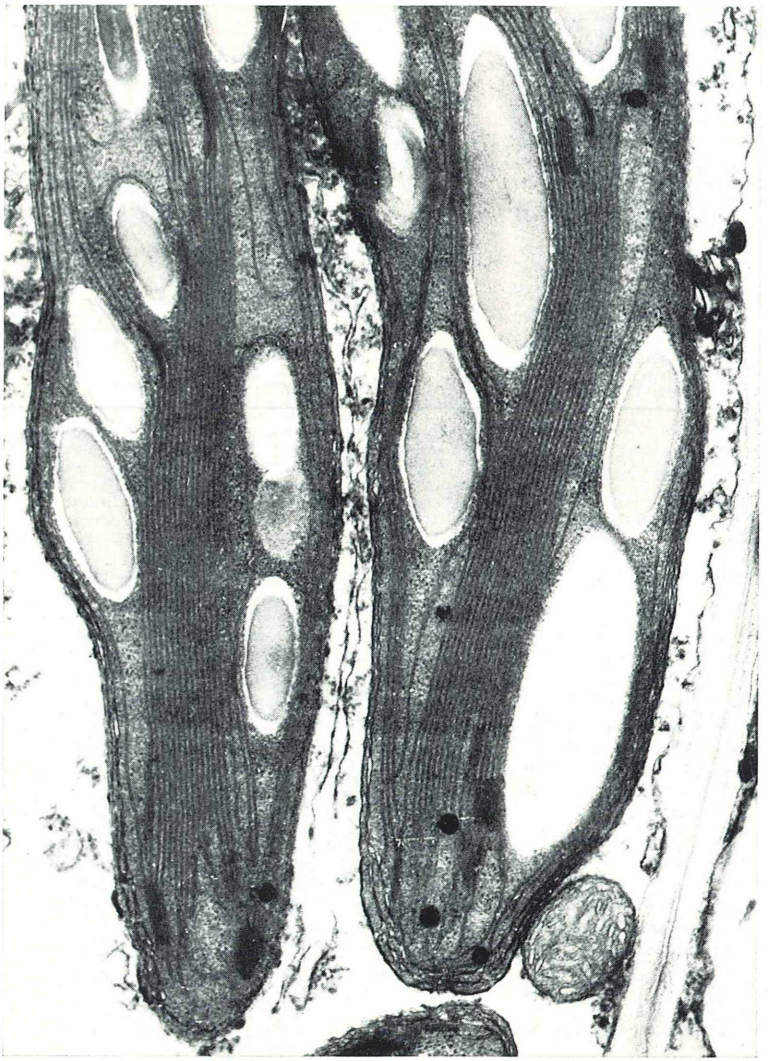


Bild 3: Elektronenoptische Aufnahme eines Bündelscheidenchloroplasten von *Zea mays*. Neben der agranalen Struktur fällt die reichlich eingelagerte Assimilationsstärke auf. Vergr. 25 000× (Aufnahme: Dr. H. H. Steinbiß).

© Elsevier GmbH

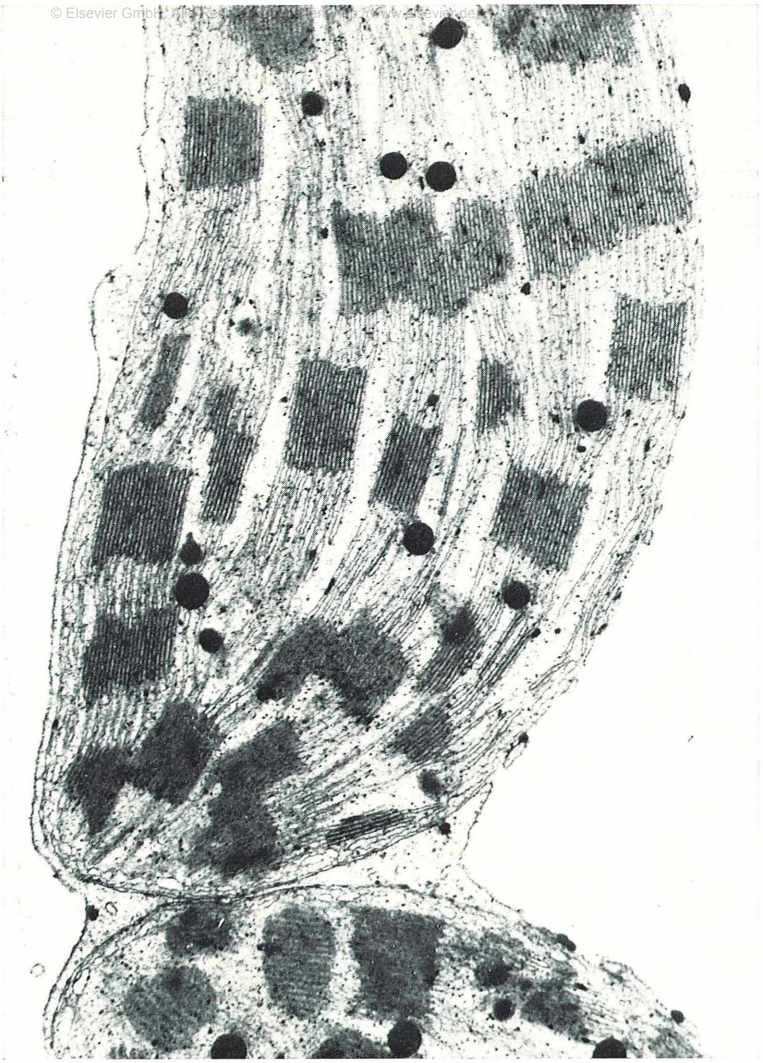


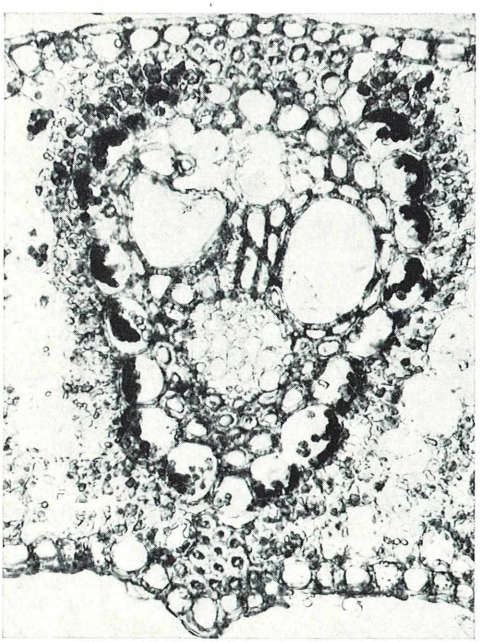
Bild 4: Elektronenoptische Aufnahme eines Mesophyllchloroplasten von *Zea mays*. Diese Chloroplasten weisen keine Stärkeeinlagerungen auf, zeigen dafür aber die typischen Granabereiche, die im Lichtmikroskop bereits als feine Körnung auffallen. Vergr. ca. 40 000× (Aufnahme: Dr. H. H. Steinbiß).

sen Epidermis der Blattoberseite beginnt das Chlorenchym mit einer meist einreihigen Lage eng zusammenstehender, gestreckter Zellen (=Palisadenparenchym), die sich zur Blattunterseite in einen lockeren Verband grüner Zellen mit großem Interzellularensystem (=Schwammparenchym) fortsetzt und an der Blattunterseite selbst wiederum von einer Epidermis abgeschlossen wird. An der Blattunterseite finden sich in der Regel auch die Spaltöffnungen, die den Gasaustausch mit der Atmosphäre ermöglichen. Beide Blattseiten sind mithin unterschiedlich gebaut; Blätter dieses anatomischen Typs sind bifazial oder dorsiventral gestaltet.

Die in ihrem photosynthetischen Reaktionsablauf auf die Primärsynthese von C_4-Dicarbonsäuren spezialisierten Pflanzen zeigen dagegen eine abweichende Blattanatomie. Die auftretenden Unterschiede sind erheblich. Am quergeschnittenen Maisblatt ist erkennbar, daß die Blattleitbündel in konzentrischen Kreisen radial von Zellen unterschiedlicher Größe umgeben sind: Ein Ring relativ dickwandiger, großlumiger, fast zylindrischer Zellen, die zwischen sich keine Interzellularen aufweisen, umgibt als eng anliegende Hülle den Gefäß- und Siebteil des Leitbündels; er repräsentiert die Leitbündelscheide. Dieser Zellring wird beim Mais seinerseits von einer Lage dünnwandiger, kleinerer, fast palisadenartig gebauter Zellen umgeben, die teilweise durch recht große Interzellularräume getrennt sind. Sie stellen die eigentlichen Mesophyllzellen dar. Während der innere Ring eher an ein Palisadenparenchym erinnert, zeigt

der äußere Zellring, der mitunter auch stärker aufgelockert sein kann, mehr die Eigenheiten eines Schwammparenchyms. Außerhalb der ringförmigen Bündelscheide und des Mesophyllzylinders sind in dem Blatt keine weiteren Assimilationsparenchyme vorhanden: Alle grünen und damit photosynthetisch aktiven Zellen sind auf die beiden Leitbündel„kränze" beschränkt. Nach ihrem charakteristischen Aussehen wird die besondere Blattanatomie mit Bündelscheide und Mesophyllring daher auch als „Kranztyp" bezeichnet. Betrachtet man ein Blatt dieses Kranztyps, der von Haberlandt 1895 entdeckt und erstmals eingehender beschrieben wurde, im Gegenlicht, so wird man feststellen, daß die grünen Gewebe in der Tat nur im Bereich der Blattnerven angeordnet sind und diese als dunkle Bahnen aus den helleren Leitbündelzwischenräumen herausheben. Im Blatt einer typischen C_3-Pflanze stellen sich diese Verhältnisse dagegen gänzlich anders dar. Hier treten gerade die Leitbündel als helles Adersystem hervor, während die assimilatorisch aktiven und wirksamen Bereiche die Intercostalfelder ausfüllen.

Das Maisblatt zeigt den am häufigsten auftretenden centrischen Blattbautypus, bei dem eine einzelne Bündelscheide zusammen mit nur einer Lage Mesophyllzellen das Leitbündel umgeben. Ähnlich wie die schon vorgestellten Grasarten (*Saccharum, Zea;* Familie Poaceae; hier u. a. zahlreiche Arten der Unterfamilie Panicoideae) zeigen auch Vertreter der Cyperaceae, Chenopodiaceae, Nyctaginaceae, Portulacaceae, Amaranthaceae und weniger weiterer Blütenpflanzenfamilien Blätter mit Kranzanatomie.



Der am Maisblatt vorgestellte und analysierte Grundtypus kann dabei vielfach abgewandelt werden. So sind beispielsweise auch Pflanzen mit einer doppelten Bündelscheide bekannt; bei einer Reihe von Cyperaceen kann auf eine normal grüne Bündelscheide zunächst eine Lage farbloser Zellen und dann erst der grüne Mesophyllkranz folgen. Mitunter sind auch bei typischen C_3-Pflanzen Anklänge an diese Kranzanatomie zu finden, jedoch fehlt hier grundsätzlich die auffallend radiale Anordnung der einzelnen Elemente um die Leitbündel.

Die genauere mikroskopische Analyse der Bündelscheide und des Mesophylls läßt jedoch nicht nur Größenunterschiede der beteiligten Zelltypen erkennen. Auch der Plastidenbesatz der verschiedenen Zellen weist seine Besonderheiten auf. Die Chloroplasten in den Zellen der Leitbündelscheide sind normalerweise deutlich größer als die des Mesophylls. Sie erscheinen außerdem (bei geöffneter Aperturblende) relativ homogen grün. Die Mesophyllchloroplasten vom Mais zeigen dagegen eine auch im Lichtmikroskop gut sichtbare feine Körnung, die offenbar auf die reichlich vorhandenen Grana-Bereiche zurückzuführen ist, die den Plastiden der Bündelscheidenzellen fehlt. Wenn wir am Querschnitt eines Maisblattes, das für einige Stunden zuvor kräftig belichtet wurde, mit Jodjodkalium (=Lugolsche Lösung) einen Stärkenachweis führen, wird erkennbar, daß sich die Bündelscheiden- und Mesophyllchloroplasten auch hierin unterscheiden lassen: Intraplastidäre Stärke tritt ausschließlich in den Chloroplasten der Bündelscheidenzellen auf. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen diesen auch im Lichtmikroskop bereits feststellbaren Chloroplastendimorphismus besonders deutlich. Bündelscheidenplastiden zeigen im Falle des Mais granafreie (agranale) Strukturen, sind aber von zahlreichen Stärkegranula durchsetzt; den Mesophyllchloroplasten fehlt umgekehrt die Assimilationsstärke. Dafür zeigen sie in klassischer Deutlichkeit die als Grana bezeichneten Thylakoidstapel.

Die auffallenden Strukturunterschiede der Chloroplasten aus Bündelscheide und Mesophyll legen die Annahme erheblicher funktioneller Verschiedenheiten nahe. Die eingangs geschilderten Wege der primären

Bild 5: Schnitt durch ein Blattleitbündel vom Zuckerrohr *Saccharum officinarum*. Die Chloroplasten der Leitbündelscheide stehen einheitlich an der leitbündelabgewandten Seite der Bündelscheidenzellen und zeigen mit Jodjodkalium-Lösung die typische Stärkereaktion („Stärkescheide"). Dagegen bleiben die Mesophyllchloroplasten normalgrün — sie enthalten offenbar keine Plastidenstärke.

Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

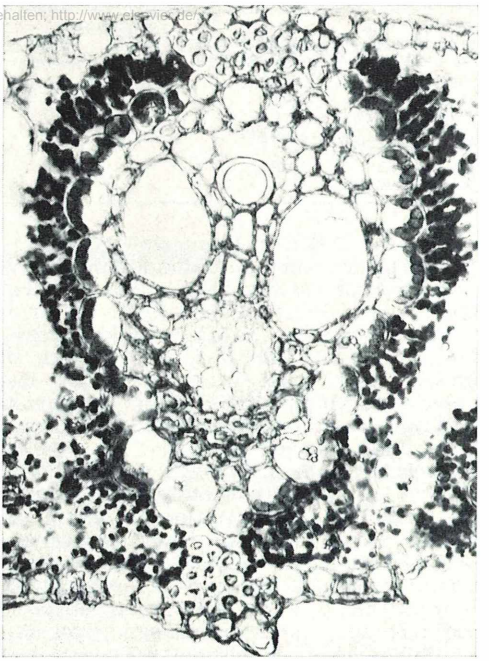


Bild 6: Schnitt durch ein Blattleitbündel von *Saccharum officinarum*. Nach Zugabe des Hill-Reagenz TNBT (vgl. Text) färben sich nur die kleineren Mesophyllchloroplasten schwarz. Die größeren Bündelscheidenchloroplasten nehmen an dieser Reaktion nicht teil und weisen folglich kein Photosystem II auf.

Kohlendioxidassimilation sind nun in der Tat auf die beiden vorkommenden Zelltypen verteilt: Der erste Co_2-Fixierungsschritt, aus dem C_4-Dicarbonsäuren hervorgehen, findet in den Mesophyllzellen statt; das daraus durch Decarboxylierung freigesetzte CO_2 wird in den Chloroplasten der Bündelscheidenzellen auf das sonst (bei C_3-Pflanzen) übliche Akzeptormolekül Ribulose-1,5-biphosphat übertragen.

Ein wesentlicher Teil der Chloroplastenfunktion besteht in der Überführung von physikalischer (=Strahlungs-) Energie in chemisch gebundene Energie. Nach der heute gültigen Vorstellung verfügen die Chloroplasten über die sogenannten Photosysteme I und II, die nach Anregung durch Lichtquanten Elektronen (e^-) abgeben und das entstehende Energiepotential über eine kaskadenartig gestaffelte e^--Transportkette zur Bildung von Energie- und Reduktionsäquivalenten einsetzen. Ein zentraler Vorgang ist dabei der offenkettige, nicht-zyklische Elektronentransport, für den ein funktionsfähiges Photosystem II eine wichtige Voraussetzung ist. Bei vielen C_4-Pflanzen, z. B. auch beim Mais, ist dieses Photosystem II in den granafreien, stärkehaltigen Bündelscheidenchloroplasten stark gestört. Folglich kann hier auch keine Produktion von Reduktionsäquivalent in der Form von NADPH erfolgen.

Durch einen vergleichsweise einfachen Eingriff in den normalen photochemischen Reaktionsablauf kann die Funktion speziell des Photosystem II leicht überprüft werden. Die freigesetzten Elektronen, die normalerweise auf NADP übertragen werden, können auch anderen Verbindungen zugeführt werden, sofern sie nur ein günstiges Redoxpotential aufweisen. Die Möglichkeit, die in den Chloroplasten unter Belichtung freigesetzten e^- mit künstlichen Elektronenakzeptoren abzufangen, ist an isolierten Systemen vielfach erprobt worden — sie wird nach ihrem Entdecker auch Hill-Reaktion genannt. Die Reduktion eines geeigneten Akzeptors kann jedoch auch im histochemischen Maßstab an dünnen Blattquerschnitten unter dem Mikroskop verfolgt werden. Man verwendet dazu das im oxidierten Zustand farblose Hill-Reagenz TNBT (=Tetranitroblau-tetrazoliumchlorid), das bei intaktem Photosystem II von den Cloroplasten innerhalb kurzer Zeit zu blauschwarzem Diformazan reduziert wird. Der zu verwendende Testansatz hat folgende Zusammensetzung:

1 Teil TNBT-Lösung (0,1% in H_2O)
1 Teil 0,1 M Phosphatpuffer pH 6
(A: 1,36 g KH_2PO_4/100 ml;
B: 1,78 g $Na_2HPO_4 \cdot 2\,H_2O$/100 ml; 89 ml A +11 ml B)
3 Teile 0,3 M Saccharose (1,2 g/100 ml).

Die fertigen Handschnitte (oder Gefrierschnitte) werden in einigen Milliliter des fertigen Ansatzes eingelegt, zur besseren Durchdringung mit diesem Medium etwas geschüttelt und in der gleichen Lösung zu einem mikroskopischen Präparat verarbeitet. Sofern man die Schnitte zunächst im Grünlicht beobachtet, wird keine Reaktion festzustellen sein. Erst bei kräftiger Belichtung mit Weißlicht werden sich die Mesophyllchloroplasten innerhalb einer Minute kräftig blauschwarz verfärben. Die Bündelscheidenchloroplasten von Mais zeigen diese Reaktion jedoch nicht, sie bleiben normal grün. Im Kontrollexperiment an Blattschnitten etwa von Weizenpflanzen oder beliebigen anderen Pflanzen werden mit Sicherheit alle Chloroplasten diese histochemische Reaktion aufweisen und damit einen experimentell leicht nachprüfbaren Hinweis auf das Vorhandensein eines funktionierenden Photosystem II geben.

Die Tests zur Feststellung der photochemischen Reaktivität der Chloroplasten in den verschiedenen Assimilationsgeweben der C_4-Pflanzen lassen sich in unterschiedlicher Richtung abwandeln. Einige chemische Verbindungen wirken als sehr spezifische Stoffwechselgifte, weil sie auch noch in sehr großer Verdünnung ganz bestimmte Funktionen im Organismus wirksam unterbinden. Die Elektronenfreisetzung aus dem Photosystem II der Chloroplasten kann bei-

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

Test-Lösung	Test-Bedingungen	*Zea mays* MPC	*Zea mays* BSC	*Panicum miliaceum* MPC	*Panicum miliaceum* BSC
TNBT	Dunkel	—	—	—	—
TNBT	Licht	+	—	+	+
TNBT/DCMU	Licht	—	—	—	—
TNBT mit DCIP/Ascorbat	Dunkel	—	—	—	—
TNBT mit DCIP/Ascorbat	Licht	+	+	+	+

Tabelle 1. Photochemische Reaktivität von Mesophyll- (MPC) und Bündelscheiden-Chloroplasten (BSC): — = fehlende Reaktion (verändert nach Downton et al. 1970).

spielsweise mit dem Hemmstoff DCMU (= 3-(3,4-Dichlorphenyl)-1,1-dimethylharnstoff) hochwirksam gelöscht werden, selbst wenn diese Substanz dem oben beschriebenen Testansatz in einer Endkonzentration von nur 5×10^{-5} M zugefügt wird. In diesen Fällen tritt keine Reduktion des nahezu farblosen TNBT zum schwarzen Diformazan ein, alle Plastiden, auch die des Mesophylls, bleiben grün.

Umgekehrt kann man auch den Nachweis für die Funktion des Photosystem I führen, das in beiden Plastidentypen wirksam ist. Hierzu bietet man zum TNBT-Ansatz als künstlichen Elektronendonator die Verbindung DCIP (=2,6-Dichlorphenolindophenolnatrium) die e^- in die Elektronentransportkette des mit einem etwas negativeren Potentialbereich ausgezeichneten Photosystem I einspeisen kann und selbst durch Ascorbat ständig reduziert wird. Unter den gewählten Testbedingungen kann DCIP den e^--Akzeptor TNBT nicht direkt reduzieren — nur unter Belichtung wird man in allen Chloroplasten eine deutliche Blauschwarzverfärbung erhalten. Im fertigen Test-Ansatz sollten das DCIP/Ascorbat-System in einer Endkonzentration von 1,5 $\times10^{-4}$ M (für DCIP) und 6×10^{-3} M (für Ascorbinsäure) vorliegen.

Nicht alle C_4-Pflanzen weisen wie Mais oder auch Zuckerrohr den auffallenden Chloroplastendimorphismus (Größen-/Struktur-/Funktionsdimorphismus) zwischen Bündelscheiden- und Mesophyllzellen auf. In vielen Fällen werden auch die Plastiden der Bündelscheidenzellen Granabereiche angetroffen werden können. Verwenden wir für unsere Untersuchungen beispielsweise die Blätter von Hirse-Arten (Karyopsen der Rispenhirse, *Panicum miliaceum*, werden häufig als Vogelfutter verwendet; Anzucht von Versuchspflänzchen wie beim Mais möglich), so läßt sich in allen Ergebnissen eine deutliche Granastruktur und, nach den Ergebnissen des TNBT-Tests, ein funktionstüchtiges Photosystem II nachweisen. Ein Vergleich der zu erwartenden Reaktionen mit den Beobachtungen am Maisblatt zeigt die Aufstellung in Tabelle 1.

Die räumliche Betrachtung von Blättern des Kranz-Typs hat zu einer interessanten Spekulation geführt (vgl. Laetsch, 1974): Die charakteristische Anordnung eines von unterschiedlichen Zellringen umgebenen Leitbündels ergibt ein System von Zylindern, die das Blatt der Länge nach durchziehen. Diese Bauweise zeichnet sich durch ein ähnlich günstiges Verhältnis von Oberfläche und Rauminhalt aus, wie es auch Pflanzen mit Stamm- und Blattsukkulenz zeigen. Folglich könnten die C_4-Pflanzen mit zentrischer Blattanatomie auch als Krypto-Sukkulenten aufgefaßt werden. Auffallenderweise verfügen einige Sukkulenten, z. B. Vertreter der Crassulaceae, über die bemerkenswerte Eigenschaft, während der Dunkelheit beträchtliche Mengen atmosphärischen CO_2 in C_4-Dicarbonsäuren (Malat) einzubauen, die tagsüber wieder decarboxyliert werden und ihr CO_2 für die nach üblichem Muster ablaufende photosynthetische Kohlenstoffreduktion abgeben (=diurnaler Säurerhythmus). Im Prinzip liegen hier die gleichen Reaktionssequenzen wie bei der C_4-Photosynthese vor: Während jedoch die echten Sukkulenten die verschiedenen CO_2-Fixierungswege mit großer zeitlicher Verschiebung einsetzen, haben die (krypto-sukkulenten) C_4-Pflanzen eine effektive räumliche Trennung der Reaktionswege eingeführt.

Literaturhinweise:

1. *Downton, W. J. S., J. A. Berry* and *E. B. Tregunna:* C_4 Photosynthesis: non-cyclic electron flow and grana development in bundle sheath chloroplasts. Z. Pflanzenphysiol. **63**, 194—198 (1970).
2. *Hatch, M. D.* and *C. B. Osmond:* Compartmentation and transport in C_4 photosynthesis. In: Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 3, Ed. by Stocking and U. Heber, pp. 144—184 Berlin-Heidelberg-New York 1976.
3. *Laetsch, W. M.:* The C_4 syndrome: a structural analysis. Ann. Rev. Pl. Physiol. **25**, 27—52 (1974).
4. *Schöch, E.* und *D. Kramer:* Korrelation von Merkmalen der C_4-Photosynthese bei Vertretern verschiedener Ordnungen der Angiospermen. Planta **101**, 51—66 (1971).
5. *Schopfer, P.:* Erfolgreiche Photosynthese-Spezialisten: Die „C_4-Pflanzen". Biologie in unserer Zeit **3**, 172—183 (1973).
6. *Tregunna, E. B., B. N. Smith, J. A. Berry* und *W. J. S. Downton:* Some methods for the studying the photosynthetic taxonomy of angiosperms. Can. J. Bot. **48**, 1209—1214 (1970).
7. *Weidner, M., H. H. Steinbiß* und *B. P. Kremer:* Correlations between photosynthetic enzymes, CO_2-fixation and plastid structure in an albino mutant of Zea mays L. Planta **131**, 263—270 (1976).
8. *Wießner, W.:* Bioenergetik bei Pflanzen. Fischer-Verlag Stuttgart 1975.

Bezugsquelle für alle erwähnten Chemikalien u. a. Fa. Serva, Postfach 10 52 60, 6900 Heidelberg 1.

Verfasser: Dr. Bruno P. Kremer, Andreasstr. 51, 5300 Bonn-Bad Godesberg.

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

Paul Bernhard

Nierenkörperchen mit Gefäß- und Harnpol

Die grundlegende Einheit des Nierenorgans ist das Nephron, ein vielfach gewundenes Kanälchen, das mit einem Blutgefäßknäuel (Glomerulum) beginnt und zusammen mit vielen anderen in ein sog. Sammelrohr mündet. Die Hauptmasse des Nierengewebes besteht aus Nephronen (man schätzt beim Menschen pro Niere 1 Million).

Das Nierenkörperchen, der Anfangsteil des Nephrons, besteht aus dem Glomerulum, das in das blind endende Kanälchen hineingewachsen ist; das Glomerulum hat sich gewissermaßen in das Kanälchenende hineingestülpt, ähnlich wie man einen Handschuhfinger von außen eindrücken und einstülpen kann. So ist eine doppelte Umhüllung des Blutgefäßknäuels entstanden: Eine äußere Hülle aus ganz flachen Epithelzellen und eine innere aus sog. Deckzellen, die den Kapillaren des Glomerulums ganz dicht anliegt. Die äußere Hülle (Bowmansche Kapsel) wird auf unserem Bild deutlich durch die sie umschließende (blau gefärbte) Bindegewebsschicht.

Gemäß der keimesgeschichtlichen Entstehung eines solchen Nierenkörperchens besitzt es einen „Gefäßpol", an dem die den Knäuel versorgenden Gefäße in die Kapsel eindringen, und einen Harnpol, an dem das eigentliche Kanälchen abgeht. Der Gefäßpol besteht aus einer zuführenden und einer abführenden kleinen Arterie (Arteriole), zwischen die das Glomerulum als „arterielles Wundernetz" eingeschaltet ist.

Das Glomerulum preßt durch seine Kapillarwände den „Vorharn" ab, ein zell- und eiweißfreies Filtrat des Blutes. Erst im Kanälchen wird dieses Ultrafiltrat konzentriert, und noch brauchbare Stoffe wie Traubenzucker werden rückresorbiert.

Die Harnbereitung erfolgt also in mehreren Stufen: Ultrafiltration im Nierenkörperchen, Rückresorption von Wasser, Zucker, Chloriden im sog. Hauptstück des Nierenkanälchens.

Auf unserem Bild ist in der Mitte das Nierenkörperchen mit dem Glomerulum zu erkennen. Links geht das Nierenkanälchen ab (Harnpol), rechts ist der Gefäßpol zu sehen. Das übrige Gewebe besteht aus schräg- und quergeschnittenen Nierenkanälchen.

Färbung: Azan

Präparat und Aufnahme: Johannes Lieder, Solitudeallee 59, 7140 Ludwigsburg



Bild: Nierenkörperchen mit Gefäßpol (rechts) und Harnpol (links).

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

Kleine Mitteilungen

Tannin-Eisenalaun-Reaktion als Methode der Wahl für makroskopische Gehirnschnitte, die in Kunststoff eingebettet werden sollen

Die Tannin-Eisenalaun-Reaktion zur Färbung makroskopischer Gehirnschnitte, die als Anschauungsmaterial für Unterrichtszwecke dienen sollen, ist der Berlinerblau-Methode auch in ihren Modifikationen überlegen, da bei letzterer auch ohne Einbettung die Präparate allmählich ausbleichen. Die Gehirne sollten so bald nach dem Tode wie möglich entnommen werden und in 10%igem Formol fixiert werden; Perfusion ist noch besser, da damit gleichzeitig das in den Blutgefäßen vorhandene Blut herausgewaschen wird. Mit einem scharfen Messer mit langer, dünner Klinge werden die Gehirne, möglichst in einem Schnitt, in dünne Scheiben zerlegt, und die Pia mater und oberflächlich liegende Blutgefäße werden vorsichtig entfernt. Vor der Färbung werden die Schnitte über Nacht in fließendem Leitungswasser gewaschen, dann in zweimal gewechseltem H_2O dest. jeweils 30—60 min gewaschen. Nun werden die Schnitte einzeln mit Mulligans Lösung (bestehend aus: 40 g kristallinem Phenol, 5 g Kupfersulfat, 1,25 ml HCl konz. in 1 l H_2O dest.) bei 60—65 °C 4 min behandelt. Es sollten mindestens 2 Liter Lösung in einem nichtmetallischen Behälter angesetzt werden. Die Schnitte werden vorsichtig mit einem glatten Spatel mit der Schauseite nach oben in die Lösung und von ihr weiter übertragen. Anschließend kommen sie für 10 Sekunden in Eiswasser. Für 1 min werden sie in 0,4%ige Tanninlösung (Gewicht/Volumen, in H_2O dest.) übertragen. In fließendem Leitungswasser werden die Schnitte 1 min gewaschen. Sie werden in eine 0,08%ige Eisenalaun-Lösung in H_2O dest. übertragen und so lange darin belassen, bis die graue Substanz des Gehirns einen hellen Grauschatten zeigt, etwas heller als letztlich gewünscht, da das gefärbte Gewebe später etwas nachdunkelt. Im allgemeinen ist der richtige Färbegrad nach etwa 10—15 Sekunden erreicht. In lauwarmem Wasser werden die Schnitte 1 Stunde gewaschen, dabei kann man ganz vorsichtig den weißlichen Überzug auf den myelinhaltigen Gehirnabschnitten abreiben. Die gefärbten Schnitte können nun bis zur weiteren Einbettung entweder in 3%igem Formol oder in 25%igem Glyzerin, dem man gegen Schimmelbildung 1% Phenol zugesetzt hat, aufbewahrt werden.

Gregg, R. V.: Tannic acid-iron alum reaction: stain of choice for macroscopic sections of brain to be embedded in plastic. Stain Technol. **50**, 87—91 (1975).

Alexander Pareto

„Stains All" zur gleichzeitigen unterschiedlichen Anfärbung von Nucleinsäuren und Proteinen auf histologischen Präparaten mit Hilfe des J-Band-Effektes

Der ursprünglich zum Nachweis von Proteinen und Nucleinsäuren bei der Gelelektrophorese von Polyribosomen verwendete kationische Cyaninfarbstoff 4,5,4′,5′-Dibenzo-3,3′-diäthyl-9-methyl-thiacarbocyaninbromid (= „stains all", Serva Heidelberg, Best.-Nr. 19284) läßt sich auch in der Histologie zur gleichzeitigen unterschiedlichen Anfärbung von Proteinen und von DNS und RNS gebrauchen. Die „Trichrom"-Wirkung dieses Farbstoffes beruht auf einer schon früher beobachteten und als J-Band-Effekt bezeichneten Erscheinung, daß sich die Maxima des Absorptionsspektrums, das der reine Farbstoff sonst zeigt, in Richtung auf größere Wellenlängen hin verschieben, wenn bei einer Färbereaktion durch Wechselwirkung mit den Polyanionen im Gewebeschnitt bzw. Ausstrich stabile Aggregate gebildet werden, die sich durch Spülen mit Wasser nicht aus den Präparaten entfernen lassen. Die Verfasser verwendeten Hepatocyten-Ausstriche aus menschlichen Autopsie-Material, die sie 10 min in 96%igem Äthanol fixierten und 60 min in 0,005%iger „stains all"-Lösung in 50%igem, wäßrigem Formamid färbten. Ergebnis: DNS in den Zellkernen blau, cytoplasmatische RNS purpurn, Erythrocyten und Serumproteine schwachrot gefärbt. Die Färbung bleicht nicht aus, wenn man die Präparate nicht stundenlanger, intensiver Lichteinwirkung aussetzt. Soll die DNS selektiv bestimmt werden, läßt sich die RNS durch 10minütige Hydrolyse in 1 normaler HCl bei 20 °C und daran anschließendes 15minütiges Spülen in Leitungswasser entfernen. (Der geringe Verlust an DNS-Basen durch diesen Vorgang kann vernachlässigt werden.) Saure Polysaccharide werden durch den Farbstoff ebenfalls blau gefärbt; da sie jedoch im Zellkern nicht vorhanden sind, stören sie bei cytophotometrischen Messungen der DNS nicht.

Haag, D., Tschahargane, C., and Goerttler, K.: Simultaneous differential staining of nucleic acids and proteins in histological tissues by means of J-band effect. Histochemie **26**, 190—193 (1971).

Alexander Pareto

Eine Modifikation der Gleesschen Silbermethode für aufgeklebte Paraffinschnitte von normalem und degenerierendem Nervengewebe

Gehirne werden mit Karnovskyschem Gemisch oder mit 10%igem Formol perfundiert und in 4%igem oder 10%igem Formol mindestens eine Woche aufbewahrt. Das ganze Gehirn wird wie üblich in Paraffin oder Paraplast eingebettet und in 10 µm dicke Schnitte zerlegt. Die Schnitte werden nach dem Entparaffinieren mit einem dünnen Celloidinüberzug versehen und über die absteigende Alkoholreihe für 5 min in H_2O dest. gestellt. Zur Imprägnation werden die Schnitte für mindestens 2 Stunden (24 Stunden führen bei Säugetiergeweben zu optimalen Ergebnissen!) in eine 20%ige, wäßrige Silbernitratlösung gestellt, bzw. so lange, bis sie einen leicht bräunlichen Farbton angenommen haben. Dann werden sie für 10 min mit Nautas Reduktionslösung (400 ml doppeltdestilliertes Wasser, 45 ml 96%iges Äthanol, 13,5 ml 10%iges Formol, 13,5 ml 1%ige Essigsäure) behandelt, anschließend für 15 min in ammonikalische Silbernitratlösung gestellt (5 g $AgNO_3$ werden in 100 ml 80%igem Äthanol gelöst und 25%ige Ammoniaklösung wird so lange tropfenweise zugegeben, bis sich der Niederschlag wieder auflöst. 3 weitere Tropfen Am-

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

moniak werden dann je 100 ml noch zugegeben; die Lösung muß unmittelbar vor Gebrauch hergestellt werden und das sie enthaltende Gefäß muß während der Färbung gut verschlossen sein). Da es von der Flüssigkeitsoberfläche nach unten einen Gradienten gibt, der die Hintergrundanfärbung beeinflußt, müssen große Schnitte nach 7,5 min im Färbegefäß gedreht werden. 10 Sekunden werden die Schnitte kräftig in absolutem Äthanol gespült, dann mit der zweiten Reduktionslösung (400 ml 10%iges Formol, 50 ml 96%iges Äthanol, 20 ml 1%ige Essigsäure), die nach 5 min erneuert bzw. gewechselt wird, 10 min behandelt. In fließendem Leitungswasser werden die Objektträger mit den Schnitten 10 min gewaschen, 3 min in 5%iger Natriumthiosulfat-Lösung fixiert, wieder 10 min in fließendem Leitungswasser gespült. Über die aufsteigende Alkoholreihe werden die Schnitte zur Entfernung des Celloidins für 20 min in eine Mischung aus gleichen Teilen von Äthyläther und absolutem Alkohol gestellt, in Terpineol/Xylol aufgehellt und über 3mal gewechseltes Xylol in DePeX eingeschlossen. Ergebnis: Zellkörper sind gelborange gefärbt mit deutlich zu unterscheidenden Zellkernen und Nucleoli, Nervenfortsätze sind dunkelbraun oder schwarz; das Neuropilem schwankt im Farbton zwischen hellerem und dunklerem Gelb.

Novotny, E., and Novotny, G. E. K.: A modification of the Glees silver impregnation for normal and degenerating neuvous tissue. Stain Technol. 49, 273—280 (1974).

Alexander Pareto

Bücherschau

Helmdach, F.-F.: Leitfaden zur Bestimmung fossiler und rezenter Ostrakoden. 264 S., 243 Abb., 6 Taf. — Walter de Gruyter, Berlin-New York. Geb. DM 78,—.

Das handliche Buch richtet sich, wie der Autor in der Vorbemerkung ausführt, an „Studierende der Fächer Geologie-Paläontologie". Tatsächlich erfüllt es seinen Zweck wohl am besten mit dieser Beschränkung, d. h. in Form eines schriftlichen Beleges von Vorlesungen. Der Kleinlebewesen-Beobachter, der diese Beschäftigung aus Liebhaberei betreibt, und sich das (nicht billige) Buch, durch den Titel verführt (. . . rezente Ostrakoden), anschafft, wäre enttäuscht: die (wichtigsten) Gattungen (und nicht Arten) sind lediglich mit ihren Schalenmerkmalen abgebildet. Auf der anderen Seite käme auch der ausgewachsene Mikropaläontologe nicht auf seine Rechnung: Das Buch bringt keine neuen Erkenntnisse; die Abbildungen (durchwegs Zeichnungen, selbst auf den „Tafeln" — eigentlich ein Rückschritt im Zeitalter der Elektronenmikroskopie) sind oft zu schematisch, um einen klaren Begriff zu erhalten; die Klassifikation ist heutigen Begriffen etwas nachhinkend (nur 4 Unterordnungen erwähnt, keine Überfamilien) und nicht stets korrekt (Unterordnungen z. B. enden richtig auf -ina); Gattungsrevisionen, die schon vor mehreren Jahren erfolgten (z. B. Monoceratina, Hungarella, Cythereis), sind nicht berücksichtigt, und die Literaturliste (72 Referenzen) hört praktisch 1969 auf (nur 4 Zitate nach diesem Jahre, die nicht repräsentativ sind für die gut 600 Publikationen im Zeitraum 1970—1975).
Dennoch, und hier sei auf den einleitenden Satz zurückgekommen: Helmdachs Zusammenstellung wird dem nicht spezialisierten Studenten manchen Dienst erweisen, wird ihm einen klaren Begriff vom Bau der fossilen Ostrakoden, den wichtigsten Gattungen und höheren taxonomischen Einheiten und ihrer geologischen und geographischen Verbreitung vermitteln. Die diagnostischen Merkmale sind inhaltlich und typographisch klar und rasch überblickbar — wobei allerdings der Drucker mit Platz nicht geizig war. Dank der ansprechenden Darstellung ist das Buch auch durchaus dazu angetan, beim Studierenden das Interesse nach anderweitiger Vertiefung in den Stoff zu wecken, was man nicht von jedem Lehrbuch behaupten möchte.

H. J. Oertli

Hirschmann, W. (Hrsg.): Acarologie. Schriftenreihe für vergleichende Milbenkunde. Folge 20, 1974. Hirschmann-Verlag, Veitshöchheimerstr. 14, 8500 Nürnberg. 70 Seiten, 1 Abb., 1 Karte, DM 20,— Hirschmann, der sich beinahe kämpferisch für die gangsystematische Methode zur Systematik der parasitiformen Milben einsetzt, hat diese Folge für den IV. Internationalen Kongreß für Acarologie in Saalfelden 1974 veröffentlicht. Dort scheint ihm endlich die internationale Anerkennung seiner Gangsystematik („Die Gattung ab Larve erkennen") gelungen zu sein. Um diese durchaus nicht einfache, dafür aber erfolgreiche und sichere Methode verstehen zu können, ist gerade die Folge 20 der Acarologie, Hirschmanns Sprachrohr zur wissenschaftlichen Welt, überaus gut geeignet. Mit dieser Folge muß man also beginnen, wenn man Hirschmann verstehen und sich als Taxonom ihm anschließen will. In Teil 186 werden nämlich die Grundlagen der Gangsystematik und die methodischen Begriffe erläutert. Was dort definiert wird, reicht über Milben hinaus und sollte das Ziel aller Systematik werden: Bei der Gangsystematik wird nicht nur eine Erscheinungsform, wie bisher das Weibchen, herausgegriffen, sondern alle Erscheinungsformen des Individuums dienen mit ihren Merkmalen der systematischen Erkenntnis. Die systematische Einheit muß an jedem Stadium eines Ganges sichtbar sein. Gangarten führen im synthetischen Vergleich als erstes zur Ganggattung, wobei an jedem Stadium eines Ganges einer Art die Gattung erkennbar sein muß. — Man will es kaum glauben, aber dieses Verfahren klappt, schafft Ordnung und erleichtert das Bestimmen! — In der Folge 20 werden weiter (Teil 187) 935 Arten der Gangfamilie Uropodidae in ihrer weltweiten Verbreitung vorgestellt, wobei Hirschmann und Marina Hutu auch historisch aufgliedern in vorsystematische (Koch, Berlese, Canestrini, Oudemans), adultensystematische (Vitzthum, Trädardh, Camin, Gorirossi, Evans usw.) und gangsystematische Phase. In Teil 188 werden die Gattung Opisthope und Piracarus in einer gangsystematischen Vorstufe behandelt, in Teil 189 karibische Landmilben beschrieben und in Teil 190 neue Untergattungen zu *Dendrolaelaps* aufgestellt. — Veröffentlichungen dieses Inhalts stellen anderswo ein ganzes Institutsprogramm dar und zeitigen einige Ordinablen. Hirschmann ist Privatgelehrter!

Egon Popp

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

MIKROKOSMOS

Zeitschrift für angewandte Mikroskopie, Mikrobiologie, Mikrochemie und mikroskopische Technik

Organ der Deutschen Mikrobiologischen Gesellschaft Stuttgart, der Mikrobiologischen Vereinigung Hamburg, der Mikrobiologischen Arbeitsgemeinschaft Mannheim, der Mikrobiologischen Vereinigung München, der Mikrographischen Gesellschaft Wien, der Mikroskopischen Gesellschaft Zürich.

Inhalt

Burwitz, P.: Eine sonderbare „Koloniebildung" des Rädertieres Philodina megalotrocha 293

Negretti, W: Warum kann man sich an Gräsern schneiden? Sichtbar gemacht am Knäuelgras (Dactylis aschersoniana) 294

Jurzitza, Prof. Dr. G.: Pflanzengewebe unter dem Raster-Elektronenmikroskop. 12. Die Epidermis 295

Mexer-Rochow, Dr. V. B.: Zähne — eine vergleichend-anatomische Studie 301

Dietrich, K.: Sporenkeimung beim Schimmelpilz Phycomyces 304

Buxbaum, Prof. Dr. F.: Kakteensamen unter Lupe und Mikroskop. II. Die steinharten Samen der Opuntioideen 307

Zur Einführung in die Mikroskopie

Mandl, Dr. A.: Untersuchung der gebräuchlichsten Heilteemischungen. I. Husten- und Brusttees 309

Biologie in der Schule

Kremer, Dr. B. P.: Beobachtungen zur Blattanatomie an Pflanzen mit C_4-Photosynthese 315

Unser Umschlagbild

Bernhard, P.: Nierenkörperchen mit Gefäß- und Harnpol 321

Kleine Mitteilungen 314, 322

Bücherschau 323

Umschlagbild: Nierenkörperchen mit Gefäß- und Harnpol. Azanfärbung. Präparat und Aufnahme Johannes Lieder. Siehe auch S. 321.

Herausgeber: Dr. Dieter Krauter. Redaktion: Rainer Gerstle und Dr. Dieter Krauter, Stuttgart /
© 1977, Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart / Printed in Germany / Imprimé en Allemagne / Die in dieser Zeitschrift veröffentlichten Beiträge sind urheberrechtlich geschützt. Übersetzung, Nachdruck — auch von Abbildungen —, Vervielfältigung auf photomechanischem oder ähnlichem Wege oder im Magnettonverfahren, Vortrag, Funk- und Fernsehsendung sowie Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen — auch auszugsweise — bleiben vorbehalten. Von einzelnen Beiträgen oder Teilen von ihnen dürfen nur einzelne Exemplare für den persönlichen und sonstigen eigenen Gebrauch hergestellt werden. Jede im Bereich eines gewerblichen Unternehmens zulässig hergestellte oder benutzte Kopie dient gewerblichen Zwecken gem. § 54 (2) UrhG und verpflichtet zur Gebührenzahlung an die VG Wissenschaft GmbH, Frankfurt a. M. 1, Großer Hirschgraben 17/21, von der die einzelnen Zahlungsmodalitäten zu erfragen sind. Die Vervielfältigungsstücke sind mit einem genauen Quellenhinweis zu versehen /
Verantwortlich für den Anzeigenteil: Helge Ross, Stuttgart / Druck: Konrad Triltsch, Graph. Betrieb, Würzburg / Der „Mikrokosmos" erscheint monatlich, Bezugspreis (12 Hefte jährlich) DM 49,20 zuzügl. DM 3,80 Versand- oder Zustellgebühr, Sonderpreis für Schüler und Studenten jährlich DM 42,— zuzügl. DM 3,80 Versand- oder Zustellgebühr / Einzelhefte DM 5,40 zuzügl. Versand- oder Zustellgebühr / Das Abonnement ist jeweils, unter Einhaltung einer Frist von 6 Wochen, nur zum Jahresende kündbar.

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

E 20877 E

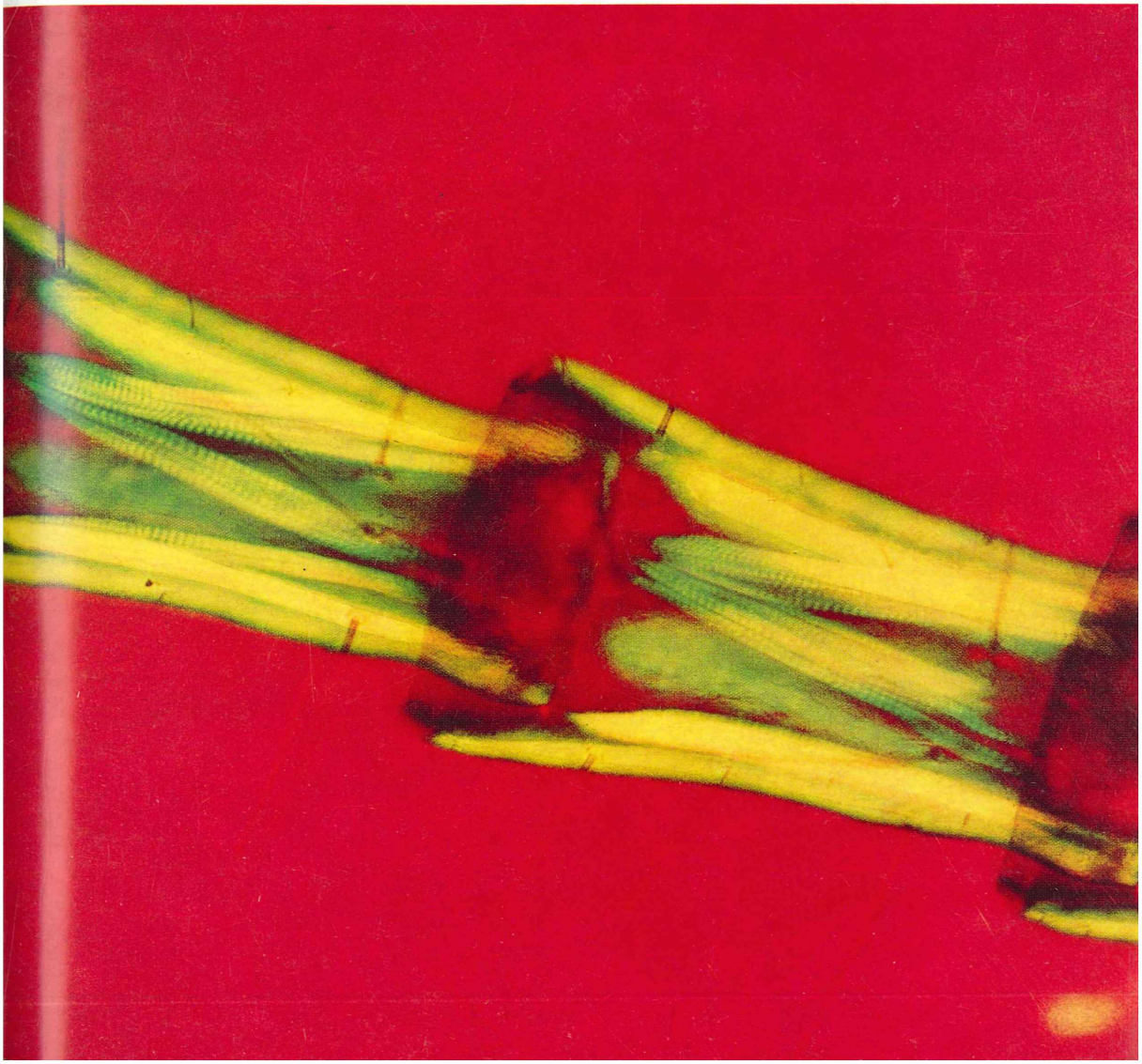
MIKROKOSMOS

66. Jahrgang · Heft 11/November 1977

Eine Zeitschrift aus dem Kosmos-Verlag

ISSN 0026-3680 66. 1977, Nr. 11, S. 325–356

Gliederantenne eines Hundertfüßlers



Copyright © 1977 Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

MIKROKOSMOS

Zeitschrift für angewandte Mikroskopie, Mikrobiologie, Mikrochemie und mikroskopische Technik

Organ der Deutschen Mikrobiologischen Gesellschaft Stuttgart, der Mikrobiologischen Vereinigung Hamburg, der Mikrobiologischen Arbeitsgemeinschaft Mannheim, der Mikrobiologischen Vereinigung München, der Mikrographischen Gesellschaft Wien, der Mikroskopischen Gesellschaft Zürich.

Inhalt

Hausmann, Dr. K.: Osmoregulation bei Protozoen. Die pulsierende Vakuole des Pantoffeltieres 326

Kremer, Dr. Bruno P.: Die Adventiv-Rotalge Compsopogon hookeri 330

Lenzenweger, R.: Zieralgen aus Lappland 334

Hauck, A.: Mitochondrienuntersuchungen an lebenden und fixierten Zellen 338

Dunk, Dr. Kurt von der, **Dunk,** Dr. Klaus von der: Vegetative Fortpflanzung bei Laubmoosen 341

Unser Umschlagbild

Peters, Prof. Dr. W.: Gliederantenne eines Hundertfüßlers im polarisierten Licht . . 347

Biologie in der Schule

Perscheid, A.: Experimente zur Ammonifikation in Abwässern 348

Zur Einführung in die Mikroskopie

Sauer, Dr. F.: Insektenschuppen unter dem Mikroskop 350

Winke fürs Labor

Kaufmann, M.: Das Deckglas — Stiefkind des Mikroskopikers 352

Kleine Mitteilungen 346, 354

Bekanntmachung 356

Umschlagbild: Gliederantenne eines Hundertfüßlers im polarisierten Licht. Aufnahme: Prof. Dr. Werner Peters. S. auch S. 347.

Herausgeber: Dr. Dieter Krauter. Redaktion: Rainer Gerstle und Dr. Dieter Krauter, Stuttgart /
© 1977, Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart / Printed in Germany / Imprimé en Allemagne / Die in dieser Zeitschrift veröffentlichten Beiträge sind urheberrechtlich geschützt. Übersetzung, Nachdruck — auch von Abbildungen —, Vervielfältigung auf photomechanischem oder ähnlichem Wege oder im Magnettonverfahren, Vortrag, Funk- und Fernsehsendung sowie Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen — auch auszugsweise — bleiben vorbehalten. Von einzelnen Beiträgen oder Teilen von ihnen dürfen nur einzelne Exemplare für den persönlichen und sonstigen eigenen Gebrauch hergestellt werden. Jede im Bereich eines gewerblichen Unternehmens zulässig hergestellte oder benutzte Kopie dient gewerblichen Zwecken gem. § 54 (2) UrhG und verpflichtet zur Gebührenzahlung an die VG Wissenschaft GmbH, Frankfurt a. M. 1, Großer Hirschgraben 17/21, von der die einzelnen Zahlungsmodalitäten zu erfragen sind. Die Vervielfältigungsstücke sind mit einem genauen Quellenhinweis zu versehen / Verantwortlich für den Anzeigenteil: Helge Ross. Stuttgart / Druck: Konrad Triltsch, Graph. Betrieb, Würzburg / Der „Mikrokosmos" erscheint monatlich, Bezugspreis (12 Hefte jährlich) DM 49,20 zuzügl. DM 3,80 Versand- oder Zustellgebühr, Sonderpreis für Schüler und Studenten jährlich DM 42,— zuzügl. DM 3,80 Versand- oder Zustellgebühr / Einzelhefte DM 5,40 zuzügl. Versand- oder Zustellgebühr / Das Abonnement ist jeweils, unter Einhaltung einer Frist von 6 Wochen, nur zum Jahresende kündbar.

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

Osmoregulation bei Protozoen
Die pulsierende Vakuole des Pantoffeltieres

Jeder Lichtmikroskopiker wird einmal die pulsierende Vakuole der Süßwasserprotisten beobachtet haben, seien es nun Flagellaten, Rhizopoden oder Ciliaten gewesen. Diese Vakuolen haben die Aufgabe, die osmotischen Verhältnisse in den Zellen zu regulieren.

Was ist Osmose? Das Lexikon definiert dieses Phänomen folgendermaßen: Die einseitige Diffusion einer Flüssigkeit durch eine halbdurchlässige (semipermeable) Membran, an die zwei verschiedene Flüssigkeiten oder eine Lösung und das entsprechende Lösungsmittel oder zwei gleichartige Lösungen verschiedener Konzentrationen angrenzen.

Für die lebende Zelle bedeutet diese etwas physikalisch anmutende Erklärung folgendes: Fassen wir den Zellinhalt beispielsweise eines Protozoons als eine Flüssigkeit mit hoher Salzkonzentration auf, so strömt aufgrund des osmotischen Gefälles ständig Wasser durch das Plasmalemma (semipermeable Membran) in das Tier ein. Ohne ein kompensierendes System würde die Zelle zwangsläufig zerplatzen. Dank der pulsierenden Vakuole wird dieses Unglück verhindert, da durch diese Einrichtung ständig Wasser aus der Zelle gepumpt werden kann. Daß diese Funktion der pulsierenden Vakuole stimmt, kann jeder sehr leicht nachprüfen. Die Vakuolen des Pantoffeltieres *(Paramecium,* Bild 1, *pV)* pulsieren in normalem Kulturmedium mit einer Frequenz (die Zeit von einer Entleerung bzw. Füllung zur anderen) von ca. 8 Sekunden. Überträgt man die Ciliaten in Aqua bidest., wird sich die Frequenz auf 4 oder gar weniger Sekunden verkürzen, wohingegen ein Aufenthalt der Pantoffeltierchen in Meerwasser im Endeffekt zu einem völligen Erliegen der Tätigkeit der pulsierenden Vakuole führen kann. Diese Versuche müssen selbstverständlich schrittweise durchgeführt werden, da die Einzeller zur Einstellung auf die neuen Umweltbedingungen einige Zeit benötigen. Mit anderen Worten: Ein aus Aqua bidest. direkt in Seewasser übertragenes *Paramecium* wird sicherlich in kurzer Zeit sterben, da es einen derartig drastischen osmotischen Schock nicht ausgleichen kann.

Die pulsierenden Vakuolen sind bei den verschiedenen Protozoenordnungen unterschiedlich kompliziert gebaut. In der einfachsten Form, bei bestimmten Amöben beispielsweise, fließen einzelne Bläschen zu einer großen Vakuole zusammen. Diese verschmilzt dann kurzzeitig mit der Plasmamembran und gibt dadurch ihren Inhalt nach außen ab. Bei Ciliaten wird es komplizierter. Die pulsierende Vakuole kann nicht an jeder beliebigen Stelle mit der Plasmamembran verschmelzen, da ja die Pellikula als regelmäßiges, komplexes Gebilde aus verschiedensten Komponenten die gesamte Zelle umgibt. Daher besitzen Ciliaten einen Exkretionsporus. Darüberhinaus findet man häufig zusätzliche Strukturen, so daß man von einem Exkretionssystem spricht.

Bei *Paramecium* ist dieses System am weitesten differenziert. Es besteht aus Vakuole (Bild 2 A, *pV*), Ampullen (Bild 2 A, *Amp*) und Sammelkanälen (Bild 2 A, *Sk*). Die Ampullen mit den Sammelkanälen werden auch Radialkanäle genannt, da sie die pulsierenden Vakuolen sternförmig umgeben (Bilder 2 A und 3).

Der osmoregulatorische Apparat der Pantoffeltierchen zeigt einen festgelegten Funktionszyklus (Bild 3). Zuerst werden die Ampullen durch die Sammelkanäle gefüllt (Diastole der Ampulle; Bilder 2 B—D, 3 A und B). Danach erscheint die pulsierende Vakuole (Bilder 2 E, 3 C), die durch die Ampullen gefüllt wird (Diastole der Vakuole) (Bilder 2 F und G, Bild 3 D). Während sich die Vakuole nach außen entleert (Systole), füllen sich die Ampullen erneut (Bild 3 E).

Ein elektronenmikroskopisches Bild (Bild 4) soll verdeutlichen, wie die Sammelkanäle aufgebaut sind. Der Schnitt ist ungefähr dort geführt, wo in Bild 2 A der Querbalken über dem Sammelkanal angebracht ist. Der Kanal (Bild 4, *Sk*) wird vom Spongioplasma umgeben (Bild 4, *Sp*), das durch Röhren mit dem Kanal in Verbindung steht. Die eigentlich wasseraufnehmenden Strukturen sind die etwas weiter außerhalb lie-

Elsevier GmbH, Urheberrechtlich geschütztes Material - http://www.elsevier.de/

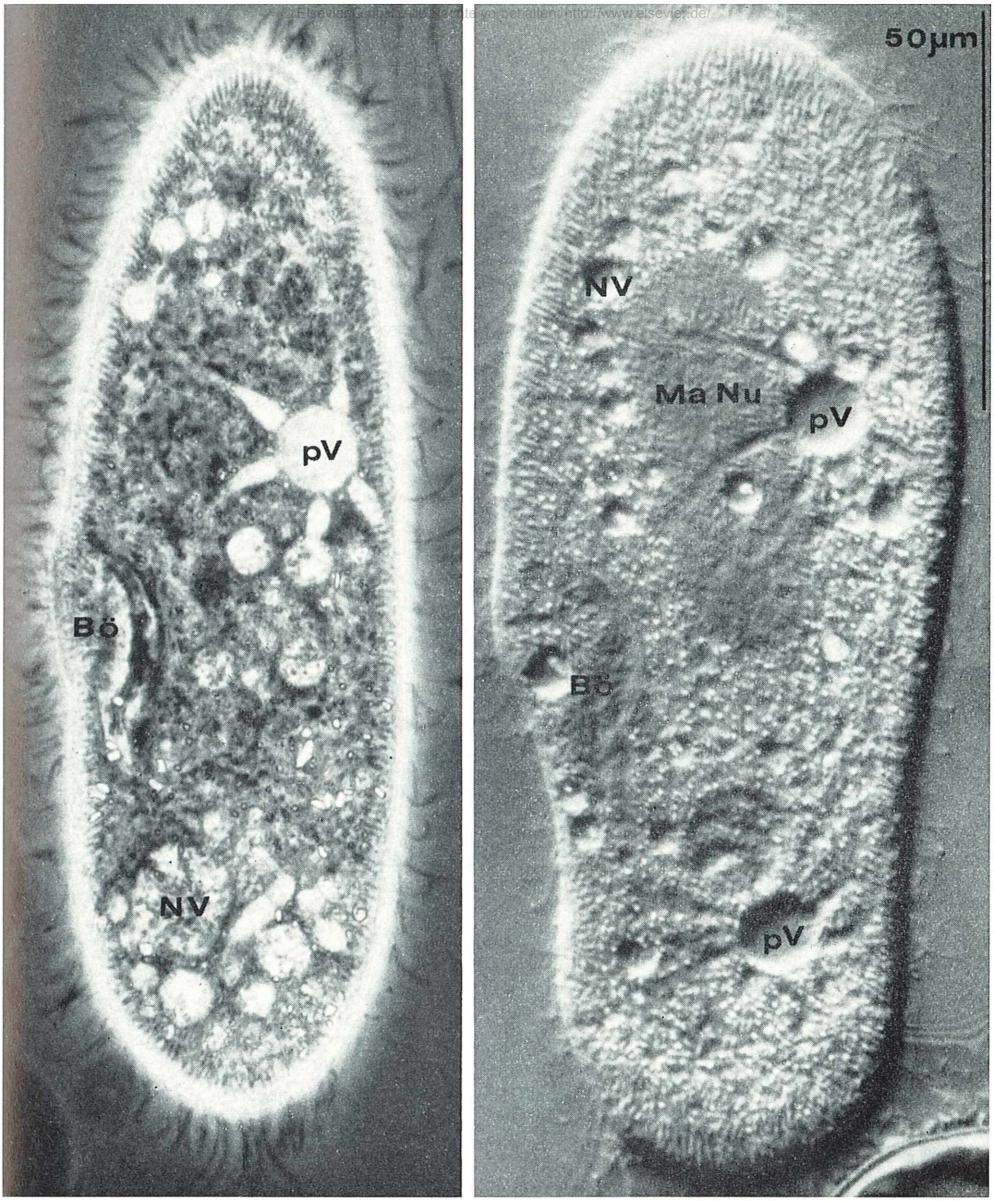


Bild 1: Das Pantoffeltierchen *Paramecium caudatum* (links im Phasenkontrast, rechts im Differential-Interferenz-Kontrast) ist mit zwei, jeweils im Vorder- und Hinterende liegenden, pulsierenden Vakuolen *(pV)* ausgestattet. *Bö* Buccalöffnung; *Ma Nu* Makronucleus; *Nv* Nahrungsvakuole. Vergrößerung 1000 : 1.

genden größeren Röhren mit den pilzförmigen Gebilden auf der Außenwand (Bild 4, *FSO* = flüssigkeitsegregierende Organelle). Kleinere Röhren (Mikrotubuli, Bild 4, Pfeile) liegen direkt der Membran des Sammelkanals an. Die im Lichtmikroskop aufgrund ihrer geringen Dimensionen nicht sichtbaren Mikrotubuli, die vom Exkretionsporus ausgehen, begleiten zu Bändern aggregiert das gesamte System bis hin zu den äußersten Enden der Sammelkanäle. Sie besitzen offenbar Skelettfunktion und gewährleisten, daß die feinen Kanäle sich weit ins Cytoplasma erstrecken und somit für eine effektive „Entwässerung" der gesamten Zelle sorgen.

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

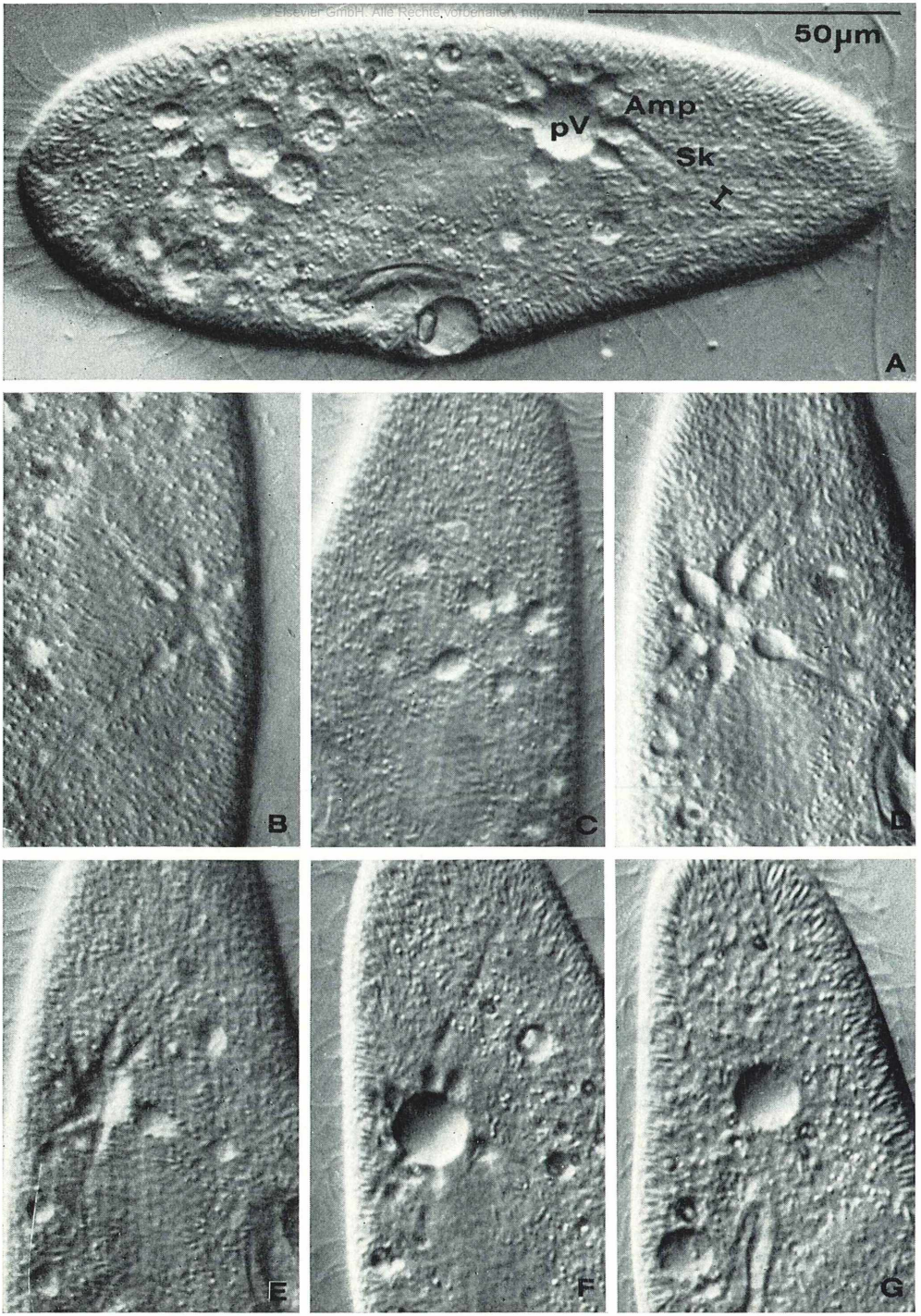


Bild 2: Der Exkretionsapparat besteht aus pulsierender Vakuole *(pV)*, Ampullen *(Amp)* und Sammelkanälen *(Sk)*. B—G: Funktionsablauf des Exkretionsapparates. Nähere Beschreibungen im Text. Vergrößerung 850 : 1.

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

In älteren elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurde die Ansicht geäußert, daß im Entleerungsstadium der Ampullen die direkten Verbindungen zwischen Spongioplasma und Sammelkanal unterbrochen werden, um einen Rückfluß des Wassers in das Spongioplasma zu verhindern. Diese Ansicht kann aufgrund neuerer Untersuchungen nicht mehr aufrecht erhalten bleiben. Alles deutet darauf hin, daß die Verbindungen ständig existieren. Weshalb das Wasser dennoch nicht zurückfließt, kann zur Zeit nicht beantwortet werden.

Wie sich in jüngster Zeit zeigte, ist die häufig gebrauchte Bezeichnung „kontraktile" Vakuole im Grunde nicht gerechtfertigt. Denn die Strukturen, aufgrund derer man diese Bezeichnung prägte, haben keine kontraktilen Eigenschaften, sondern fungieren eher als Stützelemente. Das schließt natürlich nicht aus, daß kontraktile Strukturen vorhanden sind, die die Systole der Vakuole verursachen. Nachgewiesen hat man sie allerdings noch nicht. Solange dieses Problem nicht eindeutig geklärt ist, sollte man deshalb besser den neutralen Ausdruck „pulsierende" Vakuole benutzen, der eine Kontraktilität nicht impliziert, aber auch nicht ausschließt.

Wenn die neuen Befunde, wie ein Blick in die protozoologische Literatur zeigt, der bisherigen Erklärung des Funktionsablaufes der pulsierenden Vakuole teilweise widersprechen, so liegt der Grund dafür hauptsächlich darin, daß in neuerer Zeit die Methodik zur elektronenmikroskopischen Präparation verbessert wurde, wodurch neue Informationen gewonnen werden konnten, die letztlich zu diesen Erkenntnissen führten. Möglicherweise wird in Zukunft, wenn weitere Fortschritte gemacht wurden, eine Revision des hier Dargelegten notwendig sein.

Literaturhinweise:

1. *Grell, K. G.:* Protozoology. Springer Verlag, New York, Heidelberg, Berlin 1973.
2. *Kitching, J. A.:* Contractile vacuoles, ionic regulation and excretion. In: T.-T. Chen (ed.) Research in Protozoology, Vol. I, pp. 306—336, Pergamon Press, Oxford 1967.
3. *Matthes, D.* und *F. Wenzel:* Wimpertiere (Ciliaten). Einführung in die Kleinlebewelt. Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart 1966.
4. *Schneider, L.:* Elektronenmikroskopische Untersuchungen über das Nephridialsystem von *Paramecium*. J. Protozool. **7**, 75—90 (1960).

Verfasser: Dr. K. Hausmann, Lehrstuhl für Zellenlehre, Universität Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 230, 6900 Heidelberg.

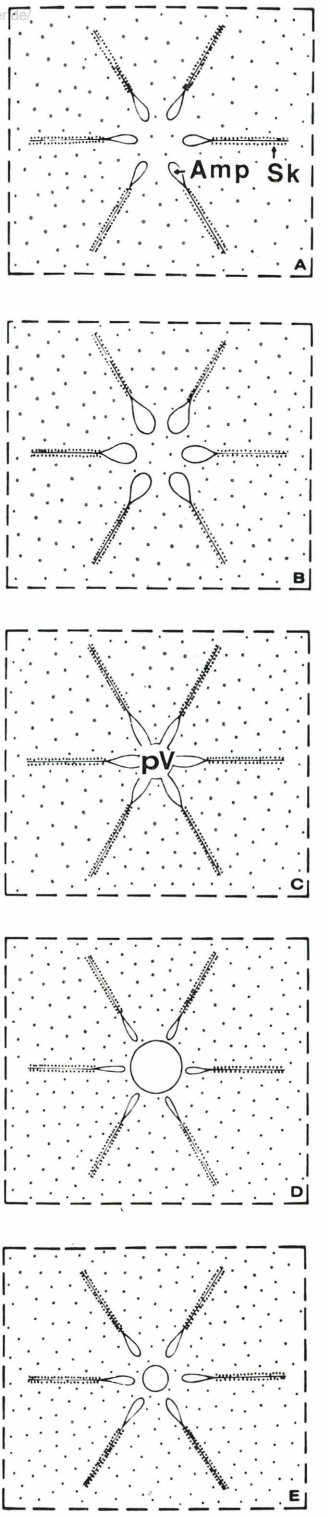


Bild 3: Schematische Wiedergabe der Funktionsweise des osmoregulatorischen Systems in *Paramecium caudatum* (vgl. mit Bild 2). Nach maximaler Füllung der Ampullen *(Amp)* durch die Sammelkanäle *(Sk)* (A+B) erscheint die pulsierende Vakuole (C), die sich nach außen entleert. Während der Entleerung der Vakuole füllen sich bereits wieder die Ampullen (E).

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

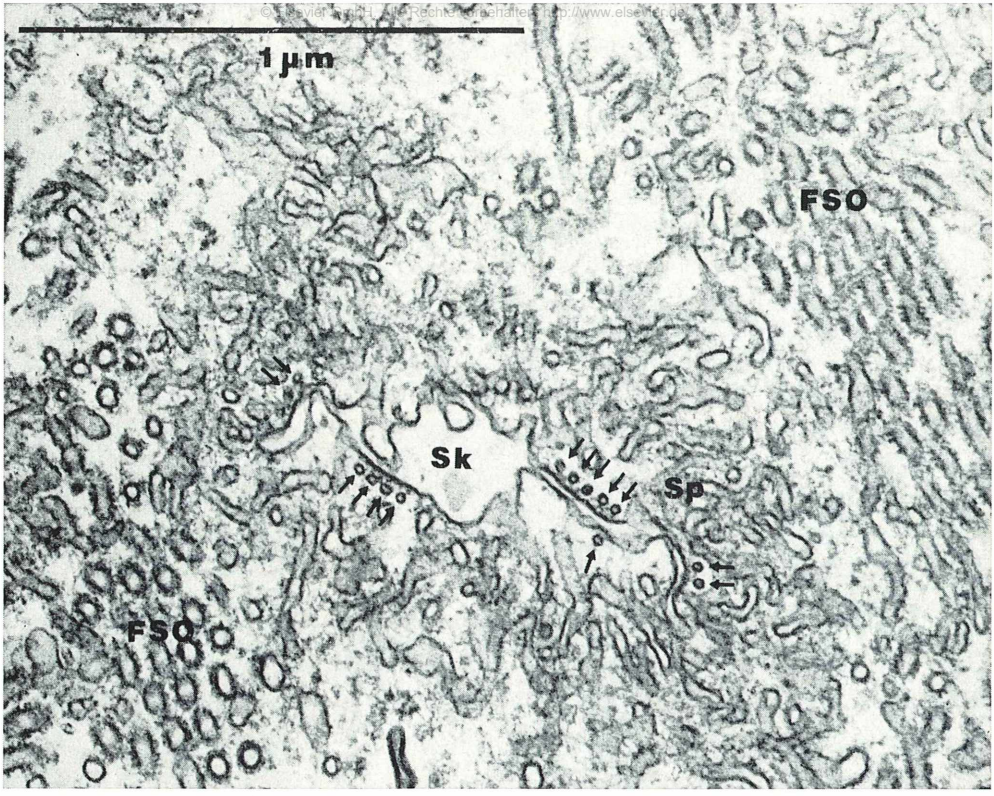


Bild 4: Elektronenmikroskopisches Bild eines Querschnittes durch einen Sammelkanal. Der Kanal *(Sk)* ist vom Schlauchwerk des Spongioplasmas *(Sp)* umgeben, das ständig mit dem Kanal in Verbindung steht. Weiter außerhalb finden sich die flüssigkeitsegregierenden Organelle *(FSO)*. An der Membran des Kanals inserieren Mikrotubuli (Pfeile), die Skelettfunktion besitzen. Vergrößerung 65 000 : 1.

Bruno P. Kremer

Die Adventiv-Rotalge Compsopogon hookeri

Insgesamt sind die Rotalgen (Rhodophyceae) mit ihren etwa 2500 Arten in 400 Gattungen zum weitaus überwiegenden Teil in den verschiedenen Meeren verbreitet, wo sie am Aufbau der litoralen Lebensgemeinschaften mit Bodenkontakt (Benthos) beteiligt sind. Nur relativ wenige Formen, insgesamt nur weniger als 5% des bekannten Artenbestandes, kommen auch in Süßwasserbiotopen vor. Entsprechende Verhältnisse betreffen auch die einheimischen Rotalgen: Eine ansehnliche Artenzahl kommt auf Hartsubstraten in der Nord- oder Ostsee vor, aber nur vergleichsweise wenige Formen werden in unseren Binnengewässern angetroffen. Diese Süßwasserarten scheinen im allgemeinen Fließgewässer von geringem Verschmutzungsgrad und mit relativ hoher Strömungsgeschwindigkeit, die eine gründliche Luftein-

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

mischung garantiert, zu bevorzugen. Süßwasserstandorte dieses Typs gehen jedoch als Folge der Abwasserbelastung immer noch stark zurück, so daß Vorkommen größerer Rotalgenbestände in den einheimischen Fließgewässern bereits recht selten geworden sind. Wegen der relativen Seltenheit von Rotalgenvorkommen ist das genauere Verbreitungsbild der meisten Arten auch nur sehr ungenügend bekannt (vgl. Gams 1969).

Die Verarmung des Arteninventars auch der Gewässer wird in seltenen Fällen durch die Neueinbürgerung ursprünglich nicht einheimischer Arten wieder aufgefangen. Ähnlich wie man etwa bei den Blütenpflanzen bei genauerer Nachprüfung auf einen erheblichen Anteil eigentlich nicht bodenständiger, gebietsfremder Arten trifft, die als sogenannte Adventivpflanzen meist zufällig eingebracht und in das vorhandene Artengefüge integriert wurden, lassen sich auch bei den Thallophyten gelegentlich adventive Arten nachweisen. Da die ein- oder mehrzelligen Süßwasseralgen in der Regel unauffällige Formen darstellen, vollziehen sich solche Umstellungen im Artenspektrum eines Biotops meistens unbemerkt.

Seit einiger Zeit wird in der Erft, einem linken Nebenfluß des Niederrheins, die für Mitteleuropa einzigartige Süßwasserrotalge *Compsopogon hookeri* Mont. gefunden (vgl. Friedrich, 1966). Die Erft entspringt einer Muschelkalkmulde am Eifelnordrand und mündet nach etwa 100 km südlich von Neuss in den Rhein. Ober- und Mittellauf des kleinen Flusses zeigen mäßige Belastung durch Abwasserverschmutzung. Der Erft-Unterlauf nimmt jedoch gewaltige Mengen von Grundwasser auf, das zur Entwässerung der großen Braunkohlentieftagebaue westlich von Köln z. T. aus großen Tiefen abgepumpt und dem Fluß zugeführt wird. Durch die Aufnahme dieser großen Wassermengen in der Folge einer regionalen Grundwasserabsenkung (bis 260 m unter Flur) ändert sich der Unterlauf der Erft einschneidend: der Fluß nimmt hier trotz minimalen Gefälles den Charakter eines rasch abfließenden Gewässers an, das ständig mittleres Hochwasser führt. Da die Tagebaugrundwässer zwar nicht verschmutzt, jedoch unverhältnismäßig warm sind, wird die Erft im Unterlauf zu einem konstant warmen Gewässer mit Wassertemperaturen zwischen 15 und 20 °C aufgeheizt. Auch an kalten Wintertagen sinkt die Wassertemperatur nicht unter 12 °C (Friedrich, 1973).

Die Rotalgengattung *Compsopogon* umfaßt nur 6 Arten, die überwiegend in den tropischen und subtropischen (konstant warmen) Süßwasserbiotopen der gesamten Welt verbreitet sind. Nur selten werden einzelne Formen auch im Brackwasserbereich angetroffen.

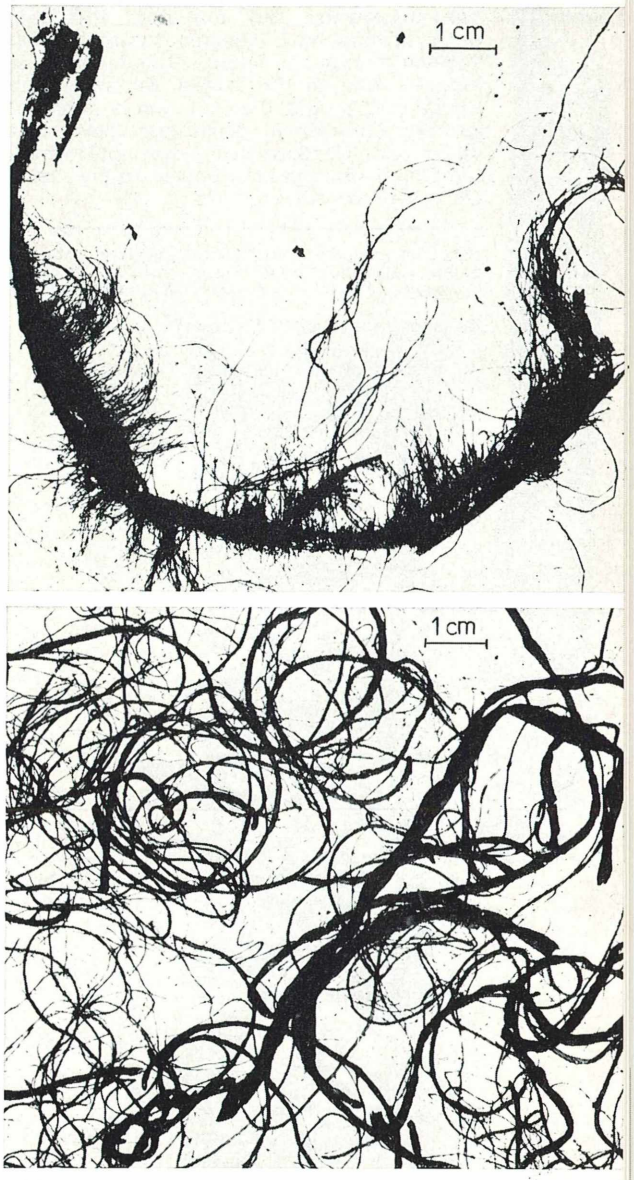


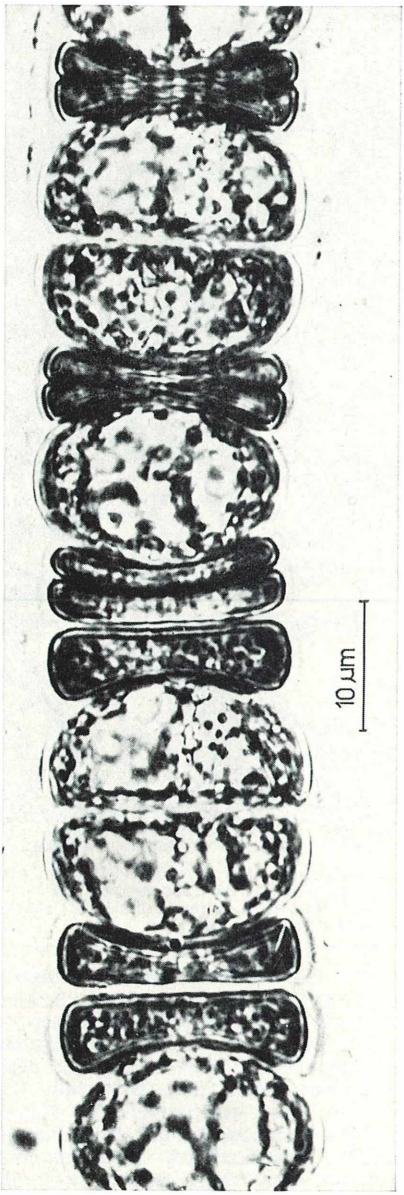
Bild 1: *Compsogon hookeri:* Junge Zellfäden als dichtrasiger Aufwuchs auf Sparganium-Blättern (oben); ältere Pflanzen nehmen den Aspekt stark verknäuelter Fadenalgen an.

Die Gattung wurde zuerst von Montagne im Jahre 1846 an Material aus Algerien beschrieben. Alle bekannten *Compsopogon*-Arten haben langgestreckte, röhrige Thalli, die sich reichlich verzweigen und an den Enden in einfache Zellfäden auslaufen.

Nach den bei Krishnamurthy (1962) angegebenen Artmerkmalen ist das Fundmaterial aus der Erft der Art *Compsopogon hookeri* zuzuordnen. Diese Spezies kommt

natürlicherweise nur auf dem indischen Subkontinent vor. Hooker sammelte das Typenmaterial im letzten Jahrhundert in Madras, nannte die Algen *Enteromorpha livida* und stellte die Art damit zunächst zu den Grünalgen. Montagne überprüfte die in Kew Gardens in London aufbewahrten Originalbelege und benannte die Art in *Compsopogon hookeri* um.

Bild 2: Ausschnitt vom Fadenende einer unberindeten Zellreihe: Viele Zellen führen antikline Teilungen durch (interkalares Längenwachstum).



Entsprechend ihrer tropischen Herkunft tritt *Compsopogon* in der Erft nur im stark erwärmten Unterlauf zwischen Bergheim und Neuss auf. Die Pflanzen bilden in diesem Flußabschnitt auf einer Strecke von etwa 30 km oft einen dichtrasigen Aufwuchs auf anderen Wasserpflanzen oder auf verschiedenen Hartsubstraten der Uferauskleidung. Die Größe der Pflanzen reicht von feinen Fäden mit wenigen cm Länge bis zu ansehnlichen Exemplaren von annähernd 3 m Länge. Derartige Dimensionen sind innerhalb der bekannten Rotalgen ungewöhnlich: selbst die größten flächigen, derberen Arten mariner Standorte erreichen nur gelegentlich Maximallängen von 50 cm.

Fällt *Compsopogon* schon größenmäßig etwas aus dem üblichen Rahmen, so trifft dies auch auf die Färbung zu: Die Thalli zeigen nicht die von marinen Rotalgen her bekannte purpurne oder karminrote Färbung, sondern wechseln von schmutzigem Olivgrün bis zu einem kräftig blaustichigen Grün, ein Merkmal, das für die Art *Compsopogon coeruleus* namengebend ist. Wenn man nach schonender Extraktion die typischen Rotalgenpigmente (=Phycobiliproteine) spektralanalytisch untersucht, fällt auf, daß die sonst häufigen rötlichen Phycoerythrine, die wichtigste Rotalgenpigmentgruppe, nur zu einem geringen Anteil vertreten sind und von größeren Anteilen der bei Rotalgen selteneren bläulichen Phycocyanine begleitet werden. Die eigenartigen Blau-Oliv-Töne der Thallusfärbung resultieren aus der zusätzlichen Überlagerung mit Chlorophyll a.

Auch im mikroskopischen Aufbau zeigt *Compsopogon hookeri* einige Besonderheiten. An den jüngsten Teilen des Thallus bleiben die Zellfäden zunächst einreihig. Die Fadenzellen teilen sich zunächst nur senkrecht, später jedoch auch parallel zur Fadenachse, wodurch mehrreihige Zellfäden entstehen, die durch weiteres Wachstum in röhrige Achsen übergehen. In diesem Zustand haben sich große, farblose Zentralzellen herausgebildet, die von Schichten sehr viel kleinerer, pigmentierter Zellen wie eine Rinde umgeben werden. In dieser Berindung weisen die *Compsopogon*-Arten große Ähnlichkeiten zu den Merkmalen der höchstentwickelten Rotalgen (=Ceramiales) auf. Hinsichtlich ihres Fortpflanzungsmusters (ausschließlich Vermehrung durch Monosporen ist gesichert) stellen sie jedoch einen wesentlich einfacheren Typus dar, weswegen sie auch den Bangiophycidae, den insgesamt wohl ursprünglicheren Rotalgen, zugeordnet werden.

Die fertig ausdifferenzierten *Compsopogon*-Thalli sitzen mit einer Basalscheibe ihrer Unterlage auf. Die Hauptachsen sind etwas abgeflacht, kraus oder leicht gerollt, und erreichen Durchmesser von 2—5 mm. Die

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

Seitenachsen stehen immer deutlich ab und sind an den Verzweigungspunkten etwas eingeschnürt. Sie entstehen primär immer durch eine ungleiche Teilung einer Fadenzelle, sekundär auch als Proliferationen älterer Thallusabschnitte. *Compsopogon hookeri* kann als echte eingebürgerte, adventive Art gelten. Soweit bekannt, kommt sie gegenwärtig an keiner anderen Stelle Europas kontinuierlich vor. Ihre Häufigkeit in den Gewässern ihres ursprünglichen Verbreitungsgebiets legt die Annahme nahe, daß sie wohl über Warmwasseraquarien mit Tier- oder Pflanzenbesatz entspre-

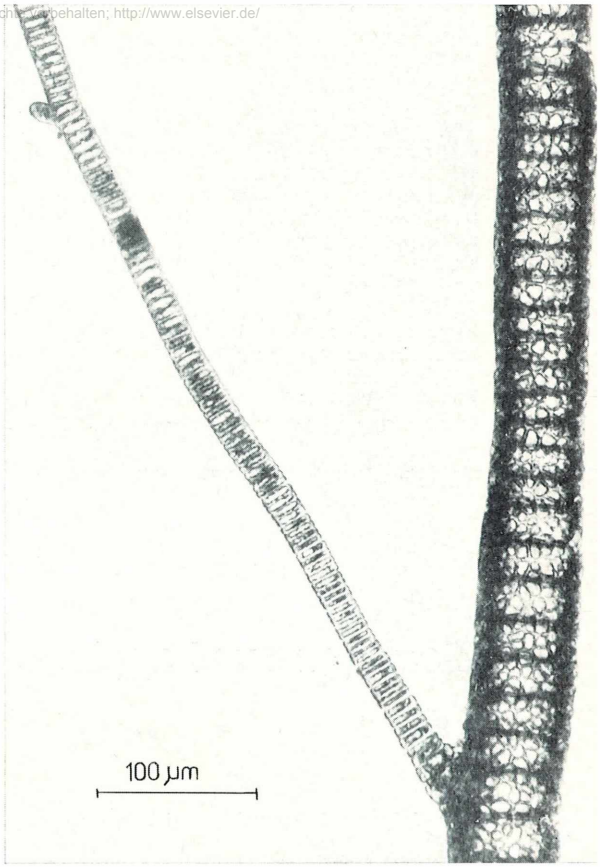


Bild 3: Unberindeter (links) und berindeter (rechts) Zellfadenabschnitt.

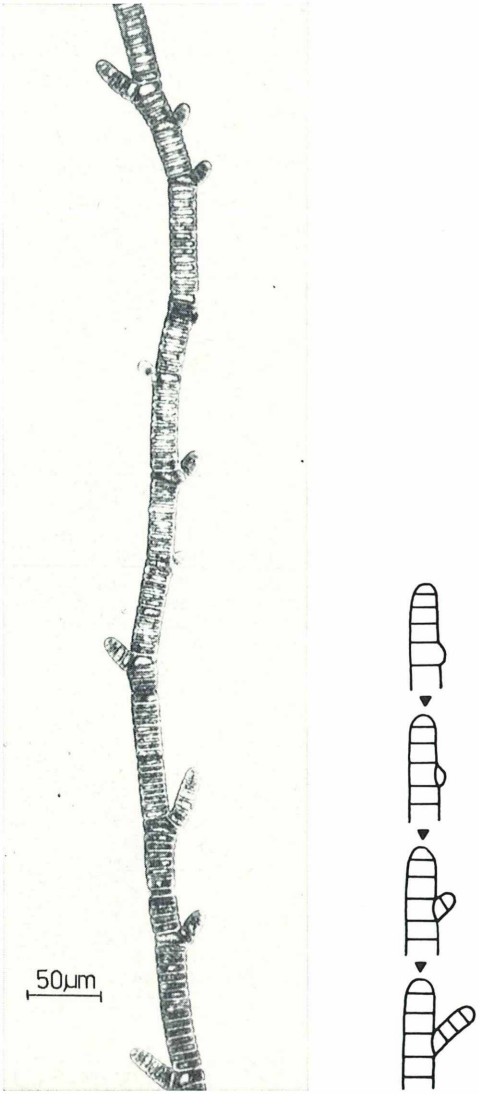
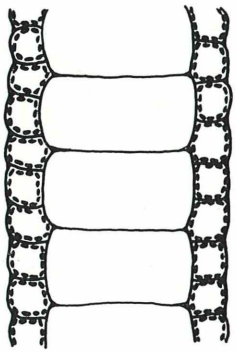


Bild 5: Verzweigungsmuster eines jüngeren Fadenabschnitts (links) und Schema zur Anlage der Seitenäste (rechts).

Bild 4: Berindeter Zellfaden mit nur einer Zentralzellreihe (vgl. Bild 3): Nur die äußeren kleineren Zellen enthalten die zahlreichen wandständigen Rhodoplasten.



chender Herkunft eingeschleppt wurde und sich im Bereich der für sie thermisch günstigen Erft bislang halten konnte. Dies mag um so wahrscheinlicher sein, als eine weitere tropische Art, *Compsopogon aeruginosus*, gelegentlich als Aquarienbewohner auftritt (vgl. Müller, 1960). Wünschenswert wäre, für diese wie auch für die übrigen einheimischen Süßwasserrhodophyceen weitere zuverlässige Daten über Vorkommen und Fundorte zu gewinnen. Solche Informationen können dazu dienen, die oftmals verworrenen taxonomischen Abgrenzungen (vgl. Gams, 1969) zu überprüfen und die Verbreitungsareale der vorhandenen Formenkreise besser zu fassen.

Literaturhinweise:

1. *Gams, H.:* Kleine Kryptogamenflora, Band Ia, Makroskopische Süßwasser- und Luftalgen. Stuttgart (Fischer) 1969.
2. *Friedrich, G.:* Compsopogon hookeri Montagne (Rhodophyceae, Bangioideae) — neu für Deutschland. Nova Hedwigia **12**, 399—403 (1966).
3. *Friedrich, G.:* Ökologische Untersuchungen an einem thermisch anomalen Fließgewässer. Schriftenreihe der Landesanstalt für Gewässerkunde und Gewässerschutz des Landes Nordrhein-Westfalen, Heft 33, Krefeld 1973.
4. *Kremer, B. P.:* Meeresalgen. Ein Bestimmungsbuch für häufigere Arten der Atlantikküsten, der Nord- und Ostsee. Die Neue Brehm-Bücherei, Band 489, Wittenberg Lutherstadt 1975.
5. *Krishnamurthy, V.:* The morphology and taxonomy of the genus Compsopogon Montagne. J. Linn. Soc. (Bot.) **58**, 207—222 (1962).
6. *Müller, J.:* Die Rotalge Compsopogon aeruginosus — ein neuer Aquarienbewohner? Mikrokosmos **49**, 203—207 (1960).

Verfasser: Dr. Bruno P. Kremer, Botanisches Institut der Universität, Gyrhofstraße 15, 5000 Köln 41

Rupert Lenzenweger

Zieralgen aus Lappland

Von Jahr zu Jahr erfreut sich Nordeuropa als Reiseziel vieler Urlauber steigender Beliebtheit. Es ist nicht nur zu einer Mode geworden, die Mitternachtssonne zu erleben oder am Nordkap zu stehen, viele der Urlauber fahren der unberührten Natur und des eigenartigen Reizes dieser abwechslungsreichen Landschaft wegen nach Lappland, dem nördlichsten Gebiet des europäischen Kontinents. Grenzenlos scheinende Kiefernwälder, riesige Moore und verträumte Seen im südöstlichen Teil und eine herrliche Bergwelt im Nordwesten begleiten uns bei der Fahrt durch diese weiträumige Urlandschaft. Der Naturfreund findet hier noch ungetrübtes Naturerleben, das

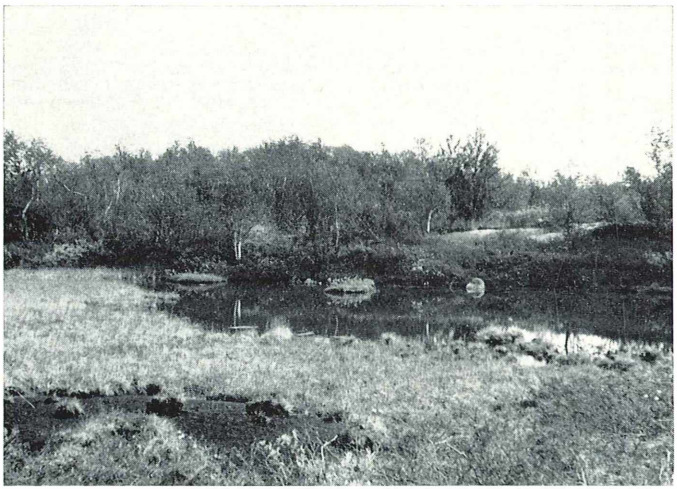
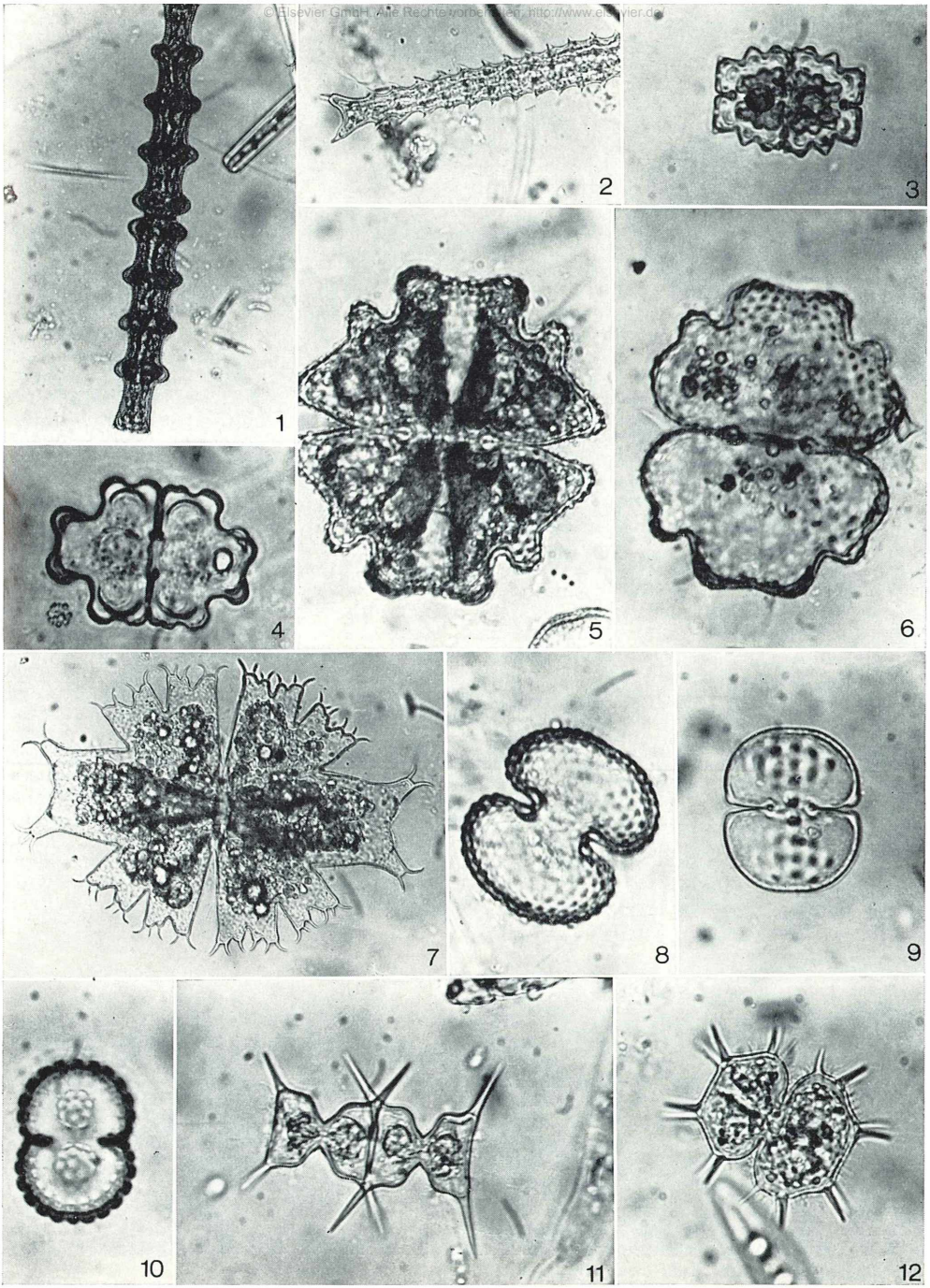


Bild: Moor in Lappland.

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



Tafel 1: 1. *Pleurotaenium nodosum* var. *borgei* Grönbl., 300 : 1; **2.** *Triploceras gracile* Bail., 300 : 1; **3.** *Euastrum lapponicum* Schmidle., 600 : 1; **4.** *Euastrum gemmatum* Breb., 600 : 1; **5.** *Euastrum verrucosum* Ehrbg., 600 : 1; **6.** *Euastrum verrucosum* var. *reductum* Nordst., 600 : 1; **7.** *Micrasterias brachyptera* Lund., 300 : 1; **8.** *Cosmarium pseudoholmii* Borge., 600 : 1; **9.** *Cosmarium taxichondrum* Lund., 600 : 1; **10.** *Cosmarium quadrifarium* Lund., 600 : 1; **11.** *Arthrodesmus incus* var. *extensus* And. in Teilung, 600 : 1; **12.** *Xanthidium cristatum* Breb., 600 : 1.

nur durch die Belästigung von ganzen Schwärmen von Stechmücken manchmal etwas beeinträchtigt wird. Unmittelbar neben den Straßen erstrecken sich ausgedehnte Moorflächen und oft verläuft die Straße schnurgerade durch ein Moor. Zahlreiche Tümpel, Schlenken und kleine Moorseen zergliedern diese Moorflächen. Diese kleinen Moorgewässer sind ein wahres Dorado für den Algenliebhaber im allgemeinen, für den Desmidiaceenfreund aber im ganz besonderen. Man braucht gar nicht weit von der Straße abzugehen, fast könnte man sagen, vom Auto aus kann man erfolgreich Algen sammeln. Moore mit einem ausgesprochenen Hochmoorcharakter sind zwar weniger ergiebig, da sie wegen der sauren, nährstoffarmen Bedingungen eine recht eintönige und artenarme Algenflora beherbergen, eine Algengesellschaft, wie wir sie auch von den mitteleuropäischen Hochmooren her kennen. Man erkennt sie am ehesten an dem deutlichen Überwiegen der Torfmoose in der Zusammensetzung der Pflanzendecke. Um so interessanter sind hingegen Moore mit einer stärker gegliederten Pflanzenwelt, als Folge einer minerotrophen Begünstigung. Ganz besonders artenreich aber sind die vielen Kleingewässer am Rande der zahllosen Moorseen. Diese Kleingewässer liegen vielfach im Bereich des sogenannten Schwingrasens (beim Betreten ist etwas Vorsicht angebracht!). Begünstigt durch eine dauernde Nährstoffzufuhr vom See her, findet man hier gerade die größeren Arten, wie etwa solche der Gattungen *Micrasterias, Staurastrum* usw., die man mitunter schon mit einer besseren Lupe im Sammelglas erkennen kann. Die Temperatur des Wassers dieser Biotope erreicht in den Sommermonaten recht beachtliche Werte.

Neben den Zieralgen findet man darin natürlich auch noch viele Vertreter anderer Algenstämme.

Zum Aufsammeln dieser Algen bedarf es der üblichen, wenig aufwendigen Ausrüstung: Genügend gut verschließbare Glasröhrchen (Tablettenröhrchen) und eine Saugpipette, sowie ein Paar Gummistiefel, wenn man keine nassen Füße bekommen will. Sicherlich bringen auch Planktonfänge aus den unzähligen Seen allerlei interessante Organismen „an Land". Wenn also noch genügend Platz vorhanden ist, gehört auch noch das Planktonnetz ins Reisegepäck! Obgleich Algenproben aus Moorbiotopen erfahrungsgemäß gegen Temperaturschwankungen recht unempfindlich sind, ist es doch wegen der doch recht beträchtlichen Transportdauer ratsam, die gesammelten Proben zu fixieren. Am problemlosesten geschieht dies mit dem altbewährten Formalin. Es genügt, den Proben ein geringes Quantum davon beizugeben und kurz durchzuschütteln.

Bei dem Versuch, die gesammelten Zieralgen dann daheim zu bestimmen, wird man sicherlich viele Formen in den üblichen Bestimmungsbüchern finden können (in Streble-Krauter: Das Leben im Wassertropfen z. B.: *Netrium digitus, Penium spirostriolatum,* mehrere Closterien, *Euastrum ansatum, Euastrum oblongum, Euastrum verrucosum, Micrasterias apiculata, Micrasterias radiata, Micrasterias denticulata* und viele andere). Sehr viele Arten aber wird man vergeblich suchen, denn um diese bestimmen zu können, ist eben eine umfangreiche Spezialliteratur notwendig, zumal es bei den Desmidiaceen ja sehr viele Varietäten gibt. Manche solcher Arten sind auch für den Spezialisten nur schwer zu bestimmen. Auf den Bildtafeln ist naturgemäß nur ein Bruchteil der „unüblichen" Arten wiedergegeben, die man in den Mooren und Tümpeln Nordeuropas erbeuten kann. Damit soll zugleich aber auch ein kleiner Eindruck von der Formenvielfalt der Zieralgenvegetation dieser Lebensräume vermittelt werden.

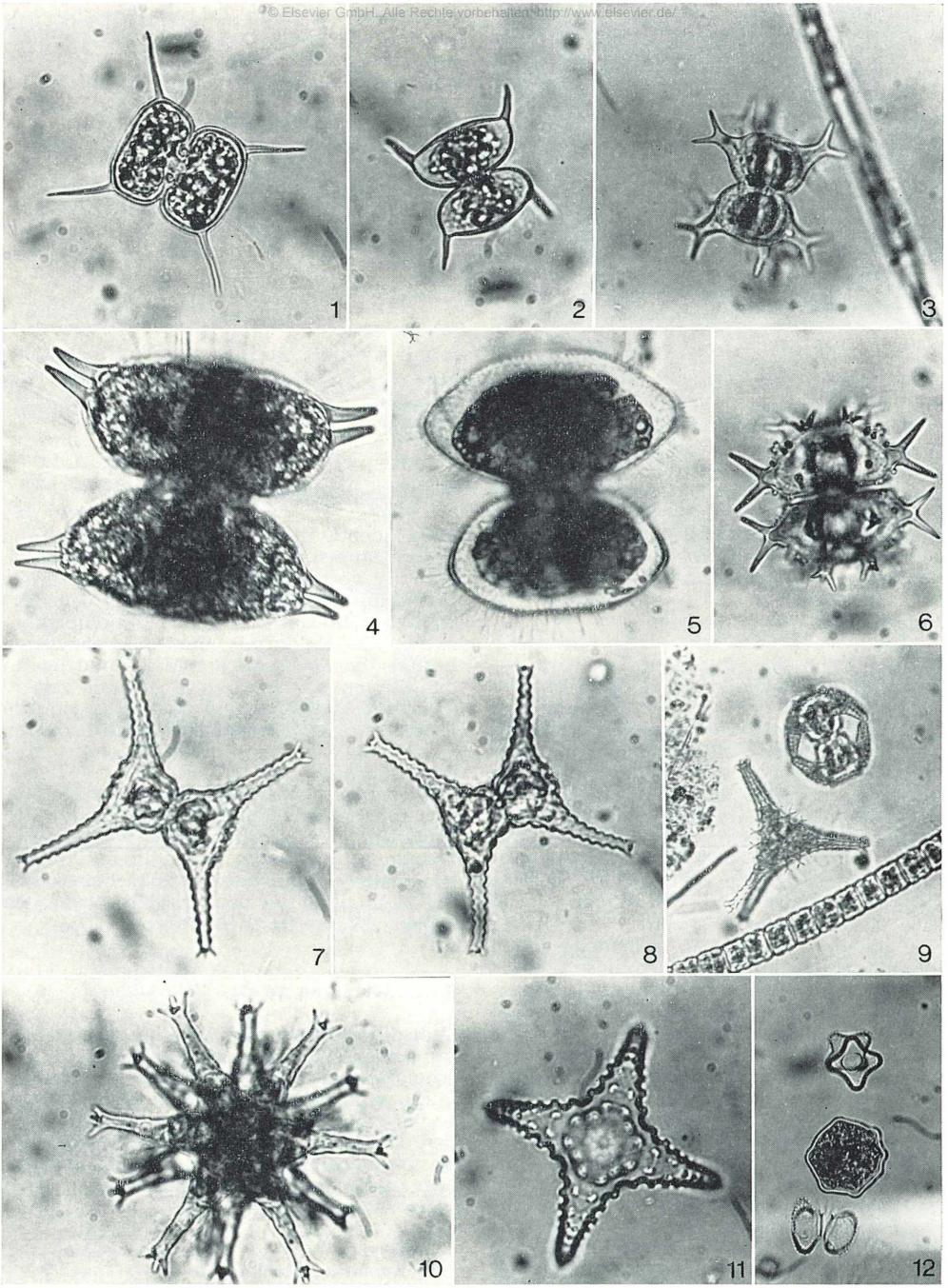
Recht bemerkenswert erscheint mir die gewaltige klimatische Anpassungsfähigkeit mancher Zieralge. Ein überzeugendes Beispiel dafür ist u. a. *Triploceras gracile* (siehe Tafel 1. 2.). Ich fand diese Art in Algenmaterial, das aus einem Reissumpf auf Borneo gesammelt wurde, und nun sammelte ich es selbst in einem Moortümpel weit nördlich des Polarkreises! Welch gewaltige klimatische Unterschiede bestehen doch zwischen diesen beiden Standorten! Wenn man bedenkt, daß in diesen nördlichen Breiten schon in etwa 20 cm Tiefe der Dauerfrostboden beginnt — davon konnte ich mich selbst überzeugen — dann ist der Artenreichtum an sich schon bemerkenswert.

Literaturhinweise:

1. *Krieger:* Die Desmidiazeen in Rabenhorsts Kryptogamenflora **13,** 1 (1937).
2. *Lenzenberger, R.:* Zieralgen aus nordischen Gewässern. Mikrokosmos **65,** 1—4 (1976).
3. *Lenzenweger, R.:* Zieralgen aus Indonesien. Mikrokosmos **65,** 150—152 (1976).

Verfasser: Rupert Lenzenweger, Schloßberg 16, A-4910 Ried/Innkreis, Österreich.

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



Tafel 2: 1. *Arthrodesmus bulnheimii* Racib., 600 : 1; **2.** *Staurastrum dejectum* var. *inflatum* West, 600 : 1; **3.** *Staurastrum clevei* Roy et Biss., 600 : 1; **4.** *Staurastrum longispinum* Arch., 300 : 1; **5.** *Staurastrum grande* Bulnh., 600 : 1; **6.** *Staurastrum forficulatum* Lund., 600 : 1; **7.** *Staurastrum natator* West., 600 : 1; **8.** *Staurastrum dimazum* var. *elegantius* Grönbl., 600 : 1; **9.** a. *Staurastrum vestitum* Ralfs. (Apikalansicht); b. *Staurastrum cerastes* Lund., 100 : 1; **10.** *Staurastrum sexangulare* Lund., Apikalansicht, 600 : 1; **11.** *Staurastrum cerastes* Lund., Apikalansicht, 600 : 1; **12.** *Staurastrum striolatum* Arch., Zygote, 100 : 1.

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

Arthur Hauck

Mitochondrienuntersuchungen an lebenden und fixierten Zellen

In den letzten Jahrzehnten wurden alle erdenklichen Präparationstechniken zur Darstellung der Mitose beschrieben. Bei den Mitochondrien dagegen pflegt man sich mit dem Hinweis auf die Anfärbbarkeit (Vitalfärbung) mit Janusgrün B zu begnügen. Jedoch führen schon recht einfache Fixier- und Färbemethoden zu klareren Ergebnissen.

Funktion der Mitochondrien

Die Funktion der Mitochondrien wird populär mit der Bezeichnung „Kraftwerke der Zelle" umschrieben. Sie stellen also die „Betriebsenergie" zur Aufrechterhaltung der in den Zellen ablaufenden Aufbauvorgänge bereit. Die Anzahl der Mitochondrien in den einzelnen Zellen ist unterschiedlich; so haben Zellen, die zum Beispiel Arbeit leisten (Muskelzellen) oder Zellen, die viele Stoffe synthetisieren bzw. umbauen (Leberzellen) relativ viele Mitochondrien. Eine Leberzelle kann unter Umständen bis zu 2500 Mitochondrien besitzen!
Wie gewinnen nun die Mitochondrien Energie und in welcher Form wird diese Energie gespeichert?
In den Mitochondrien finden sich zwei lebenswichtige Enzymsysteme, die der Energiegewinnung dienen: der Citronensäurezyklus, der, von der Brenztraubensäure ausgehend, über viele Zwischenstufen Wasserstoff und Kohlendioxid erzeugt; und die Enzyme der Atmungskette, die den Wasserstoff an Sauerstoff binden. In den Mitochondrien findet also die Zellatmung statt, bei der als Endprodukte Wasser und Kohlendioxid entstehen. Die dabei freiwerdende chemische Energie wird großenteils in Form von ATP (Adenosintriphosphorsäure) gespeichert.
Einzelheiten dieser hochinteressanten Prozesse können wir hier nicht darlegen; man findet sie in allen Lehrbüchern der Physiologie und Biochemie, aber auch in den Biologie-Schulbüchern (Oberstufe).
Wir fragen nach dem lichtmikroskopischen Bild dieser „Kraftwerke der Zelle" und wünschen uns einfache Untersuchungsobjekte und Präparationsmethoden.

Wahl des Untersuchungsobjektes

Jede lebende tierische oder pflanzliche Zelle besitzt Mitochondrien, jedoch unterscheiden sich die verschiedenen Zelltypen in Größe und Zahl der Mitochondrien. Als Untersuchungsobjekt hat sich während meiner Versuche die Epidermis der Küchenzwiebel bestens bewährt, da die Mitochondrien in den Zellen der inneren Epidermis relativ groß und zahlreich sind. Außerdem ist die Beschaffung und Präparation kein Problem. Beim Ablösen der Epidermis sollte man darauf achten, daß sie sich leicht abziehen läßt; tut sie das nicht, besteht die Gefahr, daß die darunterliegende Zellschicht (Mesophyll) mit abgezogen wird, was die Beobachtung ungünstig beeinflussen könnte. Als weiteres günstiges Objekt haben sich die kleinen Blätter an der Blattknospe von *Elodea* (Wasserpest) erwiesen.

Anforderungen an das Mikroskop

Unbedingt erforderlich ist eine 100fache Ölimmersion. Wünschenswert ist eine Köhlersche Beleuchtungseinrichtung (es genügt auch eine normale Netzansteckleuchte). Außerdem kann unter bestimmten Umständen ein Grünfilter den Kontrast erhöhen.
Bestens geeignet für die Mitochondrienuntersuchung sind Phasenkontrast und Interferenzphasenkontrast.

Untersuchungsmethoden:

Hellfeldbeobachtung (Vitaluntersuchung)

Die Mitochondrien besitzen annähernd denselben Brechungsindex wie das sie umgebende Zytoplasma; deswegen ist die Hellfeldbeobachtung in den meisten Fällen un-

befriedigend. Jedoch möchte ich auf die grundsätzliche Möglichkeit der Hellfeldbeobachtung (die oft durch Einlegen eines Grünfilters verbessert werden kann) hinweisen.
Ein Stückchen Zwiebelepidermis wird in einen Tropfen Leitungswasser gelegt (besser in Ringerlösung: 9 g NaCl und 0,42 g KCl werden in 1000 ml dest. Wasser gelöst. Anschließend werden noch 0,25 g $CaCl_2$ dazugegeben). Nach Auflegen eines Deckglases wird untersucht.

Vitalfärbung mit Janusgrün

Bessere Ergebnisse, auch im Hellfeld, liefert die Vitalfärbung mit Janusgrün B (In 1 Liter Leitungswasser oder Ringerlösung werden 0,1 g Janusgrün B gelöst).
Ich muß jedoch darauf hinweisen, daß diese Vitalfärbung sich bei meinen Versuchen als recht „launisch" erwiesen hat, so daß man nicht immer den gewünschten Erfolg erzielen wird. Auch ist der Preis für den Farbstoff in der letzten Zeit immer mehr in die Höhe geklettert.

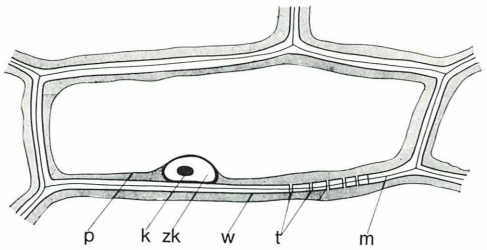


Bild 1: Zelle des Zwiebelhäutchens. *p* Cytoplasma mit Mitochondrien, *k* Kernkörperchen, *zk* Zellkern, *w* Zellwand, *t* Tüpfel, *m* Mittellamelle. Aus Dietle, Das Mikroskop in der Schule, Kosmos-Verlag.

In eine Petrischale legt man ein angefeuchtetes Filterpapier; darauf einen sauberen Objektträger. Auf diesen wird in dünner Schicht die 1 : 10 000 verdünnte Janusgrünlösung aufgebracht; einige Zwiebelepidermisstückchen werden in diese Färbelösung gelegt. Dann deckt man die Petrischale zu. Nach 15—30 Minuten wäscht man zunächst ein Epidermisstück unter Leitungswasser oder Ringerlösung ab und untersucht die Zellen. Sind keine länglichen, bläulichgefärbten Organelle im Zytoplasma zu erkennen, verlängern wir die Färbedauer. Bei gelungener Färbung kann man die bläulich gefärbten Mitochondrien schon mit dem 40fachen Objektiv erkennen.

Lebendbeobachtung im Phasenkontrast

Ist das Mikroskop mit einer Phasenkontrasteinrichtung versehen, kann man auf die Vitalfärbung verzichten und das Epidermisstückchen direkt — in einem Tropfen Ringerlösung — untersuchen. Auch bei der Phasenkontrastuntersuchung empfiehlt sich als Untersuchungsobjekt die Zwiebelepidermis. Leicht wird man an der oberen Zytoplasmaschicht schon bei 400facher Vergrößerung die länglichen, grau erscheinenden Mitochondrien finden können.

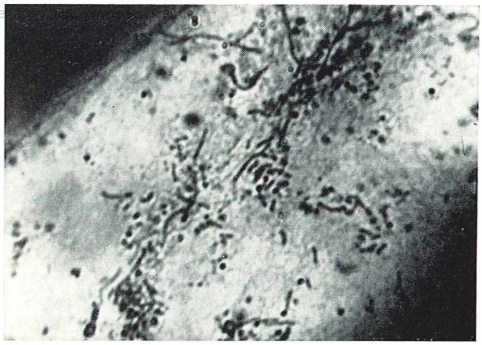


Bild 2: Mitochondrien aus einer Epidermiszelle der Zwiebel. Fixierung nach Champy, Färbung nach Heidenhain. Hellfeldaufnahme, ca. 1000 : 1.

Untersuchung im Interferenzphasenkontrast

Eine weitere Möglichkeit der Mitochondriendarstellung, die wegen des sehr hohen Anschaffungspreises wohl nur sehr wenigen Mikroskopikern zur Verfügung stehen wird, stellt der Differential-Interferenzphasenkontrast nach Nomarski dar.
Mit diesem lichtoptisch sehr aufwendigen Verfahren, in dem die Mitochondrien plastisch — fast dreidimensional — erscheinen, wird man die besten Ergebnisse sowohl bei der Lebendbeobachtung als auch bei fixierten Zellen erhalten.

Vorteile der Lebenduntersuchung

Nach einigem Beobachten wird man erstaunliche Formveränderungen der Mito-

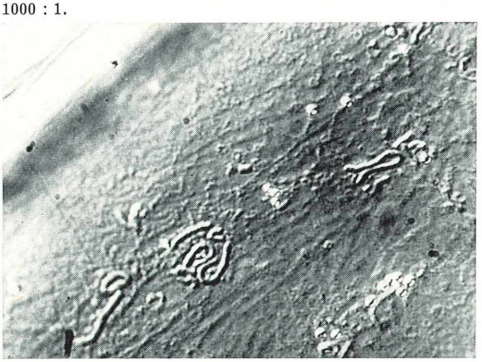


Bild 3: Mitochondrien aus einer Epidermiszelle der Zwiebel. Differential-Interferenzkontrast, ca. 1000 : 1.

chondrien feststellen können. Was eben noch ein gerades, langgestrecktes Mitochondrium war, kann im nächsten Moment schon ein gewundenes oder aufgeblähtes Organell sein. Auch ist bei den Mitochondrien eine Eigenbewegung festzustellen (manchmal „wenden" sie und ändern die Bewegungsrichtung. Wenn man Glück hat, kann man sogar beobachten, wie sich ein Mitochondrium teilt (Querteilung).

Herkunft der Mitochondrien:

Die Herkunft der Mitochondrien versucht die „Symbiontenhypothese" zu erklären. Sie besagt, daß die Mitochondrien auf bakterienartige Organismen zurückzuführen sind, und dann von der Zelle als Symbionten domestiziert wurden.

Untersuchung an fixierten Zellen

Die Mitochondrien werden durch die gängigen Fixierungsmittel sehr schlecht bzw. gar nicht fixiert, weswegen sie z. B. nach Alkohol-Eisessig-Fixierung nicht mehr nachzuweisen sind. Für die Mitochondrienfixierung benötigt man besondere Fixierflüssigkeiten; die Palette derselben reicht von den osmiumtetroxidhaltigen (und deswegen auch teuren und gefährlichen) Champy- und Flemmingfixiergemischen bis zu den relativ einfach herzustellenden Calciumformol- und Regaudfixierflüssigkeiten.
Die schönsten Ergebnisse liefert das Champy-Fixiergemisch, das schon nach 30—60 Minuten die Mitochondrien genügend fixiert hat:

1%ige Chromsäure (Gift!)	7 ml
3%iges Kaliumdichromat	7 ml
2%ige Osmiumtetroxidlösung (Gift!)	4 ml

Vorsicht: Bei OsO_4-haltigen Fixierungsflüssigkeiten immer mit Schutzbrille und unter dem Abzug arbeiten (OsO_4 verursacht Schleimhaut- und Hornhautschäden!). Das Gemisch muß in dunkler, mit Schliffstopfen gutverschließbarer Flasche aufbewahrt werden.
Von den schon fertigen Fixierflüssigkeiten kann man die Chromosmiumessigsäure nach Flemming verwenden. (Im Dunkeln fixieren!)
Nachdem die Epidermisstücke für ca. 30 bis 60 Minuten in der Fixierlösung waren, werden sie herausgenommen und gut gewässert. Anschließend kann man dann im Phasenkontrast oder nach Heidenhains Eisenhämatoxylinfärbung im Hellfeld untersuchen.

Färbung mit Heidenhains Hämatoxylin:

Fixiertes Zellstück nach dem Wässern für 2—24 Stunden in 2,5%ige Eisenalaunlösung legen. Anschließend kurz abspülen und dann für weitere 2—24 Stunden in Hämatoxylinlösung nach Heidenhain einlegen. Nachdem das Zellstück durch und durch schwarz gefärbt ist, muß man in 2,5%ige (oder schwächerer!) Eisenalaunlösung wieder differenzieren. Ist der richtige Grad der Differenzierung erreicht (Zellen sollen noch bläulich gefärbt sein), wird gut unter Leitungswasser abgespült und nach Auflage eines Deckglases untersucht. Bei gelungener Färbung und nicht zu weit fortgeschrittener Differenzierung sind die Mitochondrien als blaugefärbte Strukturen im Hellfeld zu erkennen.
Annähernd dieselben guten Fixierungsergebnisse wird man mit den leichter zu handhabenden und auch billigeren Fixierflüssigkeiten nach Baker und Regaud erhalten.

Baker-Lösung = Formol-Calcium:

40%ige Formol 10 ml
1 g $CaCl_2$
80 ml Aqua dest.

Regaud-Gemisch:

3%iges Kaliumdichromat 80 ml
40%iges Formol 20 ml
Formolzusatz erst kurz vor Gebrauch!

Fixierungsdauer: Eine Zwiebelepidermis ist nach 1—3 Stunden durchfixiert (längeres Fixieren durchaus möglich).
Sowohl für das Ca-Formol als auch für das Regaud-Gemisch benötigt man neutrales Formol, da das „normale" Formol durch einen bestimmten Anteil an Säuren sauer reagiert ($pH < 7$). Am einfachsten erhält man neutrales Formol, wenn man dem 40%igen Formol soviel Calciumcarbonatpulver zusetzt, daß es 1—2 cm des Flaschenbodens bedeckt. Dann schüttelt man kräftig, damit eine milchig-trübe Suspension entsteht. Nach spätestens einem Tag hat sich das $CaCO_3$ wieder am Boden der Flasche abgelagert und das Formol ist weitgehend neutralisiert oder säurefrei.

Vorteile von Calcium-Formol und Regaud-Gemisch:

Diese beiden Fixierlösungen sind sehr billig (alle benötigten Reagenzien kann man z. B. in einer Apotheke für wenig Geld erhalten und sich dort abwiegen lassen). Auch lassen sie sich leichter handhaben als die osmiumtetroxidhaltigen Fixiergemische. Nach der Fixierung und anschließendem Auswaschen kann die Heidenhainsche Hämatoxylinfärbung durchgeführt werden. Eine weitere gut fixierende Lösung ist 5% $KMnO_4$. Anwendung wie bei Formol-Ca.
Die ungefärbten, in Champy, Flemming, Baker, Regaud oder $KMnO_4$ fixierten Epidermisstückchen können selbstverständlich unmittelbar im Phasenkontrast oder Interferenzphasenkontrast beobachtet werden.

Anmerkung: Oft kann man mehr und größere Mitochondrien in den Epidermiszellen

finden, wenn man noch keimungsfähige Zwiebeln 1 oder 2 Tage vor der Präparation zum Wurzelziehen auf Wasser setzt. Durch den erhöhten Stoffwechsel erhöhen sich Zahl und Größe der Mitochondrien.
Ohne Vorbehandlung sind die Mitochondrien in jungen *Elodea*-Blättchen 1—4 µm lang, ca. 0,5 µm breit; in Zellen der Zwiebelepidermis 4—12 µm lang und 0,5—1 µm breit.

Literaturhinweise:

1. *Burck, H.-C.:* Histologische Technik, Stuttgart 1973.
2. *Nultsch, W.* und *Grahle, A.:* Mikroskopisch-Botanisches Praktikum, Stuttgart 1974.
3. *Gerlach, D.:* Botanische Mikrotechnik, Stuttgart 1977.
4. *Romeis, B.:* Mikroskopische Technik, München 1968.
5. *Reiß, J.:* Lebendfärbung von Mitochondrien mit Janusgrün B, Mikrokosmos 58, 38—41, 1969.

Verfasser: Arthur Hauck, Zähringerstr. 101, 68 Mannheim 61.

Für diese Arbeit wurde dem Autor von der Firma Olympus eine Phasenkontrasteinrichtung zur Verfügung gestellt. Er bedankt sich für diese Unterstützung.

Kurt von der Dunk
Klaus von der Dunk

Vegetative Fortpflanzung bei Laubmoosen

Selig sind die Auserwählten, die sich liebten und vermählten.
Denn sie tragen hübsche Früchte und so wuchert die Geschichte sichtbarlich von Ort zu Ort.
Doch die braven Junggesellen, Jungfern ohne Ehestellen,
welche ohne Leibeserben so als Blattgewächse sterben,
pflanzen sich durch Knollen fort.

Aus „Kritik des Herzens" von Wilhelm Busch

Dieses Zitat aus „Kritik des Herzens" von Wilhelm Busch war für mich ein Anstoß, mich mit der vegetativen Fortpflanzung der Moose und ihren Brutorganen zu beschäftigen. Angeregt durch „den erstaunlichen Reichtum der Laubmoose an verschiedenartigen, oft hochdifferenzierten Brutorganen, einem Reichtum, wie er wohl bei keiner anderen, äußerlich so homogen erscheinenden Pflanzenklasse wiederkehrt" schrieb 1899 Professor Dr. Carl Correns ein fast 500 Seiten starkes Buch über „Die Vermehrung der Laubmoose durch Brutorgane und Stecklinge".
Moose sind leicht zu beschaffende Untersuchungsobjekte, die einfach in Wasser gelegt ohne weiteres der Entdeckerfreude zur Verfügung stehen.
Daher habe ich von den im Correnssschen Buch aufgeführten über 90 deutschen Arten einige wenige bekanntere und auch häufigere Moose ausgesucht, um an ihnen zu zeigen, welcher Art solche Brutorgane sein können. Ich hoffe, daß sie als Anregung zu eigenen Arbeiten dienen.

Dabei fiel mir noch auf, daß Correns sein ganzes Buch nur mit gezeichneten Abbildungen versehen hat, was mich anregt, für die Wiedergabe des im Okular Gesehenen Handzeichnungen zu empfehlen.

Die Möglichkeiten der Mikrofotografie ungeschmälert, bietet eine selbst angefertigte Zeichnung für den Beobachtenden ungeahnte Vorteile. Das Handicap der fehlenden Tiefenschärfe, Unvollkommenheiten der selbst hergestellten Präparate, oft unvermeidliche Verschmutzungen, die in der Fotografie stören, können bei einer Zeichnung eigenwillig ausgeschaltet werden. Außerdem erwirbt der Beobachter dabei eine viel genauere Detailkenntnis seines Präparats und genießt größere Entdeckerfreude!

In den ausgewählten Beispielen lasse ich daher Fotos und Zeichnungen ausdrücken, was der erläuternde Text sagen soll.

Die vegetative Fortpflanzung ist in der Natur weit verbreitet und nicht etwa als Notbehelf anzusehen, wie ja z. B. die Erdbeere sich sowohl durch Samen auf den süßen Früchten als auch durch Ausläufer fortpflanzt. Auch bei den Moosen werden Arten, die sich vegetativ vermehren, oft trotzdem noch durch zahlreiche Sporenkapseln vor dem Aussterben gesichert. Öfter allerdings ist die ungeschlechtliche Vermehrung die einzige, durch die Ungunst der gegebenen Wachstumsverhältnisse mögliche Fortpflanzungsart.

Beginnen möchte ich mit den einfachsten Brutkörpern, wie sie z. B. auf den Blättern der Baumrinde bewohnenden Art *Orthotrichum lyellii* entstehen. Bild 1 zeigt einen Teil einer Blattfläche mit den verblüffend zahlreichen Zellfäden, die wie Algen aussehen und anfänglich auch für solche gehalten wurden, bis man feststellte, daß es blattbürtige Protonemafäden waren, die als abfallende Brutorgane in der Lage sind, die Moosart fortzupflanzen. Sie bilden sich sowohl auf der Oberseite als auch auf der Unterseite der Blätter. Correns gibt an, daß Blattrand und Blattrippe bevorzugt werden. Bei den mir vorliegenden Proben entstehen sie ebenso häufig direkt auf der Blattfläche. Bild 2 zeigt genauere Einzelheiten der Brutkörper, die meist etwa bis zu 6 Zellen lang sind. Sie können jedoch

Bild 1: Blattfläche des Mooses *Orthotrichum lyellii* mit Brutkörpern.

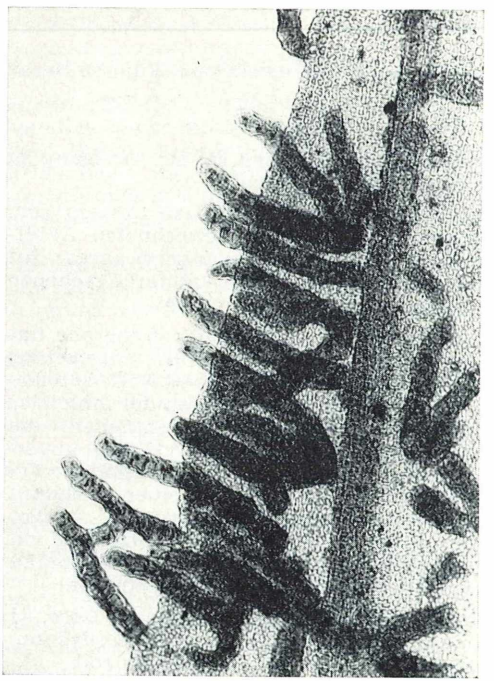
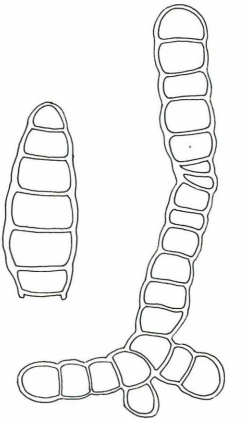


Bild 2: Einzelbrutkörper. Links häufigste Form 85 μm lang, rechts längerer Zellfaden 195 μm lang, mit Verzweigungen Beide 26 μm dick.



auch viel länger werden und sich verzweigen, wie beide Bilder zeigen.

Die Zellen sind voll Chlorophyll, ihre Wände kräftig und gebräunt, nur die Endzellen sind heller bis farblos in der Membran. Sie lösen sich leicht durch Zerreißen ab (Bild 2, links), oft bleibt aber auch die Zelle ganz (Bild 2, rechts). Die Brutkörper sind etwa 26 μm dick und je nach Zellenzahl 120, 150, bis 200 μm lang. Das Moos fruchtet nur stellenweise, was auf die Ausbildung der Brutfäden keinen Einfluß ausübt.

Eine andere, häufig vorkommende Brutkörperform sind Bulbillen genannte Zellkörper, die am Stämmchen der Moose oder am Protonema entstehen. Als Beispiel nehme ich das überall häufige Blumentopfmoos, *Leptobryum pyriforme*. Wir finden das hellgrüne, bis mehrere Zentimeter hoch werdende Moospflänzchen auf der Erde in Blumentöpfen und natürlich in Gewächshäusern. Sporenkapseln sind sehr selten. Die Bulbillen findet man in den unteren Blattachseln und am Protonema. Sie stehen an fadenförmigen Trägern. Bild 3 zeigt einen solchen Brutkörper in der Achsel eines Blattes. Das Bild gibt gleichzeitig zu erkennen, daß der in ausgewachsenem Zustand dunkelbraune Zellkörper den Verlauf seiner Zwischenwände nur schwer erkennen läßt. In einer Zeichnung (Bild 4) kann man aber gut die genaueren Einzelheiten anbringen. Die Gestalt eines Moospflänzchens mit zahlreichen, am Protonema entstandenen Brutkörpern, die man wegen ihrer dunklen Farbe schon mit bloßem Auge sehen kann, gibt die Zeichnung ebenfalls besser wieder, als es eine Mikroaufnahme überhaupt könnte. Die Bulbillen sind etwa 150 μm lang und 90 μm dick.

Correns erwähnt für dieses Moos noch „Brutzellen", die durch Zerfall des Protonemas in ein- oder wenigzellige Stücke entstehen sollen und durch Trennzellen von-

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

einander abgelöst werden. Ich habe diese Vermehrungsart bei diesem Moos noch nicht gesehen. Dagegen sah ich häufiger eine Vermehrung durch abbrechende, wenigblättrige Kurztriebe, die ebenso wie die Bulbillen leicht mit Blumentopferde aus Gärtnereien in die Privatsammlung von Blumentöpfen gelangen können.

Hierbei kann ich auf die roten, himbeerförmigen Brutkörper des Mooses *Bryum erythrocarpum* hinweisen, das in dem Beitrag „Moose der Ackerscholle zwischen Ernte und Saat", Mikrokosmos Heft 12, 1973 erwähnt wurde.

Spindelförmige Brutkörper entwickelt am Protonema das bekannte Leuchtmoos, *Schistostega pennata,* das in manchen — nicht kalkhaltigen — Gegenden Deutschlands und der nördlichen Halbkugel häufiger in kleinen Höhlungen, unter Baumwurzeln und Steinen vorkommt. Das Foto Bild 5 zeigt den eigenartigen Brutkörper, der noch mit einer Trennzelle am Protonema festhängt. Er hat eine Länge von etwa 125 µm. Jede Zelle hat die Fähigkeit, zu Protonema auszuwachsen. Man findet diese Brutkörper oft im Detritus des Untergrundes. In der Zeichnung (Bild 6) sind Brutkörper in ihrer natürlichen Stellung am Protonema zusammen mit den eigenartigen Linsenzellen gezeigt, die durch Reflex des in die Höhlungen einfallenden Tageslichtes das „Grüne Leuchten" hervorrufen, das dem Moos seinen Namen gegeben hat. Über das Leuchtmoos sowie das nächstfolgende Moos brachte der Aufsatz im Mikrokosmos „Moose, die Licht fangen" in Heft 7, 1972 Einzelheiten.

Ein besonders interessantes Moos ist das Vierzahnmoos, *Georgia pellucida,* bei dem diskusförmige Brutkörper in eigens dazu gebildeten Tragekörbchen an der Spitze von Moossprossen entstehen. Das Moos wächst auf Erde im Wald, besonders aber auf faulenden Baumstümpfen und fruchtet oft reichlich. Die Sporenkapseln springen mit vier Zähnen auf. Daher der Name Vierzahnmoos, früher *Tetraphis* genannt.

Die Hüllblätter der Körbchen ähneln zwar den normalen Laubblättern, sind aber viel breiter. Von ihnen geschützt, sprossen die Brutkörper an dünnen Stielen fortlaufend und fallen nach der Reife ab. Sie sind flach und rund, in der Mitte drei Zellen dick, am Rand einzellig. Sie haben einen Durchmesser von etwa 160 µm. Am Rande liegen Initialzellen, aus denen bei der Keimung Protonema entsteht. Dieses bildet bald flächenförmige, assimilierende Vorkeimblätter, oder bei genügendem Licht direkt neue Moospflänzchen (vgl. Mikrokosmos Heft 7, 1972).

Correns charakterisiert die Brutkörbchen als gestauchte Achsen eines Zweigsystems. Sie ähneln den bei vielen Moosen vorhandenen männlichen Blütenständen. Goebel



Bild 3: Brutkörper (Bulbille) in einer Blattachsel von *Leptobryum pyriforme.*

sieht die Brutkörperbecher auch als modifizierte männliche Geschlechtsstände an, in denen die Bildung von Antheridien unterblieb und in denen die zwischen diesen stehenden Paraphyllien (Keulenhaare) zu Brutkörpern umgebildet wurden.

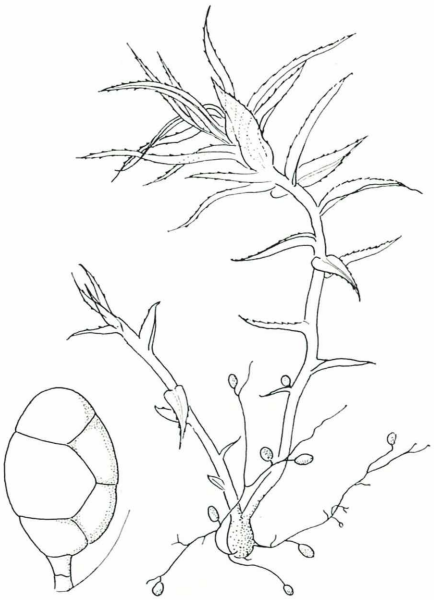
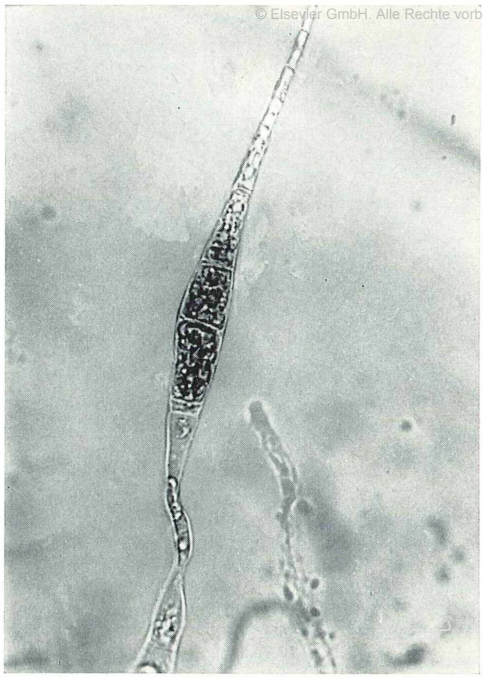
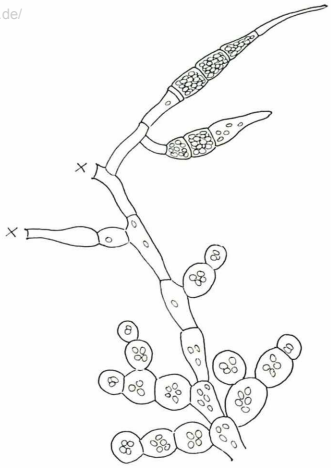


Bild 4: Einzelpflanze von *Leptobryum* mit vielen Bulbillen am Protonema. Links Zellkörper eines Brutkörpers.

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





▲ Bild 6: Leuchtmoosprotonema mit Linsenzellen, Brutkörpern und Ablösestellen (×) abgefallener Brutkörper.

◀ Bild 5: Spindelförmiger Brutkörper von *Schistostega pennata* (bisher noch nicht im Foto gezeigt).

Eigenartig ist es, daß zweierlei Brutkörbchen vorkommen, solche, die Bild 7 zeigt, mit großen, die Brutkörper umhüllenden Blättern und wieder andere, bei denen über recht kleinen Hüllblättern die Brutkörper herausschauen. Bild 8 zeigt in etwas stärkerer Vergrößerung ein solches Körbchen. Warum sich zweierlei Körbchen ausbilden — nicht am gleichen Standort —, ist nicht bekannt. Nach Untersuchungen von Correns hängen die Dimensionen nicht mit der zur Verfügung stehenden Lichtmenge zusammen, vielleicht aber mit der Feuchtigkeit. Neben ausgesprochenen Brutkörpern ver-

Bild 7: Großes Brutkörbchen von *Georgia pellucida*, etwa 1500 µm breit.

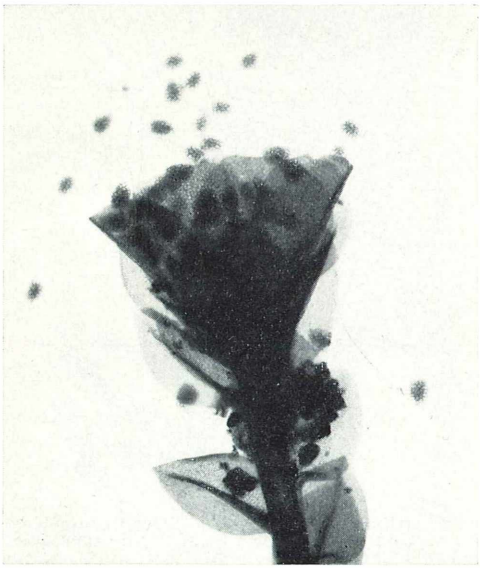
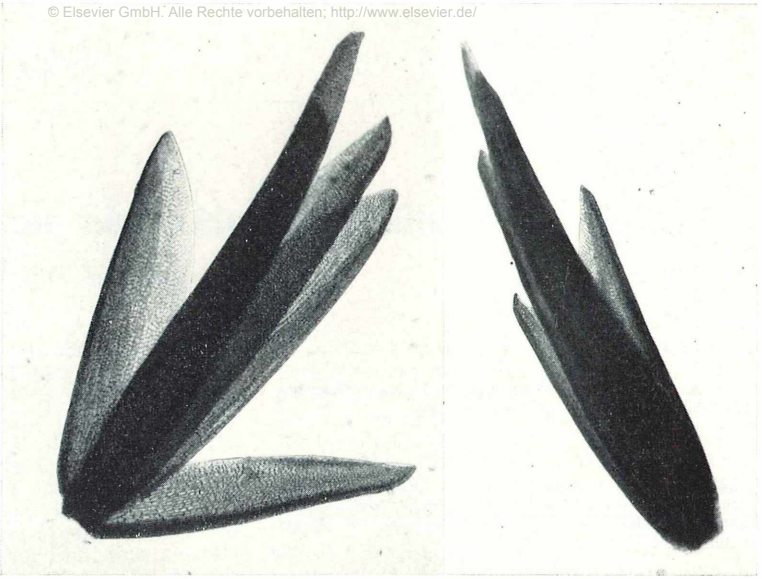


Bild 8: Kleines Brutkörbchen, 480 µm breit, mit abfallenden Brutkörpern.



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

Bild 9: Bruchknospen von *Campylopus flexuosus*, 1 mm lang.



mehren sich die Moose häufig über abfallende Blätter, Blattknospen bzw. ganze Sproßteile.

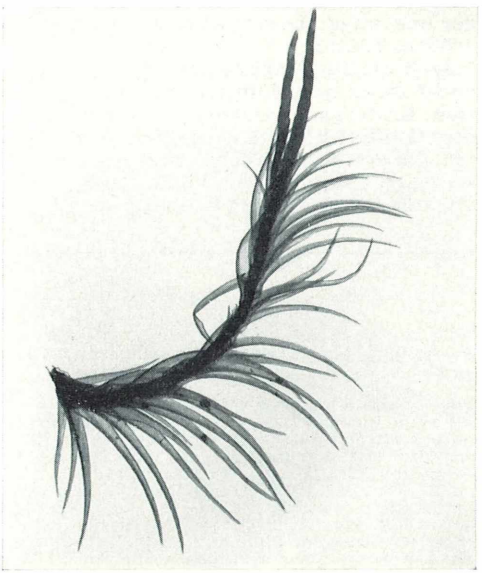
Als Beispiel für abfallende Blattknospen diene das Moos *Campylopus flexuosus*, eine auf trockenen Waldböden in geschlossenen, rundlichen, etwa 10 cm großen, dunkelgrünen, flachen Rasen häufig vorkommende Moosart. Hierbei lösen sich am Hauptsproß wie an den von ihm ausgehenden Seitenzweigen die im dichten Polster etwa gleichhoch stehenden Endknospen ab. Diese haben ungefähr stets die gleiche Länge von 2 mm (Bild 9). In der Zeichnung (Bild 10) ist ein Stämmchen mit ausgewachsenen Bruchknospen (schwarz dargestellt) zu sehen. Ähnliche abbrechende Endknospen hat auch das bekannte Silbermoos, *Bryum argenteum*, das in dem Aufsatz „Pflasterritzenmoos" im Mikrokosmos Heft 8, 1975 behandelt wurde.

Kleinblättrige Sprosse erheben sich wie Bajonette über den Rasen des an Baumstümpfen häufigen Mooses *Dicranum flagellare*. Die Flagellen stehen einzeln den Blattachseln — als Seitensprosse — und werden 2—3 mm lang (Bild 11). Oft brechen diese nicht im ganzen ab, sondern zerfallen in Einzelstücke, häufig nur mit einem Blättchen, wie die Zeichnung (Bild 12) zeigt. Die weitestgehende Ausbildung von Brutsprossen sind die oft bündelweise in Blattachseln entstehenden Bruchästchen, wie es die Zeichnung eines Pflänzchens von *Isopterygium elegans* in der nur durch ei-



Bild 10: *Campylopus*-Stämmchen mit Bruchknospen (schwarz dargestellt), eine davon bereits abgefallen.

Bild 11: Stämmchen von *Dicranum flagellare* mit zwei ausgebildeten Flagellen, 2—3 mm lang.



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

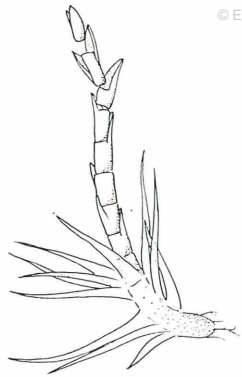


Bild 12: Eine Flagelle auf einem kurzen Stämmchenstück, in Einzelteile zerfallend.

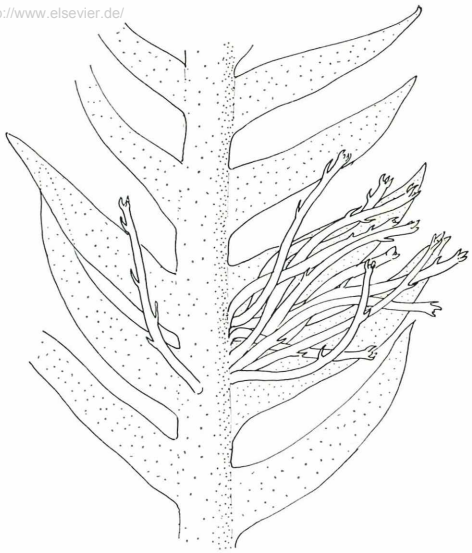


Bild 13: Sproß von *Isopterygium elegans* mit einem Bündel kleiner Bruchsprosse in einer Blattachsel (der Übersichtlichkeit wegen in der Zeichnung vereinfacht).

nen Stift wiederzugebenden vereinfachenden Form zeigt (Bild 13). Diese Einzelsprosse treten oft in derart großer Zahl auf, daß die dem Boden aufliegenden, zweizeilig beblätterten Pflänzchen wie mit hellgrünem Puder bestäubt aussehen.

Das Moos fruchtet so gut wie gar nicht und wächst gern auf kalkfreiem Boden oft mit dem erwähnten Leuchtmoos zusammen in kleinen Erdhöhlen.

Die sich bildenden Bruchästchen werden etwa 700 bis 900 µm lang und tragen nur wenige kleine Blättchen.

Ähnliche Kleinsprosse beobachtete ich auch bei dem erwähnten Blumentopfmoos; sie sind jedoch meist etwas kürzer und kräftiger und tragen bereits beim Abfallen etwas größere Blätter.

Soweit die ausgewählten Beispiele. — Vielleicht ist es noch interessant, daß die meisten Brutorgane hervorbringenden Moose den Gipfelfrüchtigen (Akrokarpe) angehören. Bei den Seitenfrüchtigen (Pleurokarpe), zu denen das zuletzt erwähnte Moos gehört, sind nur wenige Arten brutkörpertragend.

Literaturhinweise:

Correns, C. A.: Die Vermehrung der Laubmoose durch Brutorgane und Stecklinge. Verlag Gustav Fischer, Jena 1899.

Familler, I.: Über die ungeschlechtliche Vermehrung von Campylopus flexuosus. Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung (Herausgeber Dr. K. Goebel) 84. Bd. (Ergänzungsband) 1897.

Goebel, K.: Organographie der Pflanzen, Band 2, Jena 1915—1918.

Jongmann: Über Brutkörper bildende Laubmoose. Dissertation, München 1906.

Zeichnungen und Fotos Dr. Klaus von der Dunk

Verfasser: Dr. Kurt von der Dunk, Schenkstraße 136, 8520 Erlangen — Dr. Klaus von der Dunk, Ringstraße 25, 8521 Spardorf.

Anmerkung der Redaktion: Im Oktober feierte unser Autor Dr. Kurt von der Dunk seinen 80. Geburtstag. Mit unseren Lesern gratulieren wir ihm und hoffen, daß er dem Mikrokosmos noch viele seiner interessanten Moosbeiträge zur Verfügung stellen wird.

Über die Verwendung von Tinopal AN zur Darstellung von Bakterien in Pflanzengewebe

Von Sproßstücken von mit *Corynebacterium insidiosum* infizierten Luzerne-Pflanzen *(Medicago sativa)* wurden mit Gefriermikrotom 10 µm dicke Schnitte angefertigt, in H_2O dest. gesammelt, dann in Kirkpatricks Fixiergemisch (=Äthanol : Chloroform : Formalin im Verhältnis 6 : 3 : 1) fixiert und vorsichtig 1—2 min in 0,5 g Erythrosin und 0,05 g Phenol in 100 ml H_2O dest. gefärbt. Nach vorsichtigem Spülen in H_2O dest. wurden sie 10 min in einer 0,1%igen wäßrigen Lösung von Tinopal AN (Geigy), die vor Gebrauch gefiltert wurde, gefärbt, wiederum in H_2O dest. gespült und auf Objektträgern in Wasser eingeschlossen mit Deckgläsern bedeckt. Bei der Untersuchung im Fluoreszenzmikroskop mit einer Quecksilberdampflampe als UV-Lichtquelle zeigten sich die Bakterien und die von ihnen befallenen Abschnitte in einem rosa Farbton, wodurch sie sich deutlich vom blau gefärbten gesunden Gewebe unterscheiden ließen.

Eng, L. K. and Cole, A. L. J.: Tinopal AN in fluorescent microscopic detection of bacteria within plant tissues. Stain Technol. **51**, 277—278 (1976).

Alexander Pareto

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

Werner Peters

Gliederantenne eines Hundertfüßlers im polarisierten Licht

Bei den Myriapoden (Hundert- und Tausendfüßlern) und Insekten gibt es zwei verschiedene Antennentypen: die Glieder- und die Geißelantenne. Die Gliederantenne kommt bei den Myriapoden, Collembolen und Dipluren vor; die Geißelantenne bei allen übrigen Insekten. Die Geißelantenne hat nur in den beiden basalen Gliedern (Scapus und Pedicellus) Muskeln, während die in sehr verschiedener Zahl und Ausbildung vorhandenen Glieder der Geißel nur durch Blutdruck bewegt werden können; sie entstehen durch Teilung aus den Grundgliedern oder selten durch Teilung aller Geißelglieder. Das zweite Glied dieses Antennentyps ist durch das Vorhandensein eines umfangreichen Komplexes von Sinnesorganen im Innern charakterisiert, die man insgesamt als Johnstonsches Organ bezeichnet; es dient der Wahrnehmung von Luftströmungen, Erschütterungen bzw. Schallwellen.

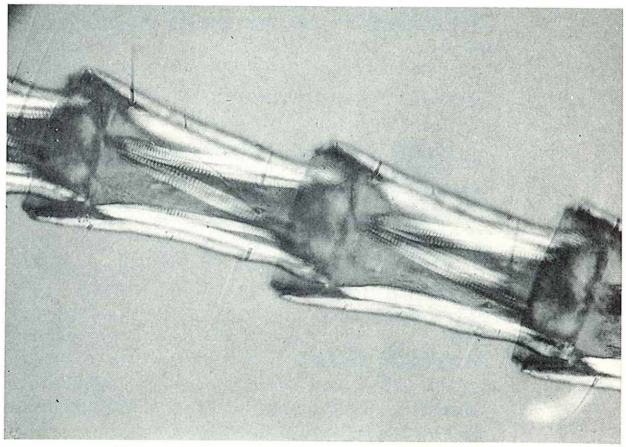
Die Gliederantenne enthält in allen Gliedern, mit Ausnahme des Endgliedes, Muskeln. Eine Vermehrung der Gliederzahl kann auch nach der Embryonalentwicklung noch erfolgen, und zwar durch Teilung des Endgliedes. Ein Johnstonsches Organ ist nicht vorhanden.

Die Aufnahme zeigt die Gliederantenne eines Hundertfüßlers aus der Gattung *Geophilus*. Diese Tiere kommen bei uns sehr häufig in oberen Bodenschichten vor. Nach Fixierung in 70% Alkohol und Entwässerung in der Alkoholreihe wurde die Antenne in Caedax eingedeckt. Für Untersuchungen im polarisierten Licht benötigt man nicht unbedingt ein eigentliches Polarisationsmikroskop. Es genügen zwei Polarisationsfilter (Polarisator und Analysator), die von verschiedenen Mikroskopherstellern passend zu den Mikroskoptypen geliefert werden, und ein Rot-I-Plättchen (auch Hilfsobjekt Rot I genannt).

Untersucht man ein Präparat im polarisierten Licht, so lassen gleichartig orientierte Strukturen das nur in einer Ebene schwingende Licht lediglich dann durch, wenn es in der gleichen Richtung orientiert ist. Zu den hochgradig geordneten Strukturen gehören in diesem Falle vor allem Kutikula und quergestreifte Muskulatur, die entsprechend ihrer Ausrichtung gegenüber der Schwingungsrichtung des polarisierten Lichtes verschieden deutlich in Erscheinung treten. Das auf diese Weise entstehende Schwarzweiß-Bild kann aber durch Einschalten eines sog. Rot-I-Plättchens in ein farbenprächtiges und vielfach ästhetisch schönes Bild umgewandelt werden. Das Rot-I-Plättchen besitzt einen sog. Gangunterschied, der die Polarisationsfarbe Rot hervorruft; kommt durch das Objekt ein weiterer Gangunterschied hinzu, so ändert sich die Farbe des Objektes in Richtung Blau oder Gelb. Man benutzt daher das Rot-I-Plättchen zur Bestimmung der sog. Indexellipse.

Den unterschiedlichen Verlauf von Muskelfasern kann man sehr gut an den verschiedenen Farbabstufungen erkennen. Dieses Verfahren kann daher auch bei funktionsmorphologischen Untersuchungen eingesetzt werden. Es läßt sich auch bei größeren Objekten anwenden, wenn diese in geeigneter Weise aufgehellt werden, denn es gibt Polarisationseinrichtungen als Zusatz beispielsweise bei WILD-Stereomikroskopen mit Durchlichteinrichtung.

Verfasser: Prof. Dr. Werner Peters, Albrecht Dürer Straße 45, 4006 Erkrath.

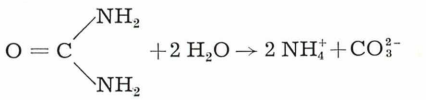


© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Andreas Perscheid

Experimente zur Ammonifikation in Abwässern

Die Ammonifikation, d. h. die Freisetzung von Ammonium, ist der erste Schritt beim Abbau organischer Stickstoffverbindungen. Die Ammonifikation ist hier am Beispiel des Harnstoffs gezeigt, da dieser den größten Anteil an ammonifizierbaren organischen Stickstoffverbindungen im Abwasser ausmacht. Sie verläuft nach folgender Reaktionsgleichung:



$$O=C(NH_2)_2 + 2\,H_2O \rightarrow 2\,NH_4^+ + CO_3^{2-}$$

Diese Reaktion wird von dem Enzym Urease katalysiert. Das entstandene Ammonium wird mit Hilfe von im Wasser gelöstem Sauerstoff während der Nitrifikation zu Nitrat oxidiert.

Um die Ammonifikation zu messen, ist es am sinnvollsten und einfachsten, die Zunahme der Ammoniumkonzentration zu bestimmen. Während meiner Untersuchungen zeigte sich, daß die Bestimmung der Ammoniumkonzentration nach der Formaldehydmethode die genaueste ist.

Benötigte Reagenzien:

1. Mischindikator 5 für Ammoniaktitrationen (Merck)
2. 0,1 n Salzsäure
3. Phenolphthaleinlösung, 0,1%ig alkoholisch
4. Formaldehydlösung, ca. 35%ig
5. 0,1 n Natronlauge

Benötigte Geräte:

Bürette; Becherglas 100 ml; Meßzylinder 100 ml; Pipetten

Ausführung:

50 ml Probenwasser werden mit einigen Tropfen Mischindikator 5 versetzt und mit 0,1 n Salzsäure auf die Umschlagsfarbe eingestellt. Man gibt 15 ml gegen Phenolphthalein neutralisierter Formaldehydlösung und einige Tropfen Phenolphthalein zu und titriert mit 0,1 n Natronlauge bis zur schwachen Rosafärbung (1).

Berechnung:

mg NH_4^+/l = ml 0,1 n Natronlauge · 36.

Weitere für die Versuche benötigte Chemikalien und Geräte:

— Harnstofflösung (12 g/l)
— mehrere Glasstöpselflaschen Enghals 100 ml
— 2 Bechergläser 500 ml
— evtl. Aquarienbelüfter
— Abwasserproben

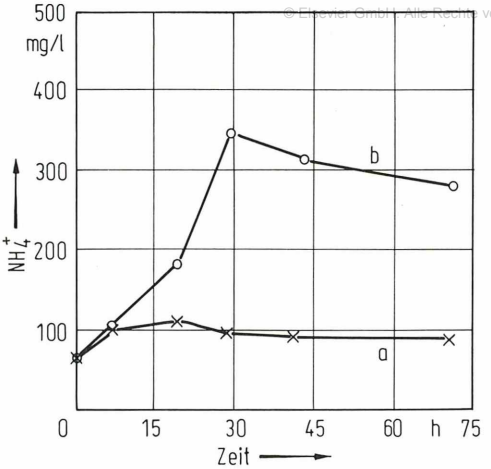
1. Versuch: Der zeitliche Verlauf der Ammonifikation

Man füllt mehrere (ca. 5) Glasstöpselflaschen mit der Abwasserprobe und verschließt sie luftblasenfrei, damit das entstandene Ammonium nicht oxidiert wird. Dies sind die Proben a. Die Proben b werden in gleicher Weise abgefüllt (ebenfalls ca. 5 Flaschen), jedoch wird das Abwasser vorher mit 5 ml Harnstofflösung pro 200 ml Abwasser versetzt, so daß die Harnstoffkonzentration im Abwasser um 300 mg/l erhöht wurde.

Man bestimmt die Ammoniumausgangskonzentration der Abwasserprobe.

In Abständen von 12—24 Stunden öffnet man je eine Probe a und eine Probe b und

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.



bestimmt den Ammoniumgehalt. Man erhält dann obenstehende Kurve.
In beiden Proben steigt der Ammoniumgehalt zunächst an, d. h. von organischen Stickstoffverbindungen werden Aminogruppen abgespalten. In der Probe b steigt die Ammoniumkonzentration stärker an als in der Probe a, denn die Konzentration der ammonifizierbaren organischen Stickstoffverbindungen wurde durch die Harnstoffzugabe in den Proben b erhöht. Der Anstieg der Ammoniumkonzentration verläuft jedoch nicht linear, sondern die Ammonifikationsrate wird im Laufe des Versuchs größer. Dies ist wahrscheinlich durch eine andauernde Enzymproduktion bedingt. Das geringfügige Abfallen der Kurven nach 30 Stunden hat zwei Gründe: Das Ammonium wird von Mikroorganismen im Abwasser aufgenommen, oder es wird durch Oxidationsprozesse, die nicht auf Luftsauerstoff beruhen, oxidiert. Mit diesem Versuch kann man zwei Aussagen über das untersuchte Abwasser machen:

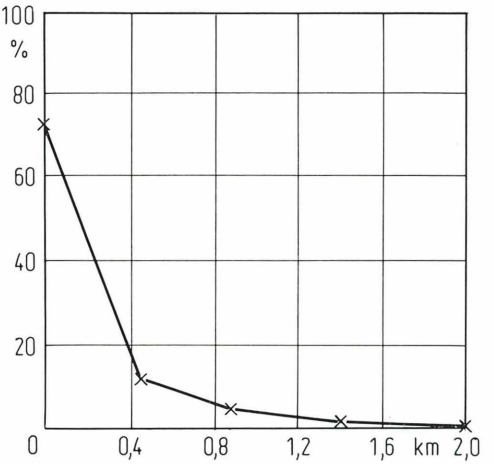
1. Quantitative Bestimmung der ammonifizierbaren organischen Stickstoffverbindungen. Die Differenz zwischen dem Maximum der Probe a und der Ammoniumausgangskonzentration ist ein Maß für die Gesamtmenge der ammonifizierbaren Stickstoffverbindungen in der Abwasserprobe.
2. Quantitative Bestimmung des Ammonifikationsvermögens. Aus der Differenz der Probe b und der Probe a nach einer bestimmten Versuchsdauer (ca. 20 Stunden) kann man berechnen, wieviel Prozent der zugegebenen Harnstoffmenge ammonifiziert wurden.

$$\text{Ammonifikationsvermögen in 20 St. (in \%)} = \frac{(b—a)\cdot 100}{180}$$

Das Ammonifikationsvermögen gibt Aufschluß über die Enzym-Konzentration bzw. die Enzymaktivität im Abwasser. Indirekt kann man auch auf die Bakterienkonzentration schließen, da die Enzyme von Bakterien produziert werden.

2. Versuch: Das Ammonifikationsvermögen eines Vorfluters

Einem Vorfluter werden nach der Abwassereinleitung im Abstand von je 500 m Proben entnommen. Man bestimmt das Ammonifikationsvermögen während 20 oder 24 Stunden nach der in Versuch 1 beschriebenen Methode. Es ergibt sich folgende Kurve: (Ordinate: Ammonifikationsvermögen in 20 Stunden (in %), Abszisse: Entfernung von der Abwassereinleitung (in km)).



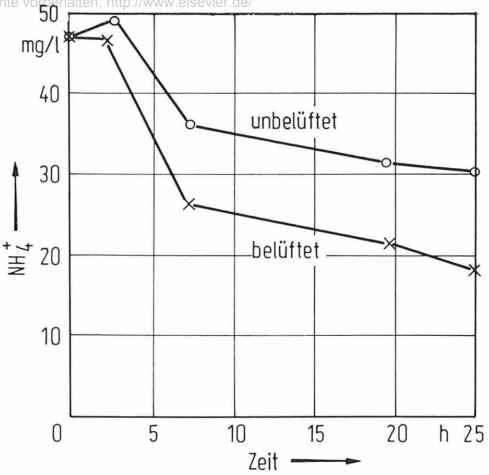
Das Ammonifikationsvermögen nimmt sehr schnell mit der Entfernung von der Abwassereinleitungsstelle ab, d. h. die Ammonifikation steht am Anfang der Selbstreinigung und ist sehr schnell abgeschlossen. Im Anschluß an die Ammonifikation folgt die Nitrifikation, die ein Gewässer wegen ihres großen Sauerstoffbedarfs stark belastet.

3. Versuch: Verlauf der Ammoniumkonzentration in einer belüfteten und einer unbelüfteten Abwasserprobe

Zwei Bechergläser werden mit derselben Abwasserprobe gefüllt, eines davon wird mit Hilfe eines Aquarienbelüfters mit Sauerstoff versorgt. Die Ammoniumkonzentration wird innerhalb der folgenden 30 Stunden in beiden Gefäßen mehrmals gemessen. Man erhält die auf S. 350 dargestellte Kurve.
Die Ammoniumkonzentration steigt zu-

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

nächst, da die Ammonifikation größer ist als die Nitrifikation (=Ammoniumoxidation). Der Ammoniumgehalt sinkt dann in der belüfteten Probe aufgrund der besseren Sauerstoffzufuhr schneller als in der unbelüfteten; das Ammonium wird schneller zu Nitrit und dann zu Nitrat oxidiert.



Literaturhinweise:

1. *Lux, H.:* Praktikum der quantitativen anorganischen Analyse. Verlag J. F. Bergmann, München 1970.
2. *Reinheimer, G.:* Mikrobiologische Untersuchungen über den Stickstoffhaushalt der Elbe, in: Arch. f. Mikrobiol. 34, S. 358—373 (1956).

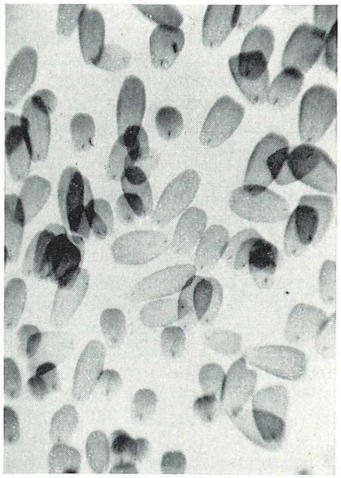
Verfasser: Andreas Perscheid, Bettinaplatz 4, 6000 Frankfurt.

Zur Einführung in die Mikroskopie

Frieder Sauer

Insektenschuppen unter dem Mikroskop

Beim Durchmustern von Wasserproben der verschiedensten Herkunft wird man immer wieder einmal auf ganz charakteristische Formen stoßen, die Flügelschuppen von Schmetterlingen. Sie gelangen in das Wasser, wenn dort Schmetterlinge verunglükken und sich bei ihren Befreiungsversuchen die locker sitzenden Schuppen von den Flügeln reiben. Ihre Größe ist kaum abhängig von der Größe der Falter, große Schmetterlinge haben lediglich mehr Schuppen als kleine. Immer kann man mit etwa 10 000 Schuppen pro Quadratzentimeter Flügelfläche rechnen, einseitig betrachtet. Jede Schuppe ist die Vorwölbung einer Schuppenbildungszelle, die offenbar nur mit geringer Größenabweichung vorkommt.

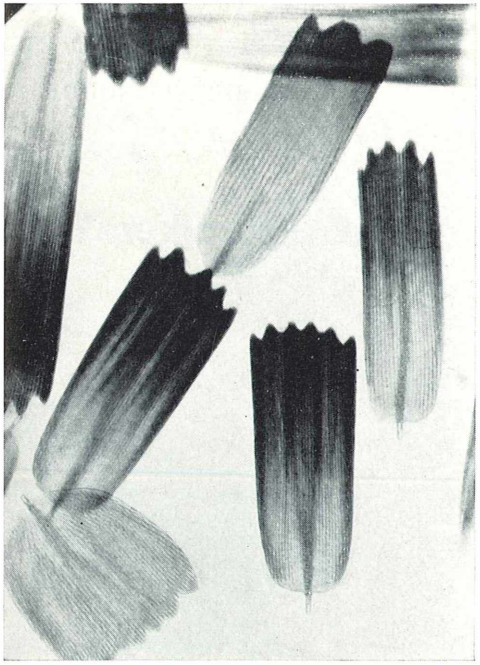


Schmetterlingsschuppen sind auffällige, hoch organisierte Formen des Mikrokosmos. Ihre raffinierte dreidimensionale Struktur wird erst unter dem Elektronenmikroskop und da erst bei stereoskopischer Betrachtung sichtbar. Sie hat die Schuppen aufblasbar gemacht: Im frisch geschlüpften Schmetterling sind sie winzig klein, weich und dehnbar. Zusammen mit den Flügeln

Bild 1: Schuppen des Silberfischchens. Die silberglänzenden, sehr zarten Schuppen lösen sich besonders leicht vom Körper ab und können als zu verschmerzende Teilbeute in den Kiefern eines möglichen Angreifers zurückbleiben.

werden sie zu Hohlformen aufgepumpt und erstarren danach in ihrer endgültigen Form. Ihre Aufgaben sind vielfältig: Sie tragen die Flügelfarben, die verbergende, vor Ekelgeschmack des Trägers warnende und für den Paarungspartner bestimmte Muster bilden können. Sie erhöhen die Flugleistung der Falter. Vor allem aber lösen sie sich leicht von der Unterlage und verkleben z. B. die Leimtropfen im Spinnen-

Bild 2: Flügelschuppen des Distelfalters als Beispiel für typische Schmetterlingsschuppen. Am Körper stehen mehr haarförmige Schuppen, die einen wärmenden Pelz bilden. Er ist besonders bei den Faltern ausgeprägt, die auch bei niedrigen Temperaturen fliegen, und hält die Wärme zurück, die die Falter durch die Flugarbeit erzeugen.



netz. Darum findet man nur ganz ausnahmsweise einmal einen Schmetterling unter der Spinnenbeute. Sie verschmieren Zähne und Krallen eines möglichen Angreifers. Jeder, der schon einmal versucht hat, einen Eulenfalter aufzuheben, wird gemerkt haben, wie schwer das ist. Sich ablösende Schuppen bleiben in den Händen zurück, während der Falter immer wieder dem Griff entgleitet wie die sprichwörtliche Seife in der Badewanne.
Es wäre reizvoll, aus der Form der Schuppen auf den Schmetterling zu schließen,



Bild 3: Schuppen von den Deckflügeln eines Grünrüßlers *(Polydrosus sericeus)*. Die massigen Schuppen sind aus zahlreichen Lagen reflektierender Häutchen aufgebaut. Sie zerlegen das Licht in einen Anteil, der reflektiert wird und den Käfern einen prachtvoll grünen Glanz verleiht. Der Rest des Lichtes wird durchgelassen. Er zeigt die Komplementärfarbe zu Grün, ein Rotviolett.



Bild 4: Schuppen vom Thorax einer Stechmücke *(Culex)*. Die zarten, blattförmigen Schuppen stehen recht locker, ihre Funktion ist unbekannt. Aufnahme im Phasenkontrast.

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

der sie verloren hat. Das ist aber kaum möglich, die Schuppen variieren an einem Individuum mehr als über die gesamte Ordnung der Schmetterlinge hin. Lediglich die Augenspinner, zu denen unsere Nachtpfauenaugen gehören, tragen charakteristische Schuppen, die an zwei und mehrzinkige Gabeln erinnern. Sie geben ihren Flügeln eine wollige, teppichartige Oberfläche. Bei den Apollofaltern kommen noch herzförmige Schuppen vor, sonst aber finden sich spatenförmige, je nach dem Ort am Körper mehr oder weniger gedrungene oder gestreckte Schuppen über alle Schmetterlingsfamilien hin.

Der Besitz von Schuppen ist kein Privileg der Schmetterlinge. Schuppen finden sich vielmehr bei zahlreichen Insektenordnungen, z. B. bei den Hautflüglern (Schuppenbienen), Fliegen und Mücken, bei Käfern und bei verschiedenen Gruppen von Urinsekten. Zwischen den Schuppen dieser verschiedenen Gruppen gibt es aber deutliche Unterschiede in Form und Aufbau. Offenbar sind die Schuppen mehrfach im Verlauf der Insektenentwicklung „erfunden" worden.

Verfasser: Dr. Frieder Sauer, Eichenweg 8, 8047 Karlsfeld.

Winke fürs Labor

Manfred Kaufmann

Das Deckglas – Stiefkind des Mikroskopikers?

Viele Mikroskopiker scheuen nicht vor dem Ankauf hochaperturiger, teurer Trockenobjektive zurück, sind später aber nicht mit den damit erreichten Ergebnissen zufrieden. Dies läßt sich in vielen Fällen auf einen einzigen Grund zurückführen, nämlich den Einfluß des Deckglases. Er wird von einem Großteil der Mikroskopiker unterschätzt und soll daher Gegenstand dieses kurzen Artikels sein.

Nach Determann und Lepusch wirken sich Schwankungen in der Deckglasdicke bereits ab einer numerischen Apertur von 0,40 nachhaltig auf die Bildqualität aus und mit höheren Aperturen wird dieser Effekt immer stärker. Die nachstehende Tabelle 1 gibt Auskunft über die zulässigen Abweichungen von der vorgeschriebenen Deckglasdicke 0,17 mm.

Tabelle 1: Zulässige Abweichungen von der vorgeschriebenen Deckglasdicke in Abhängigkeit von der Objektivapertur (nach Determann und Lepusch).

Apertur	Deckglasdicke
0,40	0,17 ± 0,09
0,60	0,17 ± 0,013
0,75	0,17 ± 0,004

Nun sind aber bei den 0,17 mm auch Einbettungsmittel oder Kulturflüssigkeit mitzurechnen, so daß die effektive Deckglasdicke für optimale Resultate mit ca. 0,15 mm anzusetzen ist (vgl. Grospietsch, 1972).

Ganz im Gegensatz zu diesen theoretischen Forderungen aber steht die Praxis. Die Kontrolle einer Packung Deckgläser einer Markenfirma erbrachte das folgende Ergebnis:

Tabelle 2: Resultat der Prüfung einer Packung Deckgläser 22×22 mm.

Deckglasdicke	Anteil in %	Wertung
0,14 bis 0,15 mm	17	optimal
0,15 bis 0,16 mm	40	gut
0,16 bis 0,17 mm	15	brauchbar
dicker als 0,17 mm	28	unbrauchbar

maximale Dicke: 0,21 mm

Daß dies kein zufälliges Resultat ist, beweisen die Werte einer anderen Messung: hier waren sogar über 35% der Deckgläser dicker als 0,17 mm (maximal wurden sage und schreibe 0,24 mm festgestellt), die Zahl der unbrauchbaren Gläser lag bei 40%.

Welche Auswege aus diesem Dilemma bieten sich nun an?

1. Man benutzt nur vorsortierte Deckgläser; denn bei diesen ist der Streubereich we-

sentlich kleiner. Nachteilig aber ist, daß sie sehr teuer (bis zum dreifachen Preis normaler Deckgläser) und schwer erhältlich sind. In Aachen z. B. (Universitätsstadt!) waren sie im einschlägigen Fachhandel nicht zu bekommen.

2. Statt hochaperturiger Trockenobjektive verwendet man Ölimmersionen wie z. B. Wild Fluotar 50× oder Leitz Achromat 63×; denn das Immersionsöl kompensiert die Schwankungen der Deckglasdicke (Schenk/Kistler, 1960), und man gewinnt gleichzeitig noch an Auflösungsvermögen. Leider sind derartige Objektive jedoch kostspielig und bei Flüssigpräparaten nicht uneingeschränkt verwendbar.

3. Es wird ein hochaperturiges Trockenobjektiv mit Korrektionsfassung benutzt. Hierbei kann man die Optik an die effektive Deckglasdicke anpassen und so optimale Verhältnisse schaffen. Diese Objektive sind ebenfalls sehr teuer und wegen des geringen Arbeitsabstandes bei Flüssigpräparaten schwer einsetzbar.

4. Als die für den Amateur wohl günstigste Lösung bietet sich daher das nachstehende Verfahren an. Man erwirbt unsortierte Deckgläser und prüft deren Dicke selbst. Dazu werden benötigt: eine Mikrometerschraube (Meßbereich 0—25 mm) mit Ratsche, z. B. Neckermann, Bestellnummer 980/900 (Preis: 47,50 DM), sowie ein kleiner Tischschraubstock (Preis: ca. 20,— DM), in den die Mikrometerschraube zur besseren Handhabung eingespannt werden kann. Mit dieser Apparatur läßt sich die Deckglasdicke auf ca. 5 μm genau bestimmen. Durch die Ratsche wird beim Messen immer nur ein geringer gleichmäßiger Druck auf die Gläser ausgeübt und dadurch die Bruchgefahr auf ein Minimum beschränkt.



Bild: Die Zieralge *Micrasterias rotata*, aufgenommen mit Fluotar 20× und schräger Beleuchtung (Deckglasdicke 0,15 mm).

Ein möglicher Nachteil dieser Einrichtung wäre vielleicht der Gesamtpreis von ca. 70,— DM. Nach meiner Meinung wiegen aber die Vorteile diesen bei weitem auf:

1. Die beiden Geräte können auch zu anderen Zwecken gewinnbringend eingesetzt werden,
2. man kann Deckgläser aller beliebigen Größen verwenden und ist damit von Lieferschwierigkeiten unabhängig und
3. bei den hohen Preisen der vorsortierten Deckgläser amortisiert sich diese Apparatur schnell.

Wie sehr sich die sorgfältige Auswahl der zu verwendenden Deckgläser lohnt, mag das Bild der Zieralge *Micrasterias rotata* zeigen, das ich kürzlich mit einem Deckglas der Dicke 0,15 mm aufgenommen habe.

Literaturverzeichnis:

1. *Determann, H.* und *F. Lepusch:* Das Mikroskop und seine Anwendung. Druckschrift der Firma LEITZ.
2. *Grospietsch, Th.:* Wechseltierchen. In: Einführung in die Kleinlebewelt. Stgt. 1972.
3. *Schenk, R.* und *G. Kistler:* Mikrophotographie. Basel 1960.

Verfasser: Manfred Kaufmann, Esdoornstraat 39, Heerlen/NL.

Kleine Mitteilungen

Darstellung von Pilzhyphen in Kiefernadeln

Mit einer Konidiensuspension des Pilzes *Colletotrichum acutatum* beimpfte Nadeln 3 Monate alter Pflänzchen der Kiefer *Pinus radiata* wurden in Formol-Eisessig-Alkohol fixiert und mit Perjodsäure-Schiff'schem Reagens behandelt. In Wasser wurden die Nadeln unter dem Dunkelfeld-Mikroskop bei 100facher Vergrößerung auf Ansammlungen von Konidien, Keimschläuchen und Appressorien auf der Nadeloberfläche untersucht. Die befallenen Nadelabschnitte mit Appressorien wurden auf eine Länge von 5—10 mm zugeschnitten und in einem Uhrglas einige min mit Lactophenol-Baumwollblau (=20 g Phenol, 16 ml 85—90%ige Milchsäure, 31 ml Glyzerin, 20 ml H_2O dest., 0,1 g Anilinblau WS — R. A. Lamb, Alperton, Middlesex, England) gefärbt. Jeweils 2—3 Nadelstückchen wurden auf einen Objektträger übertragen und mit einigen Tropfen verdünntem Lactophenol-Baumwollblau (1 Teil Lactophenol-Baumwollblau, 2 bis 3 Teile reines Lactophenol) eingeschlossen und mit einem Deckglas bedeckt, das anschließend mit „Dulux Super Enamel"-Lack umrandet wurde. Ergebnis: Konidien und Keimschläuche auf der Nadeloberfläche waren rot gefärbt, die Appressorien blieben ungefärbt, in das Blattgewebe eingedrungene Hyphen waren blau gefärbt. Auf diese Weise lassen sich die Keimschläuche gut von den Hyphen, die von den Appressorien kommen, unterscheiden. Allerdings ist die Färbung nicht sehr lange haltbar, nach einer Woche oder später verfärbt sich das rotgefärbte Pilzmaterial auf der Nadelaußenseite blau.

Nair, J.: A method for staining infection hyphae in pine leaves. Stain Technol. **51**, 47—49 (1976).

Alexander Pareto

Vergleiche verschiedener Oxidationsmittel für Alaunhämatoxylin

Bei vergleichenden Absorptionsmessungen und Färbeversuchen zeigte sich, daß 100 mg Hämatoxylin in 40 ml einer 3%igen Kalialaun-Lösung (= Kalialuminiumsulfat, $KAl(SO_4) \cdot 12\,H_2O$) bei gleichem Endresultat entweder mit 20 mg Jod oder mit 4,5 mg Natriumjodat ($NaJO_3$) oder mit 3,5 mg Perjodsäure (H_5JO_6) oder mit 3,5 mg Natriummetaperjodat ($NaJO_4$) oder mit 9 mg Kaliumpermanganat ($KMnO_4$) oxidiert werden können. Wurden die fertigen Lösungen für 18 Stunden in einen 55 °C warmen Thermostaten gestellt, so stieg die Absorption gegenüber Lösungen, die bei Zimmertemperatur stehengelassen worden waren, um ein Viertel bis ein Drittel. Zwei Monate nach dem Herstellungsdatum zeigten die Lösungen, die anfangs bei 55 °C gehalten worden waren, dagegen keine weiter gesteigerte Absorption, wenn sie in einem dicht schließenden Gefäß ohne darüber befindliche Luft aufbewahrt worden waren. Bei Lösungen, die anfangs nicht erwärmt worden waren, stieg während der 2 Monate bei Zimmertemperatur die Absorption auf den gleichen Wert wie bei den erwärmten. Lösungen, die mit einem gewissen Quantum Luft über der Lösung aufbewahrt worden waren, zeigten ebenfalls diese Steigerung der Absorption, außerdem Schaum auf der Oberfläche und einen Niederschlag im Gefäß, der ein Filtern vor Gebrauch notwendig machte. Es empfiehlt sich also, die frische Kalialaunlösung mit dem zugesetzten Oxidationsmittel über Nacht in einen Thermostaten zu stellen und gut verschlossen, ohne Luftraum darüber, aufzubewahren; unter diesen Bedingungen verändern sich die Färbeeigenschaften der Lösung für mindestens 2 Monate nicht. Die Wahl des Oxidationsmittels bleibt dem einzelnen überlassen, da alle in den oben angegebenen Konzentrationen das gleiche Ergebnis liefern.

Clark, G.: Comparison of various oxidants for alum hematoxylin. Stain Technol. **49**, 225—227 (1974).

Alexander Pareto

Sechsfarbenmodifikation der Movatschen Fünffachfärbung

Die Fünffachfärbung nach Movat aus dem Jahre 1955 stellt vor allem Muskeln, Bindegewebe und Mucopolysaccharide dar, ist jedoch zeitraubend und liefert nicht immer befriedigende Resultate. Demgegenüber ist das hier beschriebene Verfahren innerhalb von weniger als 3 Stunden durch-

zuführen und arbeitet sowohl bei menschlichem als auch bei tierischem Gewebe zuverlässiger. Fixiert wird am besten in 10%igem Formol mit 2% Natriumacetatzusatz, 12—24 Stunden. Ein Formol-Sublimat-Eisessig-Gemisch liefert keine besseren Resultate, hat aber den Nachteil, daß nach der Fixierung die Sublimatniederschläge entfernt werden müssen; pikrinsäure- oder chromathaltige Fixierlösungen sind ebenfalls nicht besonders geeignet. Nach Paraffineinbettung werden 4 μm dicke Schnitte angefertigt, für die die unten angegebenen Färbezeiten gelten, bei dickeren Schnitten sind die Zeiten entsprechend zu verkürzen. Nach dem Entparaffinieren werden die Objektträger mit den Schnitten über die absteigende Alkoholreihe und H_2O dest. für 30 min in 55 °C warme Bouinsche Lösung gestellt und anschließend in fließendem Leitungswasser bis zum Verschwinden der Gelbfärbung gewaschen. Nach Spülen in H_2O dest. werden die Schnitte 10 min mit Alcianblau (2 g Alcianblau 8 GN [C.I. Nr. 74240, Matheson, Coleman and Bell, 2909 Highland Avenue, Norwood, Ohio, U.S.A.], 1 ml Eisessig, 99 ml H_2O dest.) gefärbt und dann 5 min mit fließendem Wasser gespült. Nun werden die Präparate 10 min mit Ammoniakalkohol (10 ml konzentrierter Ammoniak oder wahlweise 10 g NaOH, 90 ml 96%iges Äthanol) behandelt, 2 min in fließendem Wasser, dann in 70%igem Alkohol gespült. 10 min wird mit Resorcinfuchsin (0,5 g Resorcinfuchsin [Chroma] werden unter Rühren in 100 ml 70%igem Äthanol gelöst, 1 ml konzentrierte Salzsäure zugefügt; nach dem Filtrieren läßt man die Lösung vor Gebrauch 24—48 Stunden stehen) gefärbt, 5 min mit fließendem Wasser, anschließend mit H_2O dest. gespült. In konzentriertem Weigertschem Eisenhämatoxylin (2 g Hämatoxylin [C.I. Nr. 75290, Harleco] werden in 100 ml 96%igem Äthanol gelöst; 4 ml 29%ige, wäßrige Eisen(III)-chloridlösung, 1 ml konzentrierte Salzsäure werden mit 95 ml H_2O dest. vermischt und zur Hämatoxylinlösung zugegeben) wird 5—8 min gefärbt, 5 min in fließendem Wasser, dann in H_2O dest. gespült. In der Scharlachfarbenmischung (0,8 g Phosphorwolframsäure und 0,4 g Croceinscharlach MOO [C.I. Nr. 27290, Harleco Scientific Products, 7475 Ridge Road, Cleveland, Ohio, U.S.A.] werden in 40 ml H_2O dest. gelöst, ebenso 0,3 g Biebricher Scharlach [C.I. Nr. 26905, Allied Chemicals National Biological Stains and Reagents Department, Morristown, New Jersey, U.S.A.] in 30 ml H_2O dest., beide Lösungen werden vermischt und gut geschüttelt) wird 10—15 min gefärbt und jeweils 1 min in 2mal gewechseltem H_2O dest. gespült. Differenziert wird 5 min mit Phosphorwolframsäure-Phosphormolybdänsäure (2,5 g Phosphorwolframsäure und 2,5 g Phosphormolybdänsäure werden in 100 ml H_2O dest. gelöst), dann werden die Schnitte für 5 min bzw. 10 min in 2mal gewechselte, 1%ige wäßrige Essigsäure gestellt. 15 min wird mit Naphtholgrün B-Lösung (1 g Naphtholgrün B [C.I. Nr. 10020, Chroma], 1 ml Eisessig, 99 ml H_2O dest.) gefärbt, 8 sec mit H_2O dest., 20 sec mit 95%igem Äthanol und 2 min mit absolutem Äthanol gespült. 10—15 min wird in einem mit einem Stückchen Parafilm gut verschlossenen Gefäß mit Safran gefärbt (1 g Safran du Gâtinais [C.I. Nr. 75100, Chroma] wird unter Schütteln in 100 ml absolutem Äthanol gelöst, in gut verschlossenem Gefäß; die Lösung wird 24 Stunden bei 55—60 °C gehalten, gelegentlich geschüttelt, nach dem Abkühlen schnell durch grobes Filterpapier und bei bedecktem Trichter filtriert und in einem dunklen, gut verschlossenen Gefäß aufbewahrt). In 2mal gewechseltem, absolutem Äthanol wird je 1 min gespült und über 2 Xylolstufen mit je 3 min Aufenthalt in Permount eingeschlossen. Ergebnis: Zellkerne: dunkelpurpurn; Cytoplasma der glatten, der gestreiften und der Herzmuskulatur: hellscharlachrot; epidermale Stachelzellen, Melanocyten: hellgraublau; Nieren- und Leberparenchymzellen: karmesinrot bis rotviolett; periphere Ganglionzellen: dunkelviolett; Granula von Panethschen Zellen des Dünndarms, acidophile Granula in der Hypophyse, intrazelluläre Sekretkörnchen und Zymogenkörnchen: hellrot; Keratinfilamente und interzelluläre Brücken zwischen den Stachelzellen der Epidermis: hell orangerot; Trichohyalingranula: scharlachrot; Keratohyalinkörnchen: dunkelpurpurn; intakte Mastzellengranula: türkisgrün; Körnchen aus serösen Speicheldrüsen, Melanin, basophile Zellgranula in der Hypophyse: rostfarben bis olivgrün; epitheliale Mucine, Brunnersche Drüsen des Zwölffingerdarms: ungefärbt; Magenschleimhaut: ungefärbt bis sehr schwach himmelblau gefärbt; Schleimhäute der Atmungswege und des Bauchspeichel-Gallenganges: blau bis blaugrün; Schleimhaut der Eingeweide, Endocervical-, Bronchialdrüsen: hell smaragdgrün; Sekrete innerhalb von Drüsenlumina: blaßgelbgrün, häufig uneinheitlich. Mesenchym: lockeres Bindegewebe wie Laminae propriae, Interstitium parenchymatöser Organe: hellstrohgelb; reifes Kollagen, Neurilemm, Osteoid: pistaziengrün; Glomerularmesangium: gelborange; elastische Fasern: dunkelpurpurn; Solarelastosemassen: grauviolett; Endoneurium, Gewebegrundsubstanz: blaugrün; Myelinfiguren: scharlachrot; junge oder embryonale Knorpelmatrix: dunkelsmaragdgrün; reife Knorpelmatrix: hellgelb; entkalkter Knochen: hellorangerot; degenerierte mesenchymale Elemente: verschiedene Rotschattierungen.

Elbadawi, A.: Hexachrome modification of Movat's stain. Stain Technol. **51**, 249—253 (1976).

Alexander Pareto

Neutralrot und Evansblau zur Unterscheidung lebender von toten Planktonorganismen

Die Verwendung von Farbstoffen zur Unterscheidung von lebendem Zoo- und Phytoplankton erlaubt in einem nicht zu großen Zeitraum rasche Zählungen bei großen Mengen von Untersuchungsmaterial aus dem marinen Gezeitenbereich. 1 g des basischen Farbstoffes Neutralrot, der als Vitalfarbstoff für das Zooplankton dient, wird in 1000 ml H_2O dest. gelöst, und von dieser Stammlösung wird dann 1 ml zu 100 ml Meerwasser mit darin enthaltenem Untersuchungsmaterial hinzugefügt, so daß schließlich der Farbstoff in einer Endkonzentration von 1 : 100 000 vorliegt. Die Färbedauer beträgt je nach Untersuchungsmaterial 1 Stunde bis zu 6 Stunden. Calanusartige Copepoden, ihre Nauplius-Stadien und Polychaeten-Larven benötigen die kürzeste Färbezeit, Nauplius- und Cypris-Stadien von Entenmuscheln und Zoea-Stadien dekapoder Krebse benötigen die längste Färbedauer. Anschließend an die Färbung werden zur Fixierung zu je 100 ml Probe 10 ml nicht neutralisiertes 40%iges Formol hinzugefügt. Die Probe wird dann durch feine Gaze gefiltert, auf der das Plankton hängen bleibt. Die Organismen werden in frisches Seewasser übertragen, dem je 50 ml Probe 2 ml eines aus gleichen Teilen einer 1molaren Essigsäurelösung und einer 1molaren Natriumacetatlösung bestehenden Essigsäurepuffers hinzugefügt werden. Nach abermaliger Formolzugabe können die Proben im Kühlschrank bei 2—3 °C bis zur Auszählung verbleiben. Ergebnis: Zooplanktonten, die zum Zeitpunkt der Konservierung bzw. Fixierung lebten, sind tiefrot gefärbt, zu diesem Zeitpunkt bereits tote weiß bis rosa. Bei Phytoplankton, den meisten Diatomeen aus dem Gezeitenbereich, lassen sich die toten Individuen durch Zugabe von Evansblau (Stammlösung: 1 g Evansblau in 100 ml H_2O dest.) zur Probe, so daß eine Endkonzentration des Farbstoffes von 1 : 400 bis 1 : 2000 erreicht wird, bei einer Färbedauer von 5 min bis zu 1—3 Stunden anfärben. Nach der Färbung werden die Organismen in frisches Seewasser übertragen und möglichst bald ausgezählt. Ergebnis: Tote Diatomeen haben den blauen Farbstoff aufgenommen, lebende dagegen nicht. Da bei den Diatomeen *Biddulphia* und *Melosira* und bei dem gepanzerten Dinoflagellaten *Peridinium* mit Evansblau keine eindeutigen Ergebnisse erzielt werden konnten, empfiehlt es sich, diese Organismen mit Neutralrot in einer Endkonzentration von 1 : 50 000 1 Stunde lang zu färben, sie ohne Abspülen bei Zimmertemperatur aufzubewahren und möglichst bald nach der Färbung auszuzählen. Ergebnis: Das Cytoplasma

der lebenden Organismen ist rubinrot gefärbt, dasjenige der toten ungefärbt. Im Phytoplankton können harpacticoide Ruderfußkrebse durch das Fressen bestimmter pflanzlicher Organismen, z. B. von Chaetoceros, die Zahlenverhältnisse der verschiedenen Diatomeenarten in der Probe verändern. Abhilfe schafft das Insektizid Rotenon in einer Endkonzentration von 1 : 100 000, das die Krebse abtötet.
Crippen, R. W., and Perrier, J. L.: The use of neutral red and Evans blue for live-dead determinations of marine plankton. (With comments on the use of rotenone for inhibition of grazing.) Stain Technol. 49, 97—104 (1974).

Alexander Pareto

Neues Einbettungsmedium für schwer schneidbares Material

Um Mikrotomschnitte von schwer schneidbarem Material herzustellen — es handelte sich dabei um Teile künstlicher Blutgefäße, die vor Jahren bei kranken Patienten eingepflanzt worden waren und als Autopsiematerial auf ihre Gewebeverträglichkeit untersucht werden sollten — wurde ein neues Einbettungsmedium aus 50 g Kiefernharz, 15 g gelbem Bienenwachs und 5 g Paraffin zusammengestellt. Nach Fixierung in 10%igem Formalin und Entwässerung über die aufsteigende Alkoholreihe wurden die Gewebeproben über Nacht bei 56 °C im Thermostaten mit dem Harz-Wachs-Gemisch durchtränkt und eingebettet. Nach Aufblocken auf dem Objekthalter eines Schlittenmikrotoms und Zurechtschneidens des Blöckchens wurde dessen dem Messer zugewandte Schnittfläche nach jedem Schnitt jeweils mit einem frischen, 3—4 cm langen Streifen Klebeband (z. B. Tesafilm Nr. 3 oder Nr. 4) bedeckt, der Streifen gut angedrückt und nach dem Schneiden jeder einzelne Schnitt mit Hilfe des anhaftenden Klebestreifens auf einen fettfreien, mit Eiweißglyzerin bestrichenen Objektträger übertragen und einige Minuten fest angedrückt. Nach Einlegen der Objektträger für 15 min in den 56 °C warmen Thermostaten wurden durch mehrstündiges Einstellen in Benzol die Klebestreifen abgelöst, wobei sich gleichzeitig das Einbettungsmedium auflöste. Nach Überführen der Objektträger über die absteigende Alkoholreihe in H_2O dest. kann wie üblich, z. B. mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt werden.
Repassy, G. and Lapis, K.: A new embedding medium for firm materials applied to the sectioning of plastic vascular prostheses. Stain Technol. 52, 118—119 (1977).

Alexander Pareto

Eine Färbemethode für Milchröhren bei Hevea, dem Kautschukbaum

Da die gegliederten Milchröhren von *Hevea* und andere Rindenparenchymzellen nur schwer färberisch unterschiedlich dargestellt werden können, wurde folgendes Verfahren entwickelt: Das dem „Zapf"-Bereich entnommene Rindengewebe wurde sofort in FAA (Formol-Eisessig-Alkohol) eingelegt und 24—36 Stunden fixiert. Nach Entwässerung über tertiäres Butanol wurde in Paraffin vom Schmelzpunkt bei 58 °C eingebettet, dem einige Tropfen Ölsäure zugesetzt worden waren, da sich sonst der koagulierte Milchsaft bis zu einem gewissen Grad im Paraffin löst. 7 bis 10 µm dicke Schnitte wurden mit Haupts Gemisch (bestehend aus: 100 ml H_2O dest., 1 g Gelatin, 15 ml Glyzerin, 2 g Phenol) auf Objektträgern festgeklebt. Zum Entparaffinieren wurden die Objektträger mit den Schnitten in Glasgefäße gestellt, die ein Gemisch aus 55 Teilen Toluol und 45 Teilen absolutem Äthanol enthielten, und 1,5 Stunden in einem 60 °C warmen Thermostaten gehalten. (Dieses Gemisch verhinderte, daß sich der Milchsaft beim Auflösen des Paraffins gleichzeitig auch löste.) Nach 2—3-maligem Spülen in absolutem Äthanol wurden die Schnitte in 95%iges Äthanol übertragen. Gefärbt wurde 1,5 Stunden lang in folgenden Lösungen, die alle mit absolutem Äthanol angesetzt wurden: für junges Rindengewebe: 6 ml einer 2%igen Ölrot 4 B-Lösung (George T. Gurr, London), 4 ml einer 2%igen Lichtgrün-Lösung (British Drug Houses), 2 ml einer 10%igen Safranin-Lösung (British Drug Houses), 1 ml einer 2%igen Anilinsulfat-Lösung. Für älteres Rindengewebe wurde folgende Farblösung zusammengestellt: 2 ml einer 2%igen Ölrot 4 B-Lösung, 3 ml einer 1%igen Methylgrün-Lösung (British Drug Houses Ltd., London), 3 ml einer 2%igen Lichtgrün-Lösung, 2 ml einer gesättigten Anilinsulfat-Lösung. Nach der Färbung wurden die Schnitte mehrmals in 95%igem Äthanol und einige Male in absolutem Äthanol gespült und in Glyzeringelatine eingeschlossen, da auch Kanadabalsam den koagulierten Milchsaft auflöst. Ergebnis: Bei junger Rinde erscheinen die Milchröhren rot, das Phloem blau, das Xylem rot, Steinzellen gelb. Bei älteren Rindenstücken erscheinen die Milchröhren wieder rot, Phloem und Rindenparenchym blaugrün, Steinzellen wieder gelb.
Wimalaratna, S. D.: A staining procedure for latex vessels of Hevea. Stain Technol. 48, 219 to

Alexander Pareto

Bekanntmachung

Abonnementspreis für Mikrokosmos 1978

Leider muß der Abonnementspreis für den Mikrokosmos geringfügig erhöht werden: Er beträgt ab 1. Januar 1978 DM 52,20 (statt bisher DM 49,20) für den Jahrgang.
Die steigenden Herstellungskosten machen diese Erhöhung erforderlich, für die wir unsere Leser um Verständnis bitten.
Wir bedanken uns bei unseren Lesern für ihre Treue, für viele Anregungen, die uns aus dem Leserkreis zugehen, für konstruktive Kritik.
Besonders danken wir den Lesern, die durch informative Beiträge und gute Bilder mithelfen, den Mikrokosmos zu gestalten. Wir hoffen, im kommenden Jahrgang — dem 67. der Zeitschrift — noch mehr Erfahrungsberichte aus dem Leserkreis veröffentlichen zu können.

Verlag und Redaktion Mikrokosmos

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

E 20877 E

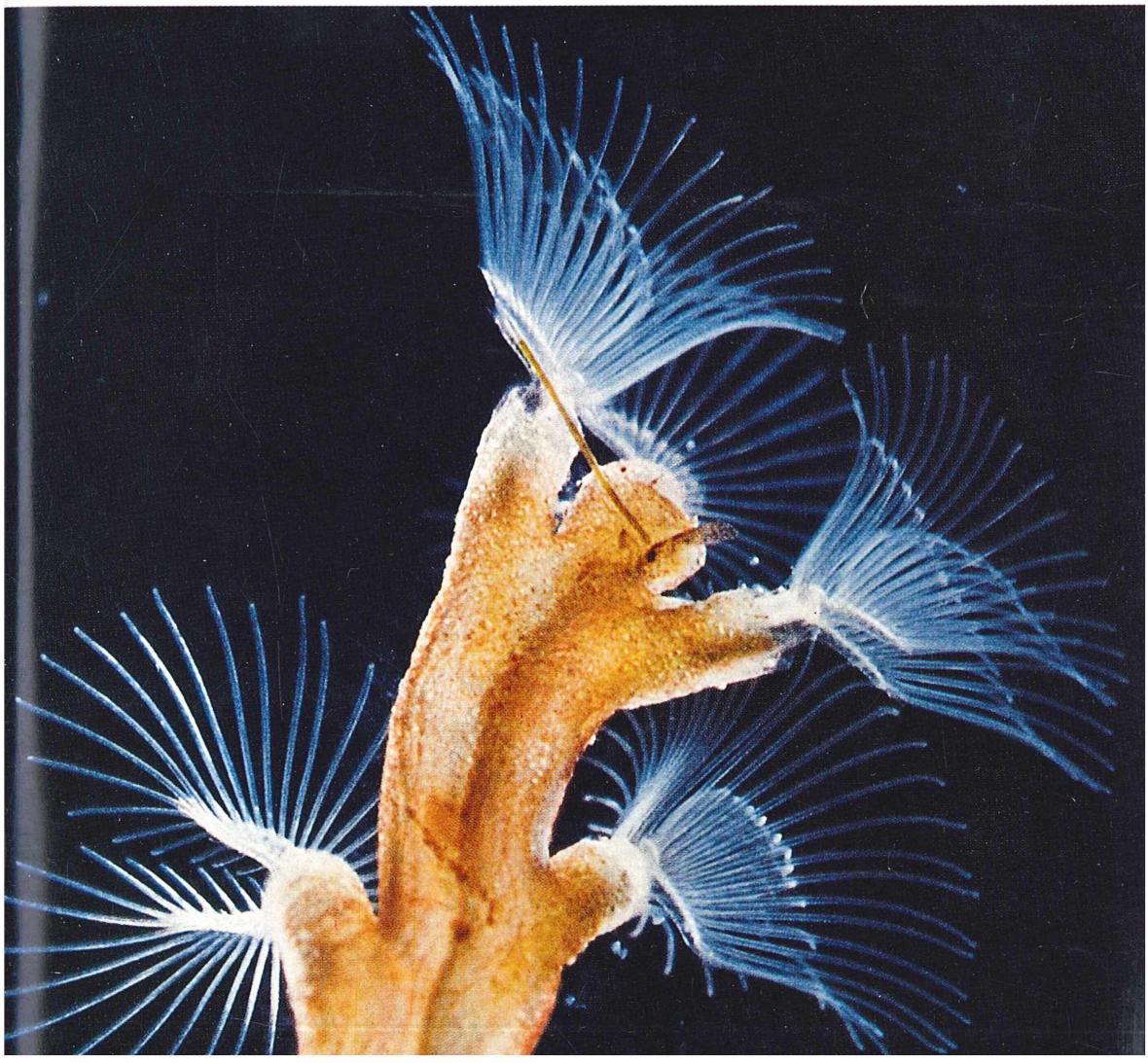
MIKROKOSMOS

66. Jahrgang · Heft 12/Dezember 1977

Eine Zeitschrift aus dem Kosmos-Verlag

ISSN 0026-3680 66. 1977, Nr. 12, S. 357–388

Moostierchen



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

Schwanzbildungen beim Riesenwimpertier Blepharisma japonicum

Bei einer Vitalfärbung an *Blepharisma japonicum* mit Löfflerschem Methylenblau verdunstete versehentlich ein großer Teil des Mediums, in dem sich die Blepharismen befanden. Sie verweilten ca. 30 Stunden in der sich konzentrierenden Lösung. Bei der anschließenden mikroskopischen Untersuchung war eine starke Verformung des Zellkörpers festzustellen. Das sonst breite Hinterende (Bild 1) hatte sich zu einem schwanzartigen Gebilde umgeformt (Bild 2). Die kontraktile Vakuole war, wie bei den normalen Tieren auch, immer noch endständig. Die Vermutung, daß diese Verformung durch die extremen Bedingungen hervorgerufen wurde, lag nahe. Die anschließende Durchsicht einer Veröffentlichung über *Blepharisma americanum* von Wilfert (5) ergab, daß Schwanzbildungen an anderen Vertretern der Gattung *Blepharisma* bereits von mehreren Forschern beschrieben wurden.
So wurden schwanzartige Fortsätze beobachtet an

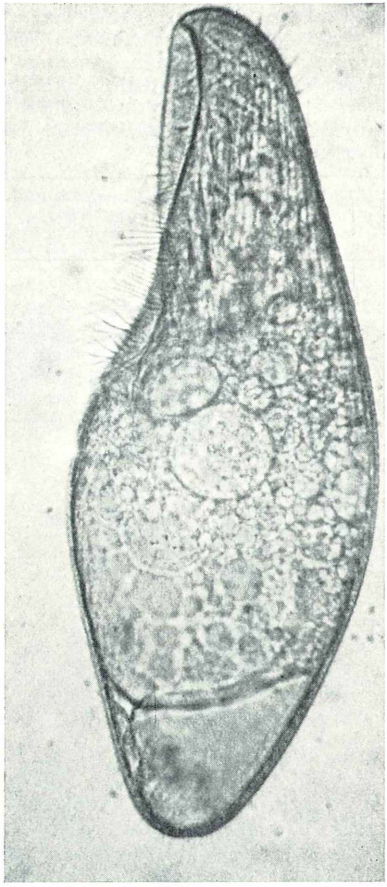
Bl. americanum (Wilfert 1972)
Bl. persicinum (Perty 1852)
Bl. elongatum (Stokes 1888; Kahl 1926; 1932; Gelei 1933 und Lepsi 1957)
Bl. musculus (*Apgaria undulans* bei Stokes 1888; Penard 1922; Kahl 1927, 1932)
Bl. sphagni, Bl. botezati (beide Lepsi 1926)

Wilfert bemerkt, daß alle die oben angeführten Blepharismen außer *Bl. persicinum* ihr Pigment verlieren, was als Hinweis für ungünstige Lebensbedingungen anzusehen sei.
Um den näheren Umständen der von mir beobachteten Schwanzbildung bei *Bl. japonicum* auf den Grund zu gehen, wurde eine Reihe von Versuchen durchgeführt.

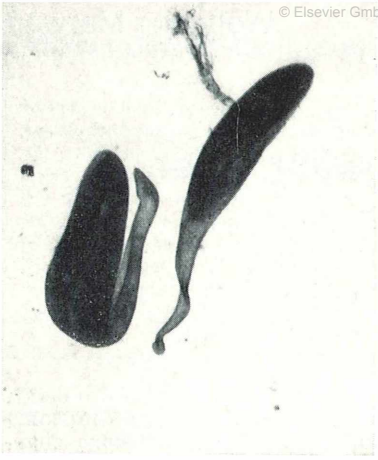
Material und Methode

Die verwendete *Blepharisma*-Kultur stammt von Herrn Dr. N. Wilbert. Die zu den Versuchen benötigten Blepharismen wurden in Einwegpetrischalen mit 5,5 cm ⌀ gezüchtet. Als Kulturmedium diente wahlweise belüftetes Leitungswasser oder Knopsche Nährlösung, denen jeweils ein Reiskorn zugegeben wurde, das als Nährboden für Futterbakterien diente. Zur Untersuchung der Ursachen der Schwanzbildung wurden meh-

Bild 1: Der rote Riesenciliat *Blepharisma japonicum* in seiner normalen Gestalt. Die kontraktile Vakuole, die sich am hinteren Zellpol befindet, ist gefüllt.



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



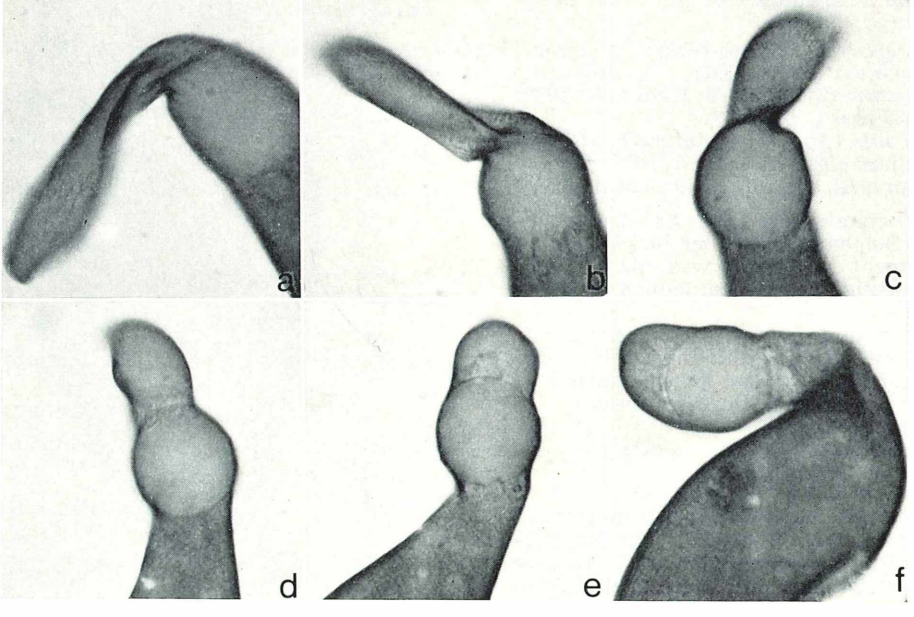
rere Tiere in Petrischälchen, die mit Nährlösung verschiedener Konzentration bestückt waren, überführt.
Um den pH-Wert der Kulturflüssigkeiten zu messen, wurde ein elektrisches pH-Meter verwendet.
Zur UV-Bestrahlung der Blepharismen diente eine Hanau-Höhensonne.
Um bei den Blepharismen die Schwanzbildungen hervorzurufen, wurden normale Tiere aus Standardmedium mit der Kapillarpipette in ein Medium anderer Salzkonzentration, anderen pH-Werts, usw. überimpft.

Bild 2: Nach der Vitalfärbung hatten die Tiere Schwänze ausgebildet.

Beschreibung der geschwänzten Tiere

Oft ist der Schwanz von *Bl. japonicum* mit hyalinem Protoplasma gefüllt. Dies scheint jedoch nur bei sehr starker Ausbildung des Schwanzes der Fall zu sein. Die kontraktile Vakuole sitzt oft am äußersten Ende des Schwanzes und beult ihn in gefülltem Zustand aus, wenn er dünn genug ist. Manchmal befindet sie sich auch nicht am äußersten Schwanzende, sondern mehr in der Mitte des Tieres. Sie wandert dann zur Schwanzspitze hin, um sich dort zu entleeren (Bild 3 a—f).
Bei der Ausscheidung wasserunlöslicher Verdauungsprodukte wandert die entsprechende Nahrungsvakuole zum äußersten Schwanzende und wird dort nach außen entleert. Der Zellafter, der sich auch am Ende des Schwanzes befindet, ist also noch funktionsfähig.
Die geschwänzten Blepharismen sind in ihrer Bewegung keineswegs gehemmt. Auch Tiere mit stärksten Schwanzbildungen schwimmen lebhaft umher. Auffallend ist, daß die Tiere dabei sehr oft um ihre Längsachse rotieren, was die normalen Blepharismen weniger häufig tun. Im Präparat zieht das Tier den Schwanz beim Schwimmen hinter sich her. Ändert es die Richtung, so knickt er um.
Die Schwanzbildung stellt in der Regel einen reversiblen Vorgang dar. Die geschwänzten Blepharismen verlieren ihre prächtig rote Farbe nicht, wie das bei vielen anderen Arten der Fall ist.

Bild 3 a—f: Alle 6 Aufnahmen bilden dasselbe Tier ab. Sie entstanden unmittelbar hintereinander. Die kontraktile Vakuole wandert im Schwanz nach hinten, um sich an dessen Ende nach außen zu entleeren.



Ergebnisse

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

Bei den Untersuchungen wurden fünf verschiedene Möglichkeiten gefunden, Schwanzbildungen an *Blepharisma japonicum* hervorzurufen:

1. Übertragen der Tiere in ein Medium höherer oder niedrigerer Salzkonzentration,
2. Bestrahlen der Blepharismen mit UV-Licht,
3. äußerst intensive Bestrahlung mit sichtbarem Licht,
4. überalterte Kulturen
5. oft nach Überimpfen in frisches Kulturmedium.

Bringt man normal gestaltete Individuen von *Bl. japonicum* aus ihrer normalen Nährlösung in ein Medium anderer Salzkonzentration oder in dest. Wasser, so zieht sich das sonst breite Hinterende zu einem schwanzförmigen Gebilde aus, das verschieden lang und verschieden dick sein kann. Die Schwanzgröße und die Zeit, die zur Schwanzbildung benötigt wird, sind weder von der Höhe der Salzkonzentration noch vom pH-Wert des neuen Mediums abhängig. Die durchgeführten zahlreichen Einzelversuche lassen vielmehr den Schluß zu, daß das Ausmaß der Schwanzbildung von der Konstitution des jeweiligen Tieres abhängt. Die für die Tiere kritische Grenze der Salzkonzentration liegt ungefähr bei 0,25%. (Normale osmotische Verhältnisse sind bei einer Gesamtsalzkonzentration von 0,01% gewährleistet.) Der kritische pH-Wert im sauren Bereich liegt um pH 3,5.

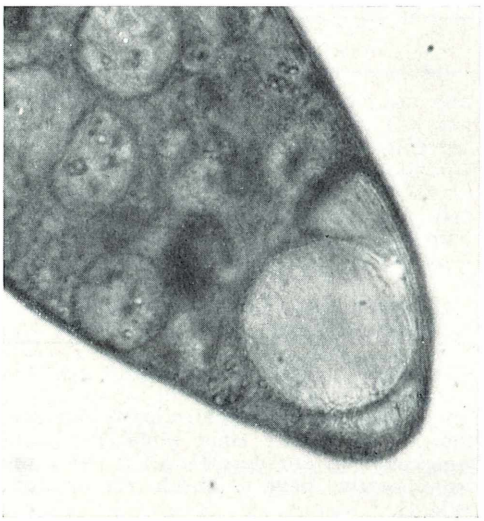


Bild 4: Das Hinterende eines normalen Tieres mit halb gefüllter kontraktiler Vakuole.

Um Schwanzbildungen mit UV-Strahlung hervorzurufen, wurde die Population einer Petrischale zwischen 5 Sekunden und 2 Minuten mit der Höhensonne bestrahlt. Die Schwänze entstanden bei den meisten Tieren dann nach 2 bis 10 Minuten.

Zur Erzeugung von Schwanzbildungen mit Licht wurde die Glühwendel einer Niedervolt-Halogenlampe (verwendet wurde die Philips-Kleinsthalogenlampe Typ 7388, 6 V, 20 W, 3300 K) im Dingfeld des Mikroskops abgebildet und ein Tier auf dem Objektträger oder in der Petrischale darüber gebracht. Das Tier ergriff meist nicht die Flucht und bildete innerhalb von Minuten einen Schwanz aus. Manchmal ging das Individuum bei dieser Prozedur jedoch auch zugrunde.

In alten Kulturen (ca. 1—3 Monate alt), in denen sich die Qualität des Mediums durch Verdunstung von Wasser und die Tätigkeit der das Reiskorn zersetzenden Bakterien erheblich verschlechtert hatte, kam es ebenfalls zu der oben beschriebenen Schwanzbildung. Allerdings fand hier offensichtlich keine Rückbildung der Schwänze mehr statt, so daß alle Tiere mit starken Schwanzbildungen ausgestattet waren. Nach wenigen Tagen gingen die Kulturen plötzlich zugrunde.

Wilfert schreibt in seiner Arbeit über *Bl. americanum* (5), daß seine Tiere nach Überführen in frisches Kulturmedium oder in dest. Wasser oft „schwanzartige Fortsätze" ausbildeten, die nach mehreren Stunden wieder zurückgebildet wurden oder sich abschnürten. Er führt diese Phänomene auf „osmoregulatorische Störungen" zurück. Dieses Verhalten zeigten auch die Tiere von *Bl. japonicum*. Die bei der Überimpfung in frisches Kulturmedium ausgebildeten Schwänze waren jedoch meist nicht so stark wie die, die in einem Medium anderer Salzkonzentration entstanden.

Der Vorgang der Schwanzbildung: Das Hinterende des Tieres beginnt sich zunächst

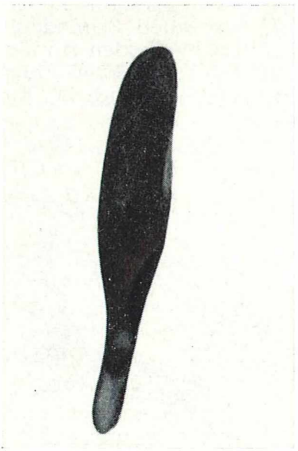


Bild 5: Der Schwanz ist voll ausgebildet.

etwas zu verlängern und nimmt die Form eines gotischen Bogenfensters an. Dann zieht sich das Hinterende immer mehr aus, so daß allmählich der eigentliche Schwanz voll ausgebildet wird.
Die Schwanzbildung selbst ist reversibel. Tritt sie jedoch in alten Kulturen auf, so ist sie offenbar irreversibel. Die Rückbildung erfolgt in gleicher Weise wie die Bildung. Eine Abschnürung der Schwänze, wie sie Wilfert an *Bl. americanum* beschrieb, konnte an *Bl. japonicum* kein einziges Mal beobachtet werden.
Geht man davon aus, daß alle Vertreter einer Gattung zumindest teilweise über gleiches genetisches Material verfügen und daß an allen eingangs erwähnten Vertretern der Gattung *Blepharisma* Schwanzbildungen beobachtet wurden, so liegt die Vermutung nahe, daß die Ursache der Schwanzbildung im genetischen Material begründet ist.

Herrn Studienrat Th. Bauer, Weiden, danke ich für das rege Interesse an meiner Arbeit.

Literaturhinweise:

1. *Kaplan, W.:* Molekulare Mutationsprozesse (aus „Molekularbiologie") Frankfurt a. M. 1967
2. *Matthes, D., Wenzel, F.:* Wimpertiere (Ciliaten) Stuttgart 1966
3. *Mayer, M.:* Kultur und Präparation der Protozoen Stuttgart 1971
4. *Vater-Dobberstein, B.* und *Wilbert, N.:* Das Wimpertier Blepharisma japonicum Mikrokosmos 65, 163 (1976)
5. *Wilfert,* M.: Zytologische Untersuchungen an dem Ciliaten Blepharisma americanum Suzuki 1954, Stamm Berlin (Heterotrichida, Spirostomatidae), sowie Bemerkungen zur Taxonomie und Systematik der Gattung Blepharisma Perty 1849 Archiv für Protistenkunde Bd. 114, S. 152 (1972)

Verfasser: Wolfgang Marwan, Friedrich-Ochs-Str. 5 c, 8480 Weiden.

Siegfried Hoc
Jürgen Fricke

Schneckenzungen

Einer der bedeutendsten Naturforscher des 19. Jahrhunderts, L. C. I. D. Cuvier, 1769 bis 1853, hat seiner Verwunderung über die Organisation der Schnecken mit den Worten Ausdruck verliehen: „Welch ein komplizierter Apparat an Geweben und Organen ist hier in einem Tier vereinigt, das dem Laien aus einer bloßen Schleimmasse zu bestehen scheint".
Bei fast allen Schnecken erhebt sich aus dem Schlundboden ein länglicher Wulst, an dem zahlreiche Muskelbündel ansetzen und der sehr beweglich ist. Eine über den oberen Rand des paarig gegliederten Zungenknorpels gespannte Haut bildet die Zungenscheide, in der der Hauptteil des Zungenapparates liegt, nämlich die Radula (Bild 1).
Die Radula ist ein chitinöses Häutchen mit aufsitzenden Zahnplatten in regelmäßiger und art-typischer Anordnung. Bis zu 170 Zähnchen bilden eine Querreihe oder ein Glied, und mehrere Hunderte von Gliedern können ein Zungenband bilden, an dessen Basis sich die Bildungsstätte neuer Zähnchen befindet. Abgenutzte Zähne werden von hier aus ersetzt.
Radulapräparate gewinnt man am einfachsten von konservierten Schnecken, wie man sie von Biologischen Meeresstationen beziehen kann. Die Biologische Anstalt Helgoland, Abteilung Materialversorgung, 2192 Helgoland, Postfach 148, versendet zum Beispiel Meeresschnecken. Von diesen

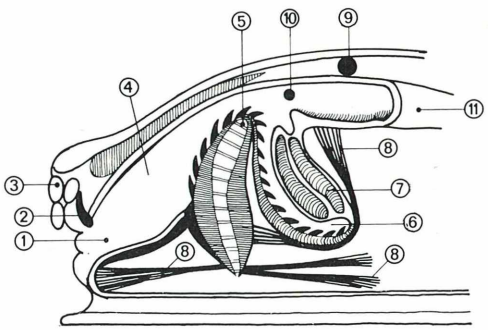


Bild 1: Schema eines medianen Längsschnittes durch den Vorderkörper einer Weinbergschnecke *1* Mundöffnung, *2* Kiefer, *3* Mundpapillen (Sinnesorgan), *4* Pharynx (Schlund), *5* Radula, *6* Radulatasche, *7* Papillenzapfen (Schutz der neugebildeten Radula), *8* Muskulatur, *9* Ganglion (Nervenknoten), *10* Mündung der Speicheldrüsen, *11* Speiseröhre (Oesophagus).

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

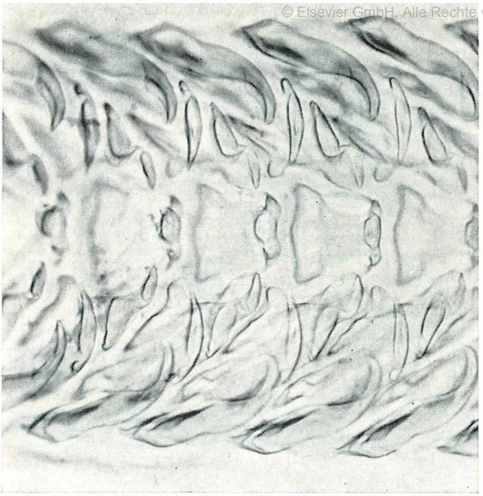


Bild 2: Radula von *Lunatia nitida*. 252 : 1

schneidet man möglichst weit hinten den Kopf ab und bringt ihn in 10%ige Natron- oder Kalilauge. In dieser Lösung wird innerhalb einiger Tage das Fleisch vollkommen abgebaut. Übrig bleibt die chitinöse Radula. Sie ist als zartes Häutchen in der Lösung zu finden. Für sehr kleine Formen ist eine binokulare Prismenlupe von Vorteil.

Nach gründlichem Wässern kann die Radula über Glyzerin direkt in Glyzerin-Gelatine eingeschlossen werden. Sie läßt sich aber auch mit Boraxkarmin anfärben und über Alkoholstufen und Xylol in Kanadabalsam oder einem Kunstharz-Kanadabalsam-Ersatz eindecken.

Will man von selbst gesammelten lebenden Schnecken die Radula präparieren, muß man die Tiere natürlich abtöten. Kleinere Schnecken kann man köpfen: Wenn sie ausgestreckt kriechen, schneidet man ihnen blitzschnell mit einem Rasiermesser den Kopf ab. Eine andere Möglichkeit besteht darin, die Tiere in eine Lösung von 1% Hydroxylamin in abgekochtem Wasser einzulegen und das Gefäß gut zu verschließen.

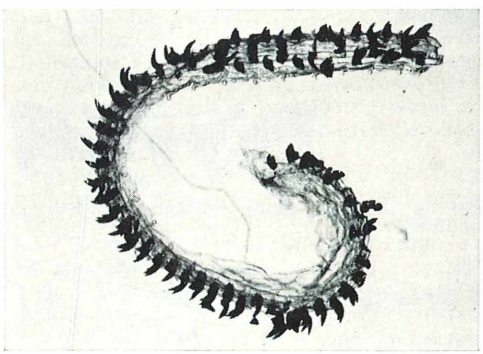


Bild 3: Radula von *Patella tarentina*. 18 : 1

Nach zehn bis zwanzig Stunden sind die Tiere tot und ausgestreckt.

Nach dem Bau und der Funktion lassen sich die Radulatypen bestimmten Hauptgruppen zuordnen. Eine sogenannte Spreizzahnradula besitzt die Strandschnecke *Littorina littorea:* Die Randzähne sind gespreizt und die Mittelzähne werden senkrecht aufgerichtet.

Die Zähne der Bandzüngler (Taenioglossa) sind unter sich und auf der Radula-Basalmembran beweglich. Die oben genannte Strandschnecken-Zunge gehört diesem Typ an. Ebenfalls eine Spreizzahnradula besitzt *Lunatia nitida:* Diese etwa 18 mm hoch werdende Schnecke wendet mit ihrem Fuß kleine Muscheln und Schnecken hin und her und umwindet sie dabei mit fesselnden Schleimbändern. Dann bohrt sie mit Hilfe ihrer Radula ein Loch von 0,7 bis 2 mm Durchmesser in die Schale. Jeder Arbeitsgang des Rüssels umfaßt etwa 18 Raspelbewegungen. Dabei wird die Rüsselachse um 90° gedreht.

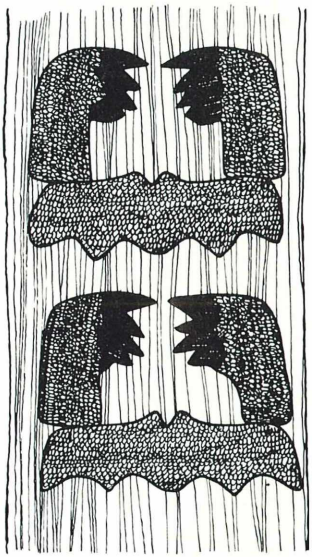
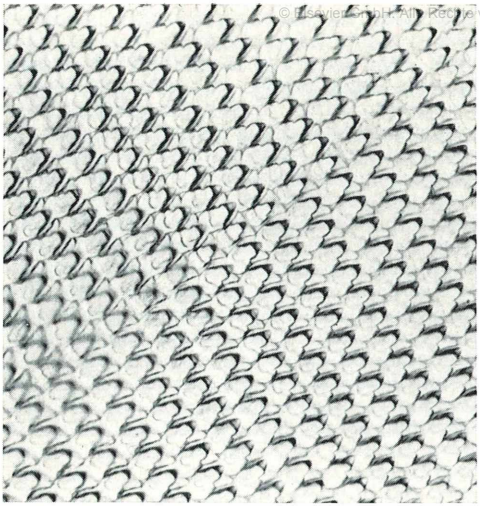


Bild 4: Zwei Balken-Leisten auf der Starrzahn-Radula von *Patella vulgata*

Durch das in rund sechs Stunden gebohrte Loch wird eine 15 mm lange Muschel innerhalb von zweieinhalb Tagen mittels der Spreizzahnradula ausgefressen.

Die Radula der Fächerzüngler (Rhipidiglossa) besitzt einen Mittelzahn, wenige Seitenzähne, jedoch zahlreiche bürstenartige Randzähne, die vorzüglich dazu geeignet sind, den Algenbelag von Felsen abzuweiden. Zu diesen Typ gehört die Radula des Seeohrs *Haliotis.*

Die zu den Balkenzünglern (Docoglossa) gehörende Napfschnecke *Patella vulgata* be-



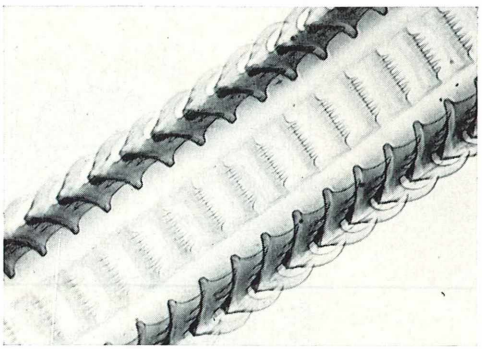


Bild 5: Radula der Gartenschnirkelschnecke *Cepaea hortensis*. 120 : 1

Bild 6: Radula von *Buccinium undatum*. 70 : 1

sitzt eine Starrzahn-Radula, deren Zähne als balkenartige Leisten mit dunkel pigmentierten Schneiden ausgebildet sind (Bild 4).

Die Lungenschnecken (Pulmonaten), wie z. B. die Weinbergschnecke *Helix pomatia*, haben eine breite, blattförmige Radula mit vielen gleichartigen kleinen Zähnen (Bild 5).

Daß alle rüsseltragenden Schnecken Räuber sind, wußte schon Aristoteles (384—322 v. Chr.), wie aus seiner Tierkunde, dem bedeutendsten Werk der Zoologie des Altertums, hervorgeht. Aber erst nach mehr als 2000 Jahren hat Cuvier die erste wissenschaftliche Untersuchung publiziert; das war in Paris 1817. Er studierte den Rüssel der Wellhornschnecke *Buccinium undatum*. Die Radula dieser Rüssler ist eine Reißzahnzunge (Stenoglossa) mit je zwei dolchartigen, mehrzackigen Seitenzähnen und einem breiten, mit 5—7 kleinen Zähnen versehenen Mittelzahn. Die Radula faltet sich beim Rücklauf in einer Rinne zwischen den Zungenknorpeln zusammen (Bild 6).

Ebenfalls zu den Stenoglossa (Reißzahn-Typ) gehört wie *Buccinium* die kleine, bis 4 cm lange *Nucella lapillus*. Diese Art bohrt Miesmuscheln und Seepocken an (Bilder 7 a u. 7 b).

Zu einer Hohlnadel gleich einer Injektionskanüle sind die Radulazähne bei den Pfeilzungenschnecken (Toxoglossa) umgewandelt (Bild 8). Ein typischer Vertreter dieser Arten ist die Kegelschnecke *Conus*. *Conus*-Arten injizieren Gift und werden auch dem Menschen gefährlich. Diese Schnecken leben in den südostasiatischen Meeren.

Die räuberische Fadenschnecke *Aeolidia papillosa* reißt mit ihrer Radula tiefe Löcher in die Leibeswand von Actinien. Die mit dem Fleisch aufgenommenen Nesselkapseln werden in den Rückenfortsätzen als Schutz deponiert (die Mitteldarmdrüse ragt mit Divertikeln in die Fortsätze hinein). Ihre Radula zeigt wenige Randzähne, dafür starke Mittelzähne (Bilder 9 a, 9 b).

Die ebenfalls räuberische Sternschnecke *Archidoris tuberculata* hat eine sogenannte Federzunge. Die dünnen hakenförmigen Zähne sind willkürlich in jeder Richtung beweglich (Bild 10).

Eine urtümliche Schnecke ist die Pantoffelschnecke *Crepidula formicata*, die im adulten Zustand eine sessile Lebensweise führt (Bild 11). Sie ist ein Planktonstrudler mit einer Spreizzahn-Radula. Diese Schnekke hat einen hochentwickelten Apparat zur Nahrungsgewinnung und -aufnahme ausgebildet.

Die an der Kiemenbasis liegende Drüsenleiste sondert einen breiten, mit sehr fei-

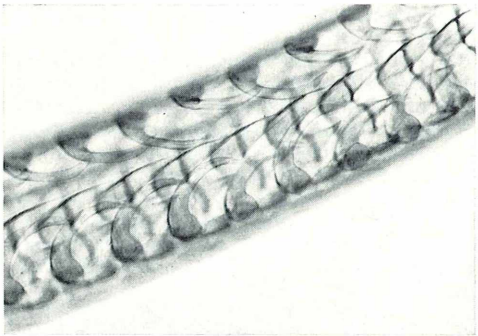


Bild 7 a: Radula von *Nucella lapillus*. 180 : 1



Bild 7 b: Glied der Reißzahn-Radula von *Nucella lapillus*.



Bild 8: Pfeilzunge einer Kegelschnecke.

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

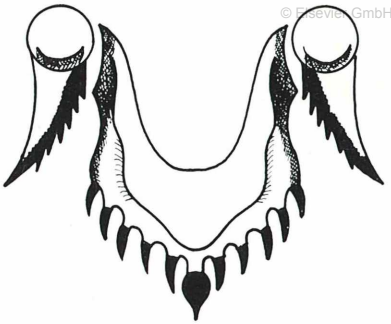


Bild 9 a: Radulaglied der räuberischen Fadenschnecke *Aeolidia papillosa*

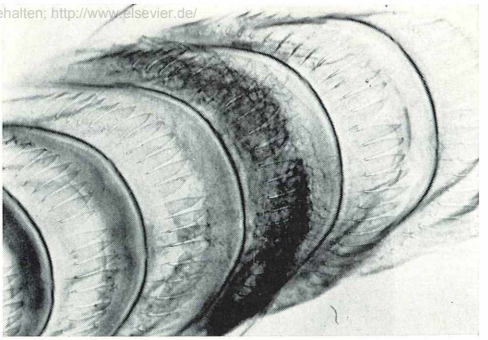


Bild 9 b: Radula von *Aeolidia papillosa*. 70 : 1

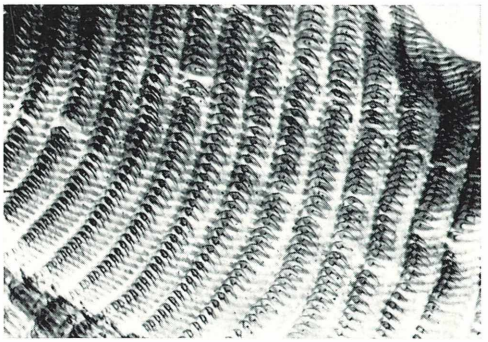


Bild 10: Radula von *Archedoris tuberculata*. 70 : 1

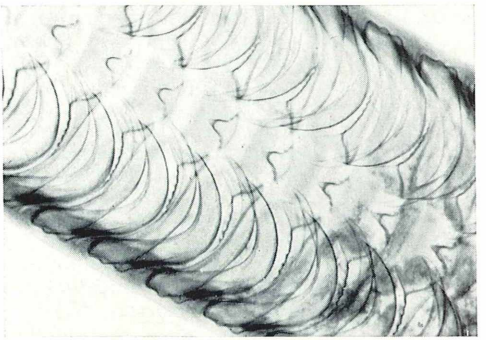


Bild 11: Radula der Pantoffelschnecke *Crepidula formicata*. 120 : 1

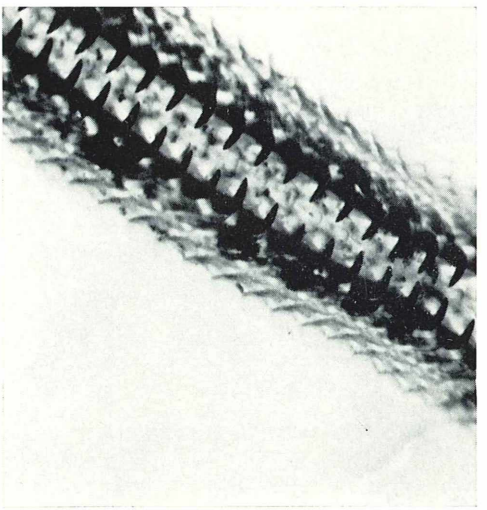
nen Poren versehenen endlosen Schleimteppich ab, der von den Wimpern der langen Kiemenfäden erfaßt und über die ganze Ventralseite der Kieme hinweggeführt wird zum Längswulst, in dessen Futterrinne er sich wie ein richtiger Teppich einrollt, um als Planktonwurst zum Munde befördert zu werden.

Gleichzeitig aber wird ein zweiter endloser Schleimteppich mit Maschen von 0,04 bis 0,09 mm Breite vor der links gelegenen, breiten Einströmungsspalte der Mantelhöhle ausgespannt und kopfwärts bewegt, um in eine Futtertasche eingerollt zu werden, die der Spreizzahnradula erreichbar ist. So sind also hier zwei der Ernährung dienende Filter vorhanden, ein gröberes vor der Einstromöffnung der Mantelhöhle zwischen Mantelrand und Körperwand sowie ein feineres über den Spalten der Ventralfläche der Kieme.

Sehr altertümliche Schnecken mit noch segmentierten Schalen sind die Polyplacophora, die Käferschnecken. Zu ihnen gehört *Lepidopleurus asselus*. Sie leben auf Hartböden der Gezeitenzone und weiden hier Algen ab. Ihre Radula ist im wesentlichen eine Hakenplatte mit dreizackigen Zähnen (Bild 12).

Verfasser: Siegfried Hoc, Jürgen Fricke, Elvirastr. 8, 8000 München 19.

Bild 12: Radula von *Lepidopleurus asselus*. 70 : 1



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

Wolfgang Dawid

Fruchtkörperbildende Myxobakterien

V. Die Polyangium-Arten: P. cellulosum, P. fumosum, P. sorediatum, P. vitellinum

Eine weitverbreitete Gruppe fruktifizierender Myxobakterien sind die *Polyangium*-Arten. Sie bilden auf dem Substrat, auf dem sie vorkommen, Fruchtkörper in Form kleiner Gruppen oder Häufchen aus rundlichen Sporangien (Cysten), die meist von einer gemeinsamen Schleimhülle zusammengehalten werden. Diese Häufchen oder Sori führten zu der älteren Bezeichnung der Gattung *Sorangium*, die Jahn 1924 aufgestellt hat.

Die Familie der Polyangiaceae ist von McCurdy 1974 neu definiert worden. In ihr sind alle Myxobakterien-Arten zusammengefaßt, die zylindrische Zellen und weitere gemeinsame Merkmale besitzen (Ätzung des Agars, keine Adsorption von Kongorot durch den Schwarm u. a.). Diese neue Familie hat 3 Gattungen:

1. Gattung: *Polyangium*
   — ungestielte Sporangien, stäbchenförmige Zellen;
2. Gattung: *Nannocystis*
   — ungestielte Sporangien, rundliche Zellen;
3. Gattung: *Chondromyces*
   — gestielte, bäumchenartige Sporangien.

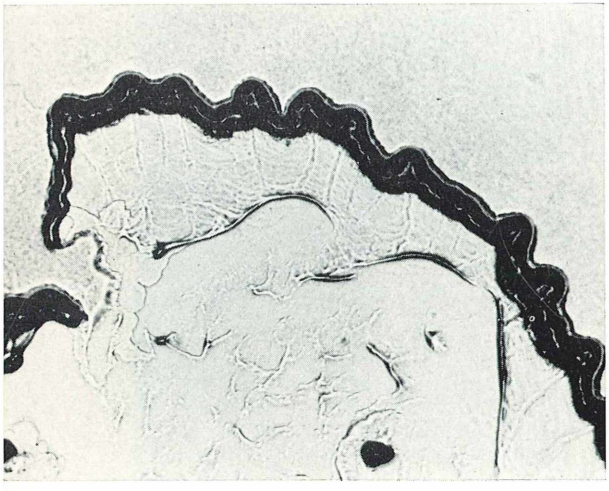


Bild 1: *Polyangium cellulosum.* Schwarm mit Randwall auf Coli-Wasseragar. 3 Tage nach Überimpfung. Farbe: blaßrot. 15×.

Die Arten der ehemaligen Gattung *Sorangium* (Jahn 1924) sind nun, sofern sie zylindrische Schwarmstäbchen besitzen, in der Gattung *Polyangium* untergebracht. Andere Arten mit zugespitzten Zellen, früher als *Polyangium* bezeichnet wie *Polyangium fuscum, P. ferrugineus* und *P. minus* gehören nun zu der Gattung *Cystobacter* (Dawid 1976 c), da diese sich in weiteren Merkmalen von der neu definierten Gattung *Polyangium* (McCurdy 1970, 1974) unterscheiden.

In diesem Beitrag werden vier *Polyangium*-Arten vorgestellt und beschrieben, die im Untersuchungsgebiet Siebengebirge bei Bonn gefunden wurden. Diese Myxobakterien wurden aus Bodenproben verschiedener Biotope (Laubwaldböden, Bachufer, Felsauflagen) wie von faulenden Holzstükken und von Wildmistproben isoliert und gezüchtet.

Anreicherung der Polyangium-Arten

Zur Anreicherung dieser Myxobakterien wurden folgende Methoden angewandt:

1. Köder-Methode

Auf Bodenproben in Petrischalen, die mit mehreren Lagen von feuchtem Filterpapier ausgelegt wurden, kamen je Schale 10 bis 15 sterile (autoklavierte) Brocken von Kaninchenmist. Sie wurden leicht angedrückt, die Kulturen gut feucht gehalten. Die Bebrütung erfolgte bei 30° C im Brutschrank, 6 Wochen lang (Dawid 1976 a).

Die Kontrolle wurde nach 14 Tagen unter der stereoskopischen Lupe (25—50fach) vorgenommen, danach im Abstand von 5 Tagen.

Die *Polyangium*-Arten erkennt man an den kleinen Sporangienhäufchen (etwa 0,5 bis 1 mm groß) die auf der Oberfläche der Mist-

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

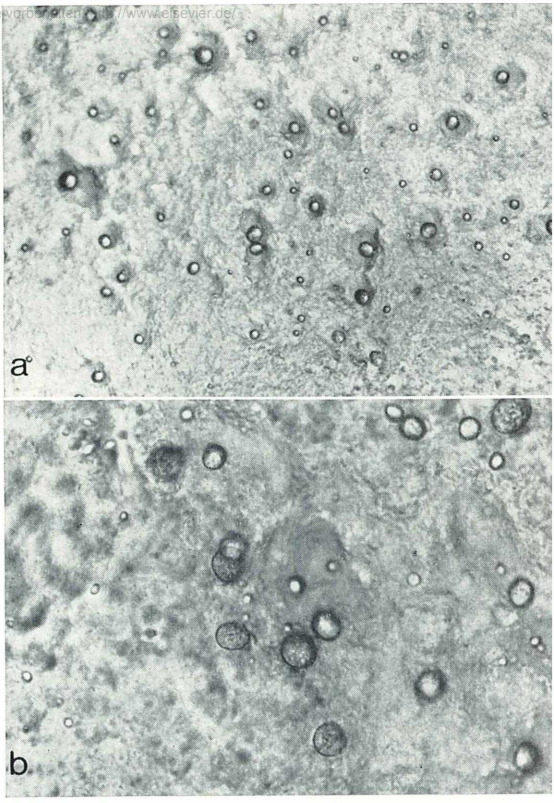
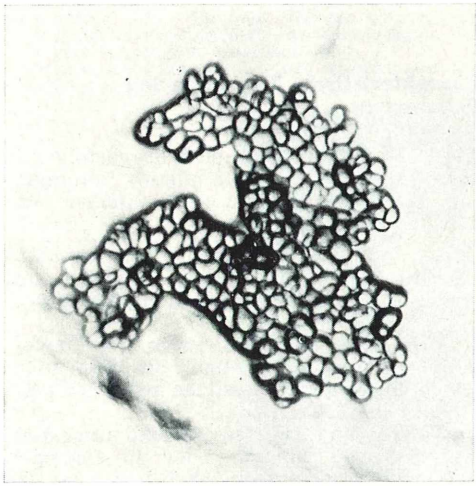


Bild 2: *Polyangium cellulosum.* Bildung von Fruchtkörpern auf Coli-Wasseragar.
a Rundliche Schleimaggregate werden gebildet, die durch Zersetzung des Agars in kleine Mulden einsinken. 20 Tage alt. 50×.
b Die Fruchtkörperchen werden größer und zeigen eine Strukturierung im Inneren. 28 Tage alt. 100×.

brocken auftauchen. Diese Fruchtkörperchen sind weißlichgrau bis leicht rosa gefärbt. Enthält eine Bodenprobe *Polyangium*, so treten die Fruchtkörperchen mit Sicherheit nach 3—4 Wochen auf, vorausgesetzt, die Anreicherungskultur trocknet nicht aus. Daher sollte nach jeder Kontrolle der Boden mit Wasser (Spritzflasche) angefeuchtet werden.

2. *Coli-Fleck-Methode*

Auf Wasseragar-Platten werden als Futterorganismen einige Tropfen einer Suspension von *E. coli* (oder Bäckerhefe) gebracht. Die trockenen, matten Flecken beimpft man mit einigen Bodenkrümeln (Dawid 1976 a), bebrütet und kontrolliert.
Die *Polyangium*-Arten erscheinen auf den Anreicherungsplatten, im Gegensatz zu anderen Myxobakterien (*Myxococcus, Archangium, Cystobacter* u. a.) relativ spät. Nach eigenen Beobachtungen treten die Schwärme erst nach 14—21 Tagen, die Fruchtkörper etwa 10 Tage später auf. In den Kulturen ist dann die Pilzflora „abgeblüht", die Fruchtkörperchen der anderen Myxobakterien zerfallen oder werden durch Begleitorganismen (Nematoden, Milben, Urinsekten) zerstört.
Polyangium erkennt man (1) an den leicht rosafarbenen Schwärmen (Kolonien) mit deutlich wulstigem Randwall (vgl. Bilder 1 und 17). Dieser ist meistens in nur kleinen Abschnitten voll ausgebildet. Auf der Agarfläche werden (2) Furchen und Rinnen, kleine Mulden durch Aktivität des Schwarmes gemacht (Bilder 2, 9 b, 18), in denen nach etwa 3—4 Wochen (3) die sorus-artigen Fruchtkörperchen (Bilder 2, 9 c) zu entdecken sind. Hierfür ist es notwendig, derartige Regionen und Strukturen unter dem Mikroskop (100×) zu studieren.



3. *Feuchte Kammer*

In Petrischalen, mit mehreren Lagen feuchter Rundfilter ausgelegt, werden faulende, verrottete Holzstücke und Rindenproben gelegt und bebrütet. Die Durchmusterung nach *Polyangium*-Arten zeigt nach 14 bis 21 Tagen die ersten positiven Ergebnisse.
Polyangium bildet auf der Oberfläche des Holzes und der Rinde kleine weißliche Sporangien-Häufchen, wie sie auf den Mistködern (Methode 1) zu finden sind. Auf diesen Substraten wurde in den eigenen Untersuchungen *Polyangium* relativ selten entdeckt.

Bild 3: *Polyangium cellulosum.* Der sorusartige Fruchtkörper besteht aus vielen rundlich-ovalen, teilweise polygonalen Sporangien (Cysten). Coli-Wasseragar. 4 Wochen alt. 250×.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://

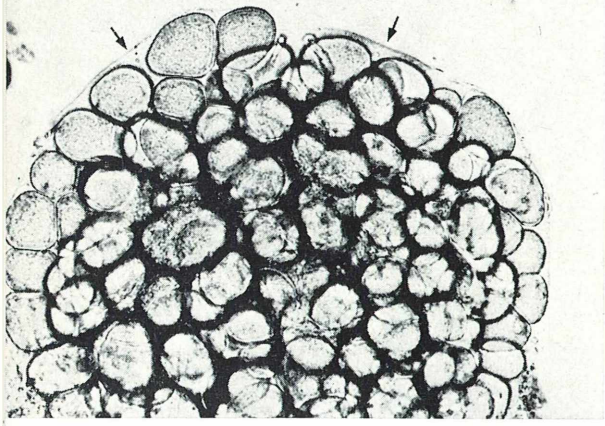


Bild 4: *Polyangium cellulosum.* Der Fruchtkörper ist von einer gemeinsamen Schleimhülle (Pfeile) umgeben. Er setzt sich aus über hundert umwandeten Sporangien zusammen. 400×.

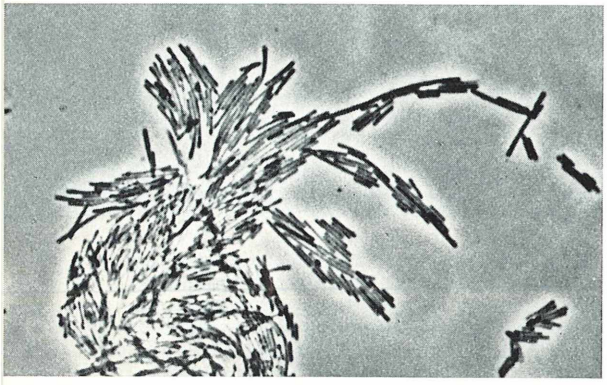
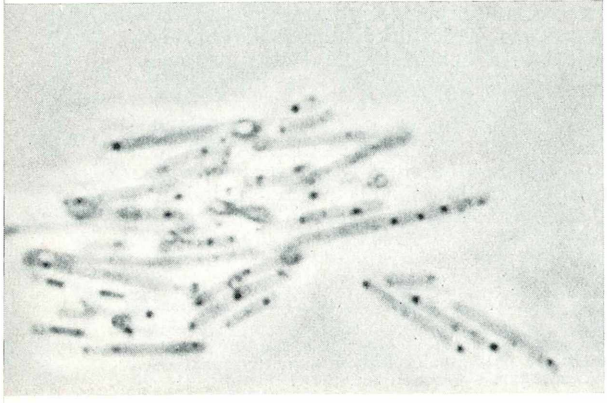


Bild 5: *Polyangium cellulosum.* Die vegetativen Schwarmzellen sind Stäbchen von zylindrischer Gestalt mit stumpfen abgerundeten Enden. 400×.

Bild 6. *Polyangium cellulosum.* Lebende Schwarmzellen mit Kernen (Nucleoiden). Phasenkontrast, Ölimmersion 1000×.



Isolierung und Kultur

Die Isolierung gelingt relativ rasch und ohne besondere Störung durch Begleitorganismen, wenn Schwarm-Material aus den Anreicherungskulturen (Methode 2) mit der Nadel auf frische Coli- bzw. Hefe-Fleck-Platten übertragen wird. Nach 2—3 Tagen wird von der vordersten Front des sich entwickelnden Schwarmes eine Partie mit der Nadel oder einem kleinen Skalpell ausgestochen und auf neue Coli-Fleck-Platten gebracht. Auf diesem Wege erhält man nach einigen Überimpfungen recht saubere *Polyangium*-Stämme.

Mit ausgebildeten Fruchtkörpern bereitet die Isolierung insofern Schwierigkeiten, als anhaftende Sporen von Pilzen und Cysten von Erdamöben auf das frische Nährmedium mit übertragen werden und früher zur Entwicklung kommen als *Polyangium* selbst. Daher wurden die Fruchtkörperchen mit der Nadel mehrfach durch den Agar frischer Platten gedrückt und gezogen, um die Sporen, Mycelien und Cysten abzustreifen. Nach 3—5 derartigen Passagen, die Sori zerbrechen unter Umständen dabei und geben keimfreie Sporangien frei, wurde auf Coli-Fleck-Agar übertragen. Nach 5—10 Tagen keimten die Myxosporen aus und entwickelten saubere Schwärme.

Für die Kultur der isolierten Polyangium-Stämme wurden bevorzugt Coli-Fleck-Platten und Hefe-Fleck-Platten, für die cellulosezersetzenden Arten Platten mit Mineralsalz-Agar und Filterpapier (Dawid 1975) als Cellulosequelle benutzt. Die Bebrütung der Kulturen erfolgte bei 30° C im Brutschrank.

Da das Schwarmwachstum relativ langsam ist und die Fruchtkörperbildung meist erst nach 20 Tagen einsetzt, müssen die Kulturen wöchentlich auf mögliche Pilzinfektionen kontrolliert und notfalls erneut überimpft werden.

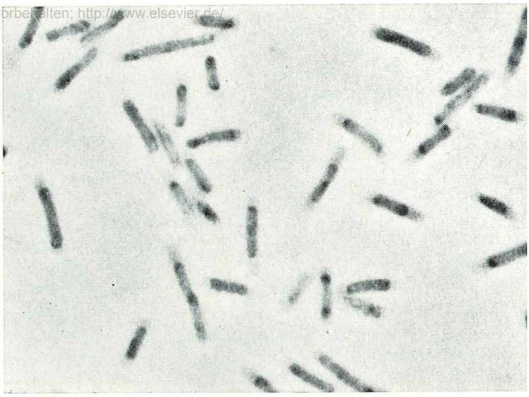
Charakteristische Merkmale von Polyangium

Die *Polyangium*-Arten sind durch folgende gemeinsame Merkmale eindeutig von anderen Myxobakterien zu unterscheiden und dadurch zu erkennen:

1. Die vegetativen Zellen (Schwarmstäbchen) sind zylindrische Stäbchen mit stumpf abgerundeten Enden (Bilder 5, 6, 15, 16).
2. Die Myxosporen ähneln in der Gestalt den vegetativen Zellen. Sie sind nicht lichtbrechend und besitzen keine Schleimkapsel (Bilder 7, 10).
3. Die Sporangien (Cysten) sind ungestielt und liegen einzeln oder in Gruppen (Sori) zusammen, umgeben von einer ge-

© Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Bild 7: *Polyangium cellulosum*. Lebende Myxosporen mit zentral und polar gelegenen Kernen (Nucleoiden). Phasenkontrast. Ölimmersion, 1000×.



meinsamen Schleimhülle (Bilder 4, 13, 20).

4. Die Kolonien (Schwärme) ätzen und zerfressen den Agar und dringen in ihn ein. Dadurch entstehen Furchen, Rinnen und Tunnels im Agar (Bilder 1, 2, 9 c, 17). Die Schwärme bilden einen Randwall (Bilder 1 und 17).
5. Kongorot wird von dem vegetativen Schleim der Schwärme nicht adsorbiert.

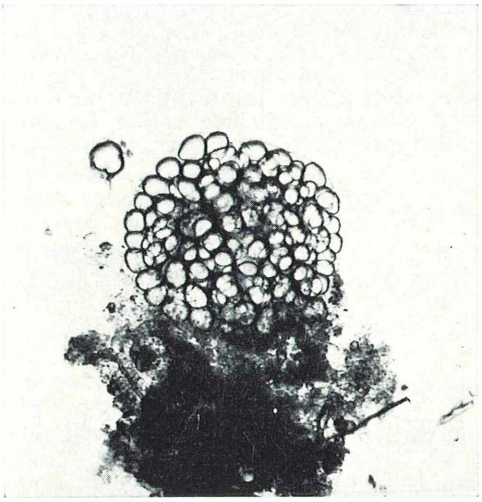


Bild 8: *Polyangium fumosum*. Fruchtkörper von einem Kaninchenmistbrocken unter dem Deckglas. Substratpartikel werden durch den Hüllschleim zusammengehalten. 100×.

Bild 9: *Polyangium fumosum*.
a Fruchtkörper auf Coli-Wasseragar. Farbe: bräunlich-grau. 50×.
b Furchen und Tunnels werden durch die Schwärme im Agar „geätzt", an deren Enden die Sori von Sporangien entstehen. 50×.
c Fruchtkörper am Ende eines Tunnels im Inneren des Agars. 250×.

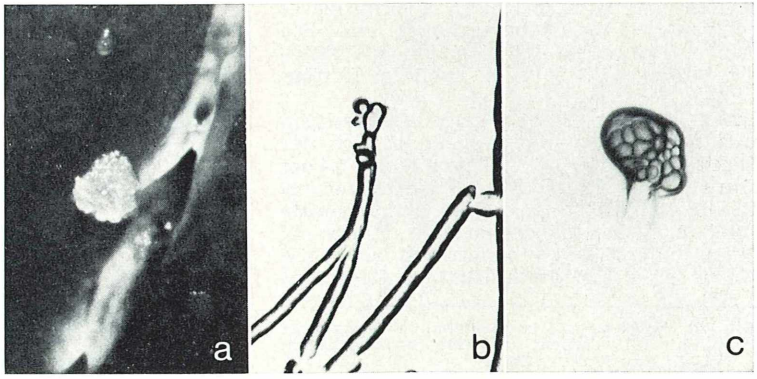
Polyangium cellulosum
Imschenezki u. Solntzewa 1936

Synonyme:
Sorangium cellulosum Imschenezki und Solntzewa 1936; *Sorangium nigrum* Krzemieniewska u. Krzemieniewski 1937; *Sorangium nigrescens* Krzemieniewska und Krzemieniewski 1937.

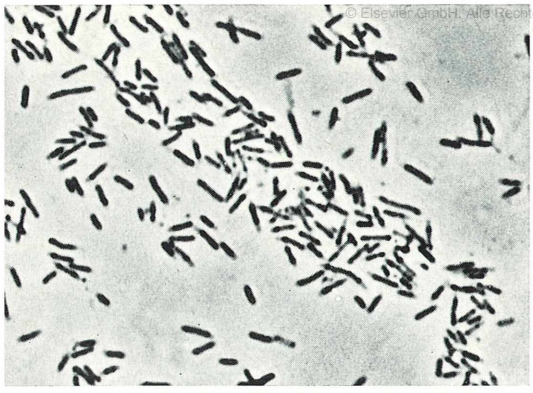
Dieses Myxobakterium wurde 1936 von den russischen Forschern Imschenezki und Solntzewa bei der Untersuchung des Celluloseabbaus in Böden Rußlands gefunden und von Pronina 1952 eingehend untersucht. *P. cellulosum* ist ein starker Cellulosezersetzer.

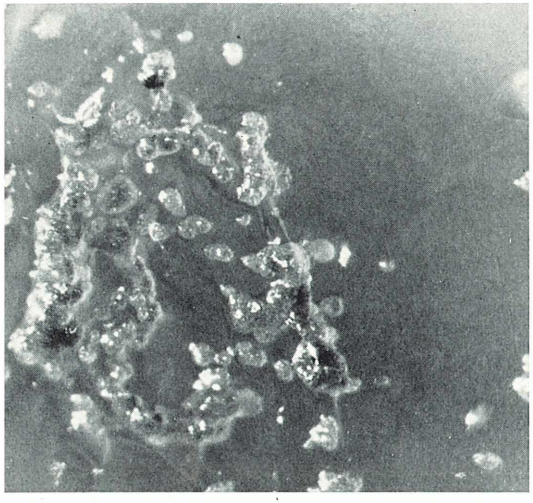
Verbreitung

P. cellulosum wurde von den beiden Entdeckern aus Erde, Torf, Wasser, Schlamm und Papiermasse von Papierfabriken isoliert. In polnischen Böden fanden es Krzemieniewska u. Krzemieniewski, auf der Rinde lebender Bäume entdeckte es Peterson 1957 in Missouri (USA) und Griechenland. In den eigenen Untersuchungen trat *P. cellulosum* relativ häufig in Erdproben von Bachufern, aber auch in der Feinerdeauflage von Felsen auf.



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





Vegetative Stäbchen

Die vegetativen Zellen sind Stäbchen von zylindrischer Gestalt mit abgerundeten Enden (Bild 5). Der Durchmesser beträgt 0,8 bis 1,2 µm, die Länge 3,0—10,0 µm. Die Vermehrung erfolgt durch Einschnürung, so daß die Tochterzellen nach der Teilung zunächst an einem Ende spitz, am anderen rund sind. An dem Deckglas angeheftet führen die Zellen im Frischpräparat schwingende Pendelbewegungen aus. Die schwer färbbaren Zellen geben mit Fuchsin-Lösung (1%ig) eine kräftige Rotfärbung.

Im Zellplasma, das schwach lichtbrechend und mattgrau erscheint, befindet sich der Bakterienkern (Nucleoid) von etwa 0,4 µm Durchmesser. Dieser Kern teilt sich vor der Zellteilung selbst, so daß in der Zellmitte zwei eng beieinanderliegende Kerne in Form einer „8" zu beobachten sind. Die Kerne sind mit Methylenblau, Gentiana-

Bild 10: *Polyangium fumosum.* Vegetative Schwarmstäbchen und beginnende Bildung von Myxosporen. Phasenkontrast 400×.

Bild 11: *Polyangium sorediatum.* Ansammlung von Fruchtkörpern auf Coli-Wasseragar. Farbe: orangerot. 4 Wochen alte Kultur. 70×.

violett und Eisenhämatoxylin nach Heidenhain anfärbbar, ohne Färbung im Phasenkontrastmikroskop zu erkennen (Bild 6).

Sporangien

Die Sporangien sind rundlich, etwa 20 bis 30 µm im Durchmesser, und erscheinen polygonal durch Zusammendrücken in Massenansammlungen (Bilder 3 und 4). Viele hundert Sporangien können in einem sorusartigen Fruchtkörper zusammenliegen; gewöhnlich sind es 30—70. Eine gemeinsame Schleimhülle umschließt sie. Bei manchen Stämmen scheinen solche Schleimhüllen sehr dünn zu sein oder gar zu fehlen.

Myxosporen

In den Sporangien dicht gepackt liegen die Myxosporen, die in der Form den vegetativen Stäbchen sehr ähnlich sind. Sie sind etwa 0,5 µm breit und 1,0—3,0 µm lang.

Fruchtkörper

Sie variieren in der Form und Größe sehr stark. Teilweise treten sie als flache Lager auf, gelegentlich findet man sie in Form kleiner Polster (Bilder 2 b, 3). Der Durchmesser liegt bei 400—500 µm. Die Farbe ist orangerot bis rotbraun. Manche Stämme bilden blaßgelbe, rötliche, braune, graue und sogar schwarze Pigmente, die zu den oben genannten Synonymen für dieselbe Art führten.

Wachstum

Auf Coli-Agarplatten entwickeln sich die Kolonien langsam, und die Fruchtkörper werden nach 3 bis 4 Wochen gebildet (An-

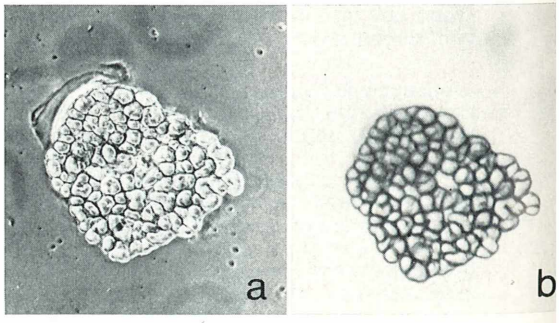


Bild 12: *Polyangium sorediatum.* Fruchtkörper (Sori) im (a) Auflicht und im (b) Durchlicht. 4 Wochen alte Kultur. 250×.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

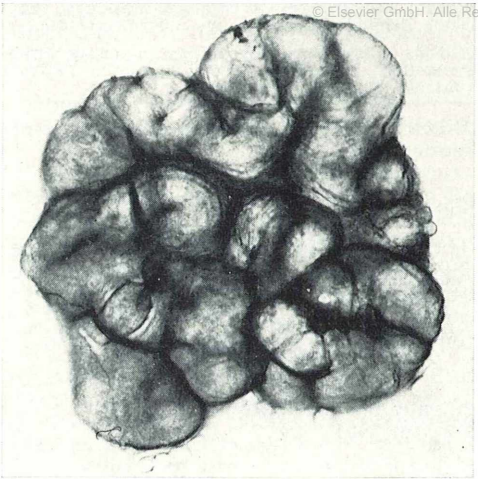


Bild 13: *Polyangium sorediatum.* Fruchtkörper unter dem Deckglas. Die umwandeten polygonalen Sporangien sind von Hüllschleim umgeben. 400×.

gaben bei Methode 2). Überimpft man ein Agarblöckchen mit *P. cellulosum* auf Filterpapier in Mineralagar-Platte (Dawid 1975), so treten nach wenigen Tagen hellgelbe Zerstörungszonen auf. Der Rand der fortschreitenden Kolonie ist gelblich-orange pigmentiert, das Zentrum wird bräunlich und von schleimiger Oberfläche.
P. cellulosum ist streng cellulolytisch und ist daher am Abbau der Cellulose (Filterpapier) unter der Kolonie zu erkennen. Auf Stärke-Agar werden Kolonien gebildet, die gelb-glänzend, faltig und von schleimiger Konsistenz sind. In 14 Tagen erreichen die Kolonien einen Durchmesser von rund 10 mm. Ältere Kolonien werden gelbbraun, rundlich und sind von einem ringförmigen Wulst umgeben, in dem besonders zahlreiche Sporangien zu finden sind. Die Stärke wird dabei hydrolysiert. Übergießt man derartige Stärke-Agarplatten mit einer Jodjodkali-Lösung, so erscheint die Hydrolyse-Zone als ungefärbter Ring um die Kolonie.
Das Wachstum in Nährlösungen (Dawid 1975) mit 0,5% Glucose oder Saccharose ist an einer gleichmäßigen Trübung zu erkennen. Auf der Flüssigkeitsoberfläche entsteht eine lockere, braune Schleimschicht, die bei leichter Erschütterung auf den Boden sinkt und rasch neugebildet wird.
Die Wachstumstemperatur liegt zwischen 20 und 37° C, das Optimum bei 28—32° C.
Mischustin (1938) hat vier Unterarten von *P. cellulosum,* die sich vor allem durch die Pigmentierung der Kolonien und der Sporangien unterscheidet, beschrieben:
P. cellulosum subsp. *ferrugineum*
P. cellulosae subsp. *fuscum*

Bild 14: *Polyangium sorediatum.* Ein alter Fruchtkörper in einer wasserarmen Agarkultur. Im Auflicht erkennt man archangiumartige, sich schlängelnde Wülste. 6 Wochen alte Coli-Wasseragar-Kultur. Farbe: grau. 250×, nachvergrößert.

P. cellulosae subsp. *flavum*
P. cellulosae subsp. *luteum.*

Polyangium fumosum
Krzemieniewska u. Krzemieniewski 1930

Verbreitung

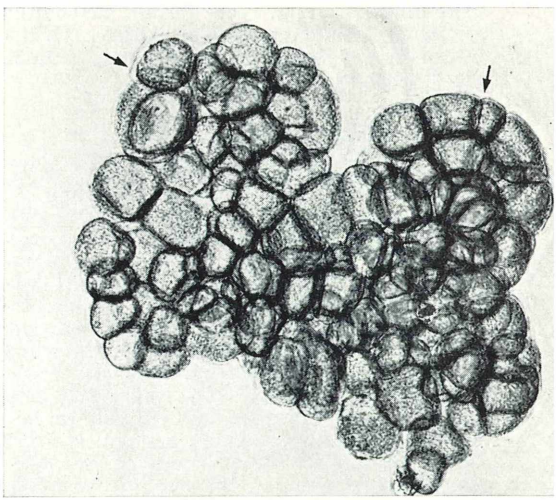
Die polnischen Forscher Krzemieniewska u. Krzemieniewski fanden dieses Myxobakterium erstmals auf Wildmist, der auf verschiedenen Böden in Polen ausgelegt wurde. McCurdy beobachtete *P. fumosum* 1969 in Böden Kanadas. In den eigenen Untersuchungen wurde dieser Mikroorganismus auf Coli-Platten entdeckt, die mit Laubwaldböden beimpft worden waren (Bild 9 a). Ein einziges Mal konnten Fruchtkörper auf Kaninchenmist beobachtet werden (Bild 8).

Zellen

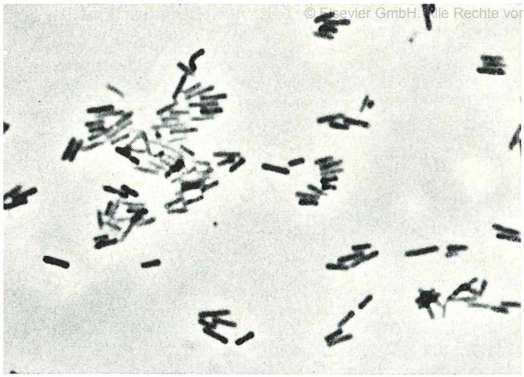
Die vegetativen Stäbchen sind 0,7—1,0 µm dick und 5,0—7,0 µm lang (Bild 10).
Die Myxosporen ähneln den Schwarmzellen. Sie sind kleiner als diese und messen in der Breite 0,8 µm, in der Länge 2,5 bis 5,0 µm. In den Zellen sind die Kerne deutlich erkennbar.

Fruchtkörper

Die flachen Sori sind rundlich (Bild 8) und zeigen auf dem Agar unregelmäßige Konturen. Sie bestehen teilweise aus sehr wenigen Sporangien und sind daher schwer



© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.



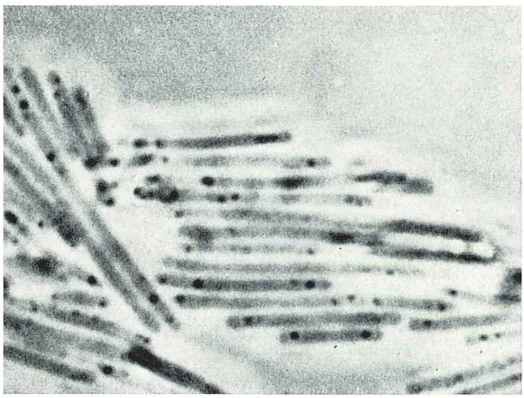


Bild 15: *Polyangium sorediatum*. Lebende vegetative Schwarmstäbchen. Phasenkontrast 400×.

Bild 16: *Polyangium sorediatum*. Lebende Stäbchenzellen mit Kernen (Nucleoiden). Phasenkontrast, Ölimmersion 1000×.

auffindbar (Bilder 9 b und 9 c). Gewöhnlich liegen etwa 50 Sporangien beieinander (Bild 9 a).
Die Farbe ist anfangs blaßrot. Sie entwikkelt sich später in ein bräunliches oder rauchgraues Pigment (Name: fumosum = rauchfarben), wodurch die Sporangien und Fruchtkörper auf dem Agar deutlich hervortreten. Die Sporangien besitzen eine gut erkennbare Wand. Die Größe schwankt zwischen 17—72 µm in der Länge, 13 bis 60 µm in der Breite; im Durchschnitt liegt sie bei 45×35 µm.

Kolonien

Auf den Agarkulturen entdeckt man *P. fumosum* leicht an den radiär auslaufenden Furchen und Rinnen, die von der ursprünglichen Kolonie bzw. ihrem Zentrum ausgehen. Die Schwärme sind sehr zart gefärbt, rosa bis hellrot. Auf Coli-Agarplatten teilen sich die wandernden Schleimmassen von 200—500 µm Größe nach 5 bis 7 Tagen. Dabei wandern sie in die Peripherie und zersetzen den Agar (Bild 9 b). Am Ende der Furchen und Tunnels im Inneren des Agars entstehen aus den kleinen Schwärmen die Fruchtkörperchen, die häufig nur aus wenigen Sporangien bestehen (Bild 9 c), und im Mikroskop allein zu erkennen sind.

Wachstum

In der Reinkultur wächst *P. fumosum* recht langsam. Bakterien wie *E. coli*, *Sarcina lutea*, aber auch Hefezellen auf Wasseragar werden lysiert. Auf Hefe-Ca^{++}-Agar gedeiht dieser Organismus ebenfalls gut.

Polyangium sorediatum
Thaxter 1904

Synonyme:
Sorangium sorediatum (Thaxter) Jahn 1924;
Polyangium compositum Thaxter 1904;
Sorangium compositum (Thaxter) Jahn 1924;
Polyangium schroeteri (Jahn) McCurdy 1970;
Sorangium schroeteri Jahn 1924;
Polyangium septatum Thaxter 1904;
Sorangium septatum (Thaxter) Jahn 1924.
Die zahlreichen Synonyme dieses Myxobakteriums lassen erkennen, daß die Entdecker verschiedene Varietäten und ein und dieselbe Art auf den unterschiedlichsten Substraten gefunden und beschrieben haben. Peterson hat 1974 diese, früher als selbständige Arten betrachteten *Polyangium*-Stämme, zu der einen Art *Polyangium sorediatum* zusammengefaßt (McCurdy 1974).

Verbreitung

Als erster entdeckte in Nord-Amerika (Cambridge, Mass.) 1904 Thaxter dieses Bakterium auf Pferdedung und auf Kaninchenmist (S.-Carolina). In polnischen Böden fanden Krzemieniewska u. Krzemieniewski 1928, auf Rinden in Missouri (USA) 1957 Peterson, auf Kaninchenmist bei Berlin und auf Hirschlosung aus dem Harz Jahn 1924, auf Damwildmist bei Berlin Quehl 1906 dieses Myxobakterium. McCurdy beobachtete *P. sorediatum* in den Böden Kanadas 1969. In den eigenen Untersuchungen wurde *P. sorediatum* in Laubwaldböden, in der Feinerde von Felsen und einmal auf Kaninchenmist gefunden.

Zellen

Die zylindrischen Stäbchenzellen des Schwarmes sind 0,8—1,2 µm breit und 3,0 bis 6,0 µm lang (Bilder 15 und 16). Die Kerne in den Zellen sind gut zu erkennen.

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

Die Myxosporen sind den vegetativen Stäbchenzellen sehr ähnlich, jedoch kleiner: 0,8 ×3—4 µm.

Fruchtkörper

Wegen ihrer Kleinheit werden die Fruchtkörperchen auf dem Agar wie auf dem Kaninchenmist sehr leicht übersehen (Name: sorediatum = kleine Häufchen bildend). Ihr Durchmesser beträgt maximal 0,5 mm! Die Färbung ist gelb-orange. Die Fruchtkörper sind flach oder polsterartig (Bild 11), zeigen gelegentlich gehirnartige Windungen (Bild 14). Jahn (1924) schreibt: „Durch die wulstige und bisweilen geschlängelte Form der Cysten „wird man" (Verf.) noch an *Archangium* erinnert." Diese Körperchen setzen sich aus hundert und mehr Sporangien zusammen, umgeben von einem farblosen Schleim. Jahn (1924) beschreibt sie treffend: „Man hat oft einen ähnlichen Eindruck, wie wenn Gelatine in dünner Schicht eintrocknet und in regelmäßige Felder zerspringt." Diese polygonale Felderung des Sorus entsteht durch eine nicht freie Bildung der Sporangien. Die Größe eines Sporangiums liegt zwischen 5 und 15 µm.
Im Gegensatz zu *P. cellulosum* ist *P. sorediatum* nicht cellulolytisch. Die Kultur auf Coli-Agar und auf sterilem Kaninchenmist, eingegossen in Wasseragar, bereitet keine Schwierigkeiten.

Polyangium vitellinum
Link 1809

Synonyme:
Myxobacter aureus Thaxter 1892;
Cystobacter aureus Thaxter 1897.

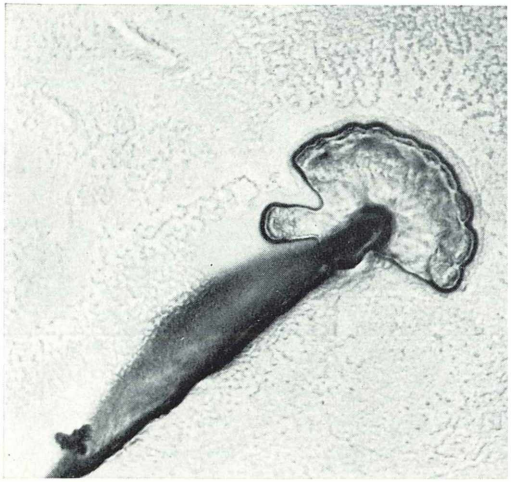
Polyangium vitellinum ist das erste fruchtkörperbildende Myxobakterium, das überhaupt entdeckt wurde. Der deutsche Biologe H. F. Link hat diesen Mikroorganismus bereits 1795 (n. Quehl 1906) auf feuchtem faulenden Holz in Deutschland gefunden und auf Grund der Fruchtkörper für einen Gastromyceten gehalten. Von Bonorden (1851) wurden die Fruchtkörper nicht für einen Pilz, sondern als Insekteneier erklärt, und erst 1889 erkannte J. Schröter die Bakteriennatur von *P. vitellinum*. Zur Erinnerung an Schröter hat Jahn 1924 *Polyangium sorediatum* den Namen *Sorangium schroeteri* gegeben.

Verbreitung

83 Jahre nach der Entdeckung durch Link fand Thaxter dieses Myxobakterium in Nord-Amerika (Maine, Mass.) auf feuchtem Holz und auf Rinde. Auf Mistproben bei Wien konnte Zukal 1897 *P. vitellinum* beobachten, auf nassem Holz bei Berlin beschreibt es Quehl 1906, und Jahn findet es 1924 in Deutschland auf altem Holz, auf Pappelrinde und auf Kaninchenmist. Peterson (1957) beobachtet dieses Bakterium auf Rinde in Missouri. Im Siebengebirge konnte es einige Male auf sich zersetzendem Holz beobachtet werden.

Zellen

Die Schwarmzellen sind zylindrisch mit abgerundeten Enden (Bild 21). Die Größe beträgt 0,9—1,1 µm im Durchmesser und 4 bis 10 µm in der Länge.



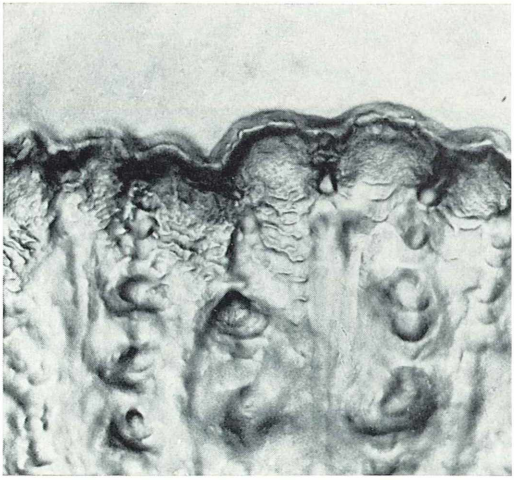


Bild 17: *Polyangium vitellinum*. Junger Schwarm mit Randwall auf Coli-Wasseragar. Farbe: Orangerot. Impfstich: von links unten zur Mitte. 5 Tage alte Kultur. 15×.

Bild 18: *Polyangium vitellinum*. Charakteristische Strukturen des Schwarmrandes bei stärkerer Vergrößerung. 100×.

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



Fruchtkörper

Auf Kaninchenmist sind die Fruchtkörper grau-gelblich bis goldgelb gefärbt (Name: vitellinum = wie Eigelb). Diese goldgelbe Pigmentierung wurde auf Coli-Platten ständig beobachtet.
Die Fruchtkörper bestehen aus 10—20 kugeligen Sporangien, die gelb gefärbt sind und von einem weißen Hüllschleim umgeben sind (Bild 20). Im Jugendstadium erinnern sie in der Form an eine halbe Maulbeere. Die Größe beträgt etwa 1 mm.
Die Sporangien sind 75—200 µm groß und besitzen eine etwa 2 µm dicke Wand. Im Inneren der Sporangien wird gelegentlich ein gelb gefärbtes öliges Material in Tröpfchenform beobachtet. Durch ständige Kultur auf Coli-Agar und auf sterilen Kaninchenmistbrocken haben inzwischen alle isolierten Stämme die Fähigkeit verloren, die typischen kugeligen Sporangien auszubilden. Statt dessen entstehen irreguläre goldgelbe Massen mit Myxosporen, die oft mehrere Millimeter (5—10 mm) groß werden (Bild 19 d).

Myxosporen

In jungen Sporangien sind die Myxosporen von den vegetativen Stäbchenzellen kaum zu unterscheiden. Im älteren dagegen hängen sie in Bündeln zusammen, wobei sie stark geschrumpft und zusammengedrückt erscheinen. Ihre Größe beträgt 0,9×3 bis 5 µm.

Schwarm

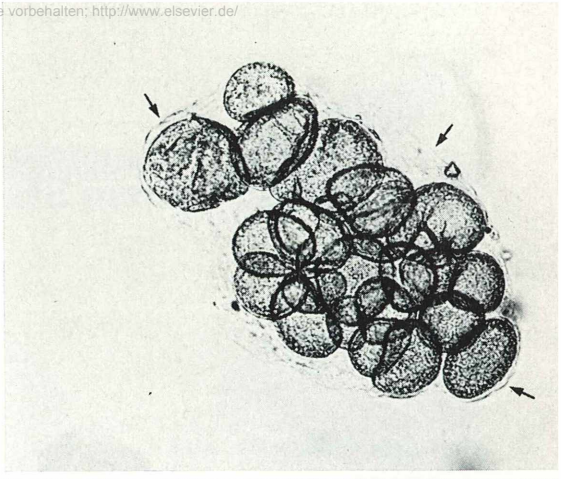
Der Vegetationskörper ist weißlich-hellrosa gefärbt und zunächst von cremeartiger Beschaffenheit. Auf Coli-Agar wird ein hyaliner gelblicher Schleim gebildet, aus dessen Akkumulaten die (irregulären) Fruchtkörper hervorgehen (Bilder 19 a—d). Junge Schwärme ätzen den Coli-Agar und bilden einen kräftigen Randwall (Bild 17), der eine charakteristische Struktur aufweist (Bild 18). *P. vitellinum* wächst auf Coli- und Hefeagar, am besten auf Kaninchenmist und auf dem Substrat, auf dem es gefunden wurde.
Von *Polyangium* sind 10 sichere Arten bekannt und beschrieben (McCurdy 1974). Die Einordnung von drei weiteren Arten ist

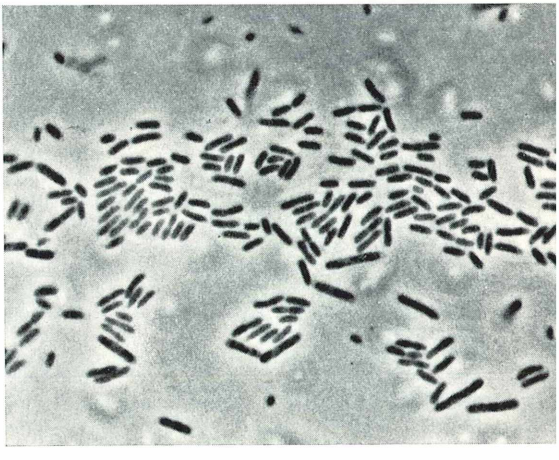
Bild 19: *Polyangium vitellinum*. Vom Schwarm zum Fruchtkörper. Coli-Wasseragar.
a Schleimstrukturen des Schwarmes mit Resten des Randwalles (rechts oben). 10 Tage alt. 100×.
b Verästelnde Stränge und Bildung von Schleim-Akkumulaten. 15 Tage alt. 100×.
c Bildung von Fruchtkörpern. Farbe: gelb. 20 Tage alt. 100×.
d Fruchtkörper auf der Agaroberfläche. Farbe: goldgelb. 28 Tage alt. 100×.

Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Bild 20: *Polyangium vitellinum.* Fruchtkörper mit zahlreichen Sporangien, umgeben von Hüllschleim. Farbe: goldgelb. Hellfeld 250×.

Bild 21: *Polyangium vitellinum.* Lebende vegetative Schwarmstäbchen und verkürzte Myxosporen. Phasenkontrast, Ölimmersion 1000×.





nicht sicher, da es sich bei ihnen möglicherweise um Varianten der erstgenannten Arten handelt.

Literaturhinweise:

1. *Dawid, W.:* Sporocytophaga myxococcoides. Anreicherung, Kultur und Untersuchung eines celluloseabbauenden Myxobakteriums. — Mikrokosmos **64,** 293—299, 1975.
2. *Dawid, W.:* Fruchtkörperbildende Myxobakterien. I. Die Myxococcus-Arten: M. fulvus, M. virescens, M. xanthus, M. stipitatus. — Mikrokosmos **65,** 72—79, 1976 a.
3. *Dawid, W.:* Fruchtkörperbildende Myxobakterien. II. Die Archangium-Arten: A. gephyra, A. primigenium, A. serpens, A. flavum. — Mikrokosmos **65,** 225—233, 1976 b.
4. *Dawid, W.:* Fruchtkörperbildende Myxobakterien. III. Die Cystobacter-Arten: C. fuscus, C. ferrugineus. — Mikrokosmos **65,** 292—297, 1976 c.
5. *Dawid, W.:* Fruchtkörperbildende Myxobakterien. IV. Die Melittangium-Arten: M. lichenicola, M. boletus, M. alboraceum. — Mikrokosmos **66,** 73—77, 1977.
6. *Imschenezki, A. A.:* Mikrobiologie der Cellulose. — Akademie-Verlag, Berlin (1959).
7. *Jahn, E.:* Beiträge zur botanischen Protistologie. I. Die Polyangiden. — Ger. Borntraeger, Leipzig (1924).
8. *Lampky, J. R.:* Ultrastructure of Polyangium cellulosum. — J. Bacteriol. **126,** 1278—1284, 1976.
9. *McCurdy, H. D.:* Studies on the taxonomy of the myxobacterales. II. Polyangium and the demise of the Sorangiaceae. — Int. J. Syst. Bacteriol. **20,** 283—296, 1970.
10. *McCurdy, H. D.:* The Fruiting Myxobacteria. In. BERGEYs Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed., 92—96, Baltimore 1974.
11. *Peterson, J. E.:* The bark of living trees as a substrate for representatives of the order Myxobacteriales. — University Microfilms Ann Arbor-London (1957).
12. *Quehl, A.:* Untersuchungen über die Myxobakterien. — Zbl. Bakt. II. Abt. 16, 9—34, 1906.

Verfasser: Dr. Wolfgang Dawid, Studiendirektor, Erzbischöfliches Gymnasium, Elsa-Brandström-Str. 71—91, D-5300 Bonn-Beuel 1.

Muskelfärbung für quantitative Untersuchungen und automatisierte Morphometrie

Wenn es darum geht, auf Schnitten durch Muskelgewebe nur die Muskelfasern besonders kontrastreich darzustellen ohne störende Mitfärbung von Sarcolemma- und Bindegewebezellkernen, Erythrocyten, Bindegewebefasern, Blutgefäßen, Nerven und ähnlichem, so empfiehlt sich folgendes Verfahren: Fixiert wird in 10-%igem Formol in physiologischer Kochsalzlösung; Einbettung in Paraffin, Schnittdicke 6 bis 7 µm, nicht dicker, da sonst das Kollagen die rote Farbe von der Färbelösung zurückhält. Auch ist es wichtig, daß das Muskelgewebe durch zeitweiliges Liegenlassen vor der Fixierung erschlafft ist, da sonst interstitielles Bindegewebe die rote Farbe zurückhält. Nach dem Entparaffinieren werden die Schnitte über die absteigende Alkoholreihe in Wasser gestellt. Gefärbt wird in einer 2%igen Brillantscharlach-Lösung (C.I. Nr. 16250) in einer 1%igen Essigsäurelösung 30 min bei 37 °C; die Lösung wird vorgewärmt. In 1%iger Essigsäurelösung wird gespült. In 0,5%iger wäßriger Phosphorwolframsäurelösung wird 1—2 min differenziert. Wieder wird in 1%iger wäßriger Essigsäurelösung gespült. Gegengefärbt wird mit einer 0,5%igen Tartrazin-Lösung (C.I. Nr. 19140) in 1%iger, wäßriger Essigsäure, 30 Sekunden lang. In 3mal gewechseltem, absolutem Alkohol wird entwässert, in Xylol aufgehellt und in einem neutralen Medium eingeschlossen. Ergebnis: Die Muskelfasern erscheinen rot, Bindegewebe blaßgelb, Zellkerne und Erythrocyten orangerot.

Ralis, H. M., Gadsdon, D. R., and Ralis, Z. A.: Staining of muscle tissue for quantitative studies and automated morphometry. Stain Technol. **52,** 31—34 (1977).

Alexander Pareto

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

Thomas Friedl

Zieralgen aus einem Stadtrandtümpel

Im Jahre 1781 beschrieb O. F. Müller erstmals Algenformen, die bald danach zu beliebten Objekten mikroskopierender Naturfreunde avancieren sollten: die Zieralgen. Ihr großer Formenreichtum und nicht zuletzt die Tatsache, daß die Beschäftigung mit ihnen weder umfangreiche Präparationsarbeiten noch besonderen apparativen Aufwand erfordert, machten sie für Liebhabermikroskopiker besonders interessant.
Die Zieralgen oder Desmidiaceen gehören zu den Grünalgen (Chlorophyta) und bilden in der Klasse der Jochalgen (Conjugatophyceae) die Ordnung Desmidiales, die hier zusammen mit der Ordnung Mesotaeniales kurz betrachtet werden soll. Einige typische Vertreter dieser beiden Ordnungen werden näher beschrieben.
Jochalgen können sich ungeschlechtlich durch Teilung vermehren, aber auch geschlechtlich durch Konjugation. Dabei vereinigen sich die weiblichen bzw. die männlichen Zellinhalte unter amöbenartigen Bewegungen durch Bildung sogenannter Kopulationskanäle zu einer Zygote, die sich mit einer derben Haut umgibt und so ungünstige Lebensbedingungen überdauern kann. Bemerkenswert ist, daß Desmidiaceen durchweg einzellig sind. Die gebildeten Lappungen, Fortsätze und Stacheln jedoch erfüllen — abgesehen von einigen planktischen Formen — keine besondere Funktion. Man nimmt deshalb an, daß die Zieralgen sich von ihrer einzelligen (kokkalen) Organisationsstufe nicht zur fädigen (trichalen) Organisationsstufe entwickeln konnten und deshalb so ausdifferenzierte, ja phantasievolle Formen hervorgebracht haben.

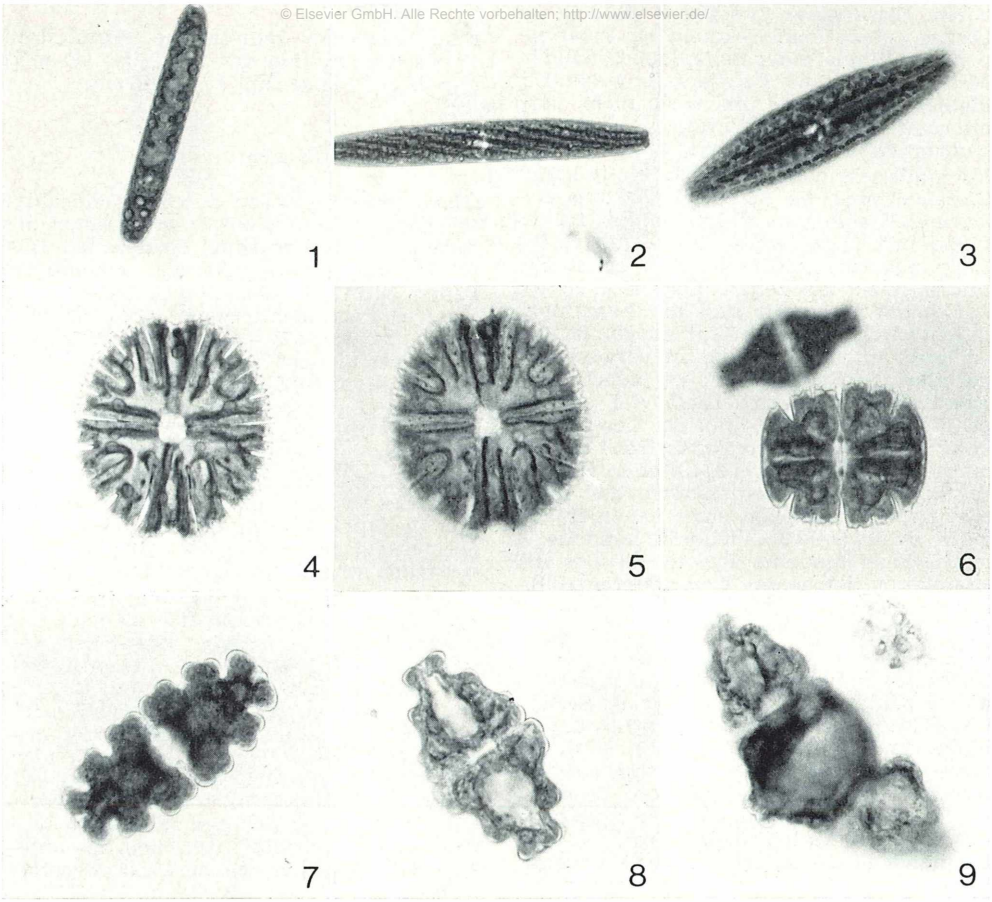
Vorkommen, Rohkultur

Die hier beschriebenen Formen stammen aus zwei nahe beieinanderliegenden, anmoorigen Tümpeln im Forstenrieder Park am Stadtrand von München. Mit einem pH-Wert von ca. 5,2 sind es leicht saure Gewässer. Da der Säuregrad in unseren Breiten ein ausschlaggebender Faktor für das Vorkommen von Zieralgen ist, wird es nicht schwer fallen, in leicht sauren und stillen Gewässern reiche Beute zu machen. So fand ich von September bis anfangs Dezember 1976 rund 30 verschiedene Arten. Die hier beschriebenen Formen bildeten leicht schleimige Flocken, die entweder auf der Wasseroberfläche trieben, an Grashalmen hafteten oder moos-bewachsene Baumstümpfe überzogen.
Waren die Proben durch Erde stark verunreinigt, so sammelten sich die Algen bei genügender Belichtung schon nach wenigen Stunden an der Oberfläche des Bodensatzes an. Bei niedrigem Wasserstand in den Gläsern hielten sich die Proben einige Tage lang. Ersetzte man das Originalwasser durch mit Torf angesäuertes Leitungswasser oder durch 50% Knop-Lösung, hielten sie sich bis zu 4 Wochen.

Mesotaeniales

Sehr häufig ist *Spirotaenia condensata* (Bild 1). Bei dieser Form wird der einfache Bau der Mesotaeniales-Zelle besonders deutlich: Sie bildet einen einfachen, zylindrischen Körper mit abgerundeten Enden. Kennzeichnendes Merkmal ist der schraubig gewundene Chloroplast. Bei *S. obscura* (Bild 2) ist der Chloroplast stärker gewunden, die Zelle verjüngt sich zu den Enden hin.
Eine sehr große Art ist *Netrium digitus* (Bild 3), die schon mit bloßem Auge als winziges Pünktchen wahrgenommen werden kann. Sie fällt durch den für sie eigentümlichen Chloroplasten auf: Er ist im Querschnitt sternförmig, die einzelnen Strahlen sind an ihren Enden in Lappungen zerschlissen. Diese Lappungen sind deutlich gegeneinander versetzt. Die Zellwand ist bei beiden Gattungen, wie bei allen Mesotaenialen, einfach gebaut und im Lichtmikroskop strukturlos.

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



Desmidiales

Ein typischer Vertreter dieser Ordnung ist *Micrasterias rotata*. An ihr fallen die charakteristischen Merkmale der Zieralgen sofort auf: Die Zellen besitzen eine deutliche Teilung in zwei zueinander symmetrischen Zellhälften. Diese sind mit einem kurzen Hals, dem Isthmus, in dem der Zellkern sitzt, verbunden. Die Membranhälfte besteht aus einem Polarlappen mit dem Apex (Scheitel) und zwei Seitenlappensystemen, die sich bei unserer Art in einen oberen und unteren Seitenlappen und in einen Basallappen gliedern.

Die Zellwand der Desmidiaceen weist immer einen sogenannten Porenapparat auf. Darunter versteht man Organellen, die in der Zellwand sitzen und eine schleimige Gallerte produzieren. Diese Organellen treten lichtmikroskopisch als Pünktchenreihen oder -systeme an leeren Hüllen oder nach Färbung deutlich hervor. Der Chloroplast füllt die Zelle fast vollständig bis hin zu den Rändern aus.

Wegen ihrer Größe (300 µm lang, 200 µm breit) und Häufigkeit kann man *Micrasterias rotata* als „Indikatorart" benutzen und schon mit bloßem Auge feststellen, ob ein Gewässer Desmidiaceen enthält.

Bild 1: *Spirotaenia condensata* — eine typische Mesotaeniale

Bild 2: *Spirotaenia obscura*

Bild 3: *Netrium digitus*

Bild 4: *Micrasterias papillifera*

Bild 5: *Micrasterias papillifera* — Stacheln an Polar- und Seitenlappen

Bild 6: *Micrasterias truncata*

Bild 7: *Euastrum oblongum*

Bild 8: *Euastrum pinnatum*

Bild 9: *Euastrum pinnatum* — Zygotenbildung?

Wie eine Miniaturausgabe von *M. rotata* wirkt *Micrasterias papillifera* (Bild 4); sie besitzt jedoch feine Stacheln an Polarlappen und Rändern der Seitenlappen (Bild 5). *M. truncata* (Bild 6) ist ebenfalls wesentlich kleiner als *M. rotata* und wirkt mehr eckig als rund, da der Polarlappen rundlich ausgeformt ist (L 96 µm, B 44 µm).

Ebenfalls sehr häufige, jedoch relativ kleine Zieralgen sind die Arten der Gattung *Euastrum*. *E. oblongum* (Bild 7) ist mit 160 µm Länge und 70 µm Breite die größte Art. Die Lappungsverhältnisse ähneln denen der Micrasterien; die Seitenlappen sind jedoch nur leicht eingedellt und die Lappungen fallen rundlicher aus. *E. pinnatum* (Bild 8) ist leicht mit *E. oblongum* zu verwechseln, der mittlere Seitenlappen ist jedoch nicht eingedellt und wirkt deshalb viel gedrungener (L 120 µm, B 70 µm). Bei dieser Form konnte ich eine interessante Beobachtung machen: Zwischen zwei Halbzellen war ein rundliches Gebilde entstanden, das sogar schon die Polarlappen eines neuen Euastrums zeigte (Bild 9). Vielleicht handelte es sich hierbei um eine Zygote, die aus der Kopulation der oberen bzw. unteren Halbzelle entstanden war, oder um das Produkt einer ungeschlechtlichen Vermehrung durch Zellteilung.

Noch einfacher als *E. pinnatum* ist *Euastrum didelta* (Bild 10) gebaut, bei der die Seiten- und Basallappen noch nicht deutlich ausgebildet sind (L 70 µm, B 40 µm). Auch bei dieser Form konnte ich wiederum eine interessante Beobachtung machen: Eine der beiden Halbzellen bildete 2 Polarlappen aus (Bild 11). Nach Czurda (1) könnte diese Formanomalie eine Reaktion auf lebensungünstige Vorgänge sein.

Eine sehr kleine Form ist *Euastrum bidentatum* (L 48 µm, B 30 µm), die leicht mit kleineren Cosmarien-Arten verwechselt werden kann (Bild 12). Wichtigstes Unterscheidungsmerkmal ist der deutliche, mehr oder weniger tiefe Einschnitt im Polarlappen.

Ein relativ großer Vertreter der Gattung *Cosmarium* ist *C. botrytis* (Bild 13). Bei dieser Art fehlt jede Lappung, die Zellwand ist mit kleinen Warzen besetzt.

Eine recht anmutige Zieralge ist auch *Xanthidium antilopaeum* (Bild 14). Sie weist deutliche Stacheln auf und wird von einem Kranz aus feinen Gallertstrahlen umgeben. Beinahe riesenhaft im Vergleich zu so zarten Xanthidien wirkt *Closterium lunula* mit fast 1 mm Länge und einem Durchmesser von beinahe 100 µm. Wie die meisten Closterien ist auch diese Form leicht gebogen, so daß sie an eine Mondsichel erinnern könnte. Charakteristische Merkmale sind der im Querschnitt sternförmige Chloroplast und die Vakuolen an beiden Polen, in denen sich kleine Gipskristalle nach der Brown'schen Molekularbewegung tänzelnd bewegen.

Eine wiederum sehr kleine Form stellt *Closterium cynthia* dar (Bild 15); sie mißt nur 34 µm Länge und 15 µm Breite.

Fädige Desmidiaceen

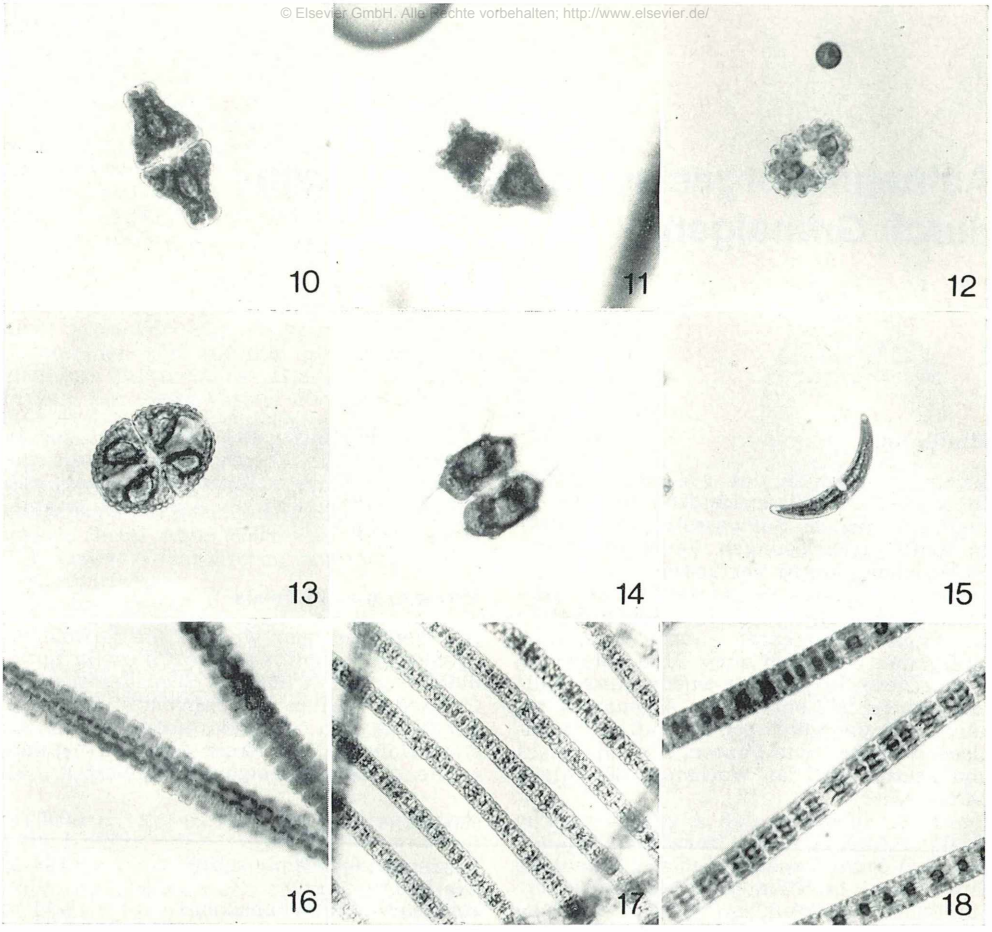
Obwohl Desmidiaceen durchweg einzellige Pflanzen sind, finden sich auch Arten aus fadenförmig aufgereihten Einzelzellen. Diese sind weitgehend autonom, weshalb die Fäden leicht zerfallen. Sie erreichen nicht die trichale (fadenförmige) Organisationsstufe und können deshalb höchstens als Zwischenstufe auf dem Weg zur trichalen Organisationsstufe angesehen werden.

Desmidium swartzii (Bild 16) ist ein recht häufiger Vertreter der fädigen Desmidiaceen. Die Einzelzelle dieser Art ist im Querschnitt dreizackig und besitzt noch eine deutliche Zweiteilung. Die Gallertporen sitzen an den Zellpolen. Da die Einzelzellen geringfügig gegeneinander verdreht sind, entstehen schraubige Windungen.

Während man von der Gattung *Desmidium* noch annehmen kann, daß sie sich aus staurastren-artigen Zellen entwickelt hat, ist es bei der Gattung *Hyalotheca* unmöglich, eine verwandtschaftliche Beziehung zu heute noch existierenden Formen aufzustellen. Bei *H. dissiliens* (Bild 17) findet man rundliche Einzelzellen, die sich noch nicht recht in einen Faden einreihen wollen; sie besitzen außerdem nur noch eine angedeutete Zweiteilung. Der gesamte Faden wird von einer Gallerthülle umgeben, die ungefähr halb so dick ist wie die Zellreihe selbst. (Einzelzelle: L 10 µm, B 20 µm). Im Phasenkontrast oder besser nach Färbung mit alkalischem Methylenblau nach Löffler wird deutlich, daß selbst die Gallerthülle noch nach einzelnen Zellen gefeldert ist. Bringt man *H. dissiliens* an einen gut belichteten Ort, so richten sich die Fäden streng nach der Lichteinfallsrichtung aus. *Hyalotheca mucosa* (Bild 18) dagegen liegt immer fein gekräuselt vor. Ihre Einzelzellen weisen nicht einmal mehr andeutungsweise eine Zweiteilung auf. Sie besitzt wie *H. dissiliens* einen im Querschnitt sternförmigen Chloroplasten, dessen Strahlen an den Enden leicht zerlappt sind. Das Pyrenoid sitzt zentral. Die Einzelzellen sind länger gestreckt als bei *H. dissiliens* (L 25 µm, B 20 µm). An beiden Enden sitzen, ähnlich wie bei *H. dissiliens*, zwei bis drei Reihen Gallertporen, die nach leichter Methylenblau-Anfärbung schon mit einer n. A. von 0,50 gut beobachtet werden können. Färbt man kräftiger an, so wird auch die Gallerte wunderschön kontrastriert.

H. mucosa hat keine deutlich begrenzte Gallerthülle, sondern leicht gebogene Gallert-

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



strahlen. Erwähnt werden sollte noch, daß beide *Hyalotheca*-Arten, im Gegensatz zu den vorher erwähnten einzelligen Formen, auch noch unter Eis gefunden wurden.

Bild 10: *Euastrum didelta*

Bild 11: *Euastrum didelta* — Formanomalie

Bild 12: *Euastrum bidentatum*

Bild 13: *Cosmarium botrytis*

Bild 14: *Xanthidium antilopaeum*

Bild 15: *Closterium cynthia*

Bild 16: *Desmidium swartzii*

Bild 17: *Hyalotheca dissiliens*

Bild 18: *Hyalotheca mucosa*

Literaturhinweise:

1. *Czurda:* Conjugatae. In: Handbuch der Pflanzenanatomie, Berlin 1937
2. *Fott:* Algenkunde. Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart 1971
3. *Grönblad:* Observations on some Desmids. Helsingforsiae 1924
4. *Krieger:* Die Desmidiaceen Europas. In: Rabenhorst's Kryptogamenflora, Leipzig 1933—37
5. *Lenzenweger:* Zieralgen. Mikrokosmos 52/103—107 (1963)
6. *Lenzenweger:* Fädige Zieralgen. Mikrokosmos 59/10—13 (1970)
7. *Scharf:* Desmidialogische Studien am rechten Niederrhein. Leitz-Mitteilungen Bd. VI/5, Wetzlar 1975
8. *Streble/Krauter:* Das Leben im Wassertropfen. Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart 1973

Für ihre tatkräftige Unterstützung danke ich Herrn Siegfried Hoc, Mikrobiologische Vereinigung München, und Herrn Dr. Alfons Ludwig, Thomas-Mann-Gymnasium München.

Verfasser: Thomas Friedl, Gulbranssonstr. 14, D-8000 München 71.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/
Hans-Jürgen Voß

Aufnahme organischer Verbindungen durch Grünalgen

Einführung

Schon gegen Ende des vorigen Jahrhunderts machten Wissenschaftler die Erfahrung, daß manche Süßwasseralgen in anorganischen Nährlösungen keine optimalen Lebensbedingungen vorfanden.
Diese Beobachtung führte dann zu der Vorstellung, daß neben anorganischen Salzen und Spurenelementen auch organische Stoffe zum Gedeihen einer Alge notwendig seien. Diese Vorstellung wurde durch Kulturversuche mit einzelligen Algenarten erhärtet, die den günstigen Einfluß von organischen Stoffen wie Pepton, Fleischextrakt und Zucker auf das Wachstum der Algen nachwiesen.
Heute ist bewiesen, daß Algen organische Stoffe aufnehmen und verwerten können und daß viele Algen sogar der ständigen Zufuhr von bestimmten organischen Verbindungen bedürfen, um optimal gedeihen zu können. Dies ist z. B. beim „Augentierchen" *Euglena gracilis* der Fall, das der ständigen Zufuhr von Vitamin B_{12} bedarf. Man weiß heute ferner, daß recht wenige Algen in der Lage sind, ausschließlich anorganische Verbindungen als Energielieferanten zu nutzen (Chemolithotrophie). Weit verbreiteter ist die Erscheinung der Nutzung organischer Verbindungen als Energielieferanten (Chemoorganotrophie). Selbst Algen, die wie viele *Chlorella*-Stämme in rein mineralischer Nährlösung hohe Vermehrungsraten erreichen, können in Gegenwart organischer Verbindungen wesentlich besser gedeihen! Die Algen besitzen zwar Photosynthesepigmente, mit deren Hilfe sie bei Licht photosynthetisch aktiv sind, gehen aber bei völliger Dunkelheit auch zur Heterotrophie, d. h. zur Nutzung und Verarbeitung von organischen Stoffen, über. Gelöste organische Stoffe sind nicht nur Nahrungs- und Energiequelle für die Algen (Provasoli & Pinter 1953, Rhode 1955, Parsons and Strickland 1962), sondern in den meisten Fällen beschleunigen gelöste organische Verbindungen das Wachstum von Algen (Gocke 1970). Das Ziel der in diesem Aufsatz beschriebenen Versuche war, mit einfachen Mitteln zu zeigen, daß Algen die Fähigkeit zur Aufnahme organischer Stoffe besitzen.

Material und Methode

Als Versuchsalgen wurden die Grünalgen *Scenedesmus obliquus* und *Chlorella pyrenoidosa* gewählt (Bild 1). *Scenedesmus* und *Chlorella* wurden in flüssigem — oder zur Erhaltung von Stammkulturen — auf festem Nährmedium (Agar-Agar 1 g-%) folgender Zusammensetzung kultiviert:

dest. Wasser	1000 ml
Kaliumnitrat (KNO_3)	1,00 g
Natriumhydrogenphosphat ($Na_2HPO_4 \cdot 12\,H_2O$)	0,26 g
Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4)	0,74 g
Magnesiumsulfat ($MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$)	0,05 g
Calciumchlorid ($CaCl_2 \cdot 4\,H_2O$)	0,001 g
Eisenchlorid ($FeCl_3 \cdot 6\,H_2O$)	0,001 g

Spurenelement-Lösung 1 ml, modifiziert nach Hoagland (vgl. Schwoerbel, Methoden der Hydrobiologie). Als organische Substanz wurden den Versuchsalgen die Aminosäuren DL-Alanin, Glyzin und L-Glutaminsäure angeboten. Durch Auflösen der Aminosäuren in der mineralischen Kulturflüssigkeit wurden ca. 1%ige Aminosäurelösungen hergestellt, welche mit Algenmaterial, das von den Agar-Schrägröhrchen-Kulturen abgestrichen wurde, beimpft wurden. Kulturgefäße und Kulturflüssigkeit wurden vor dem Beimpfen mit dem Algenmaterial sterilisiert. Die Kultur- bzw. die Versuchsdauer betrug jeweils 10 Tage, wobei die Algenkulturen an einem Nordfenster aufgestellt wurden, an dem eine Raumtemperatur von 19°—21 °C herrschte. Damit eine Abnahme der Aminosäurenkonzentration experimentell verfolgt werden konnte,

Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

wurden Proben der Kulturflüssigkeit auf Dünnschichtchromatographie-Platten aufgetragen und analysiert. Die Dünnschichtchromatographie gestattet die Trennung und den Nachweis kleinster aufgetragener Probemengen in sehr kurzer Zeit. Die durch dieses Analysenverfahren gewonnenen Resultate sind in der Regel eindeutig und gut interpretierbar; die Methode ist auch ohne weitreichende Erfahrung auf dem chromatographischen Analysengebiet gut zu handhaben.

Zur Analyse der Kulturflüssigkeit wurden den Kulturgefäßen mit einer sterilisierten, 10 μl fassenden Kapillarpipette Flüssigkeit entnommen und auf mit mikrokristalliner Cellulose beschichteten Glasplatten aufgetragen. Zur Beschichtung der Platten wurden, da kein entsprechendes Ausstreichgerät zur Verfügung stand, die beiden Längsseiten der Glasplatten (10·20 cm) mit einem Klebestreifen überklebt, und eine wäßrige Suspension des Sorptionsmittels (25 g Cellulose in 90 ml Aqua dest. verrührt!) wurde mit einem Glasröhrchen ausgerollt bzw. ausgestrichen.

Nach dem Trocknen der aufgetragenen Untersuchungssubstanz wurden die DC-Platten in ein verschließbares Glasgefäß gestellt, das mit einem Laufmittel folgender Zusammensetzung gefüllt war:

n-Butanol	4 Vol. Teile
Eisessig	2 Vol. Teile
dest. H_2O	1 Vol. Teil.

Nach dem Entwickeln der Platten nach einer Laufzeit des Laufmittels von ca. 1,5 bis 2 Stunden wurden die DC-Platten dem Entwicklungsgefäß entnommen, getrocknet und mit Ninhydrin-Sprühreagenz (MERCK Art.-Nr. 6758) behandelt. Die nach der Nachweisreaktion entstandenen roten ovalen Flecken (Aminosäurenachweis) kann man in Beziehung zu der Konzentration der betreffenden Aminosäurelösung setzen. Das Resultat ist: Die Fleckengröße ist dem Logarithmus der Konzentration proportional. Bei der Auswertung der Versuchsergebnisse wurde die Größe der Flecken rechnerisch bestimmt und als relatives Maß für die Aminosäurekonzentration verwendet. Eine Abnahme der Aminosäurekonzentration in den Kulturgefäßen wird also durch eine Abnahme der Fleckengrößen „angezeigt".

Experimentelle Ergebnisse

Die in Bild 2 dargestellten Versuchsergebnisse stellen Mittelwerte aus jeweils vier Versuchen dar, der mittlere Fehler für den Kulturversuch mit DL-Alanin beträgt ±0,015, für den Glyzinversuch ±0,014 und für den Kulturversuch mit L-Glutaminsäure ±0,019.

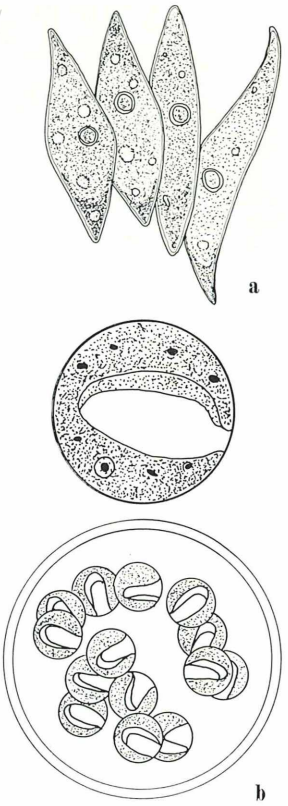


Bild 1: Die beiden untersuchten Grünalgenarten. **a** *Scenedesmus obliquus*, **b** *Chlorella pyrenoidosa* (oben vegetative Zelle, unten Tochterzellen in der Membran der Mutterzelle).

Scenedesmus und *Chlorella* reduzieren die Aminosäurekonzentration während einer 10tägigen Kulturdauer in ihren Gefäßen; die Algen müssen die organische Substanz in irgendeiner Form genutzt haben, denn eine Abnahme der Fleckengrößen ist nur durch die Stoffwechselaktivität der Algen zu erklären, da Einwirkungen durch andere Organismen, z. B. durch Bakterien oder Pilze, auszuschließen sind und da Kulturgefäße, Kulturflüssigkeit und Algenimpfmaterial steril waren.

Die aus den algenfreien Kontrollversuchen gewonnenen Ergebnisse zeigen aber, daß trotz aller Sterilisationsmaßnahmen Bakterien und Pilze, wenn auch nur in geringem Ausmaße, am Abbaugeschehen beteiligt waren (s. Bild 2). Diese Erscheinung hat ihren Grund wohl in der Tatsache, daß beim täglichen Öffnen der Kulturgefäße zwecks Probenentnahme Bakterien in die Lösung gelangt sind, welche die Reduzierung der Aminosäurekonzentration bewirkt haben.

Die chemisch am einfachsten gebaute Aminosäure, Glyzin, wird von beiden Algen-

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

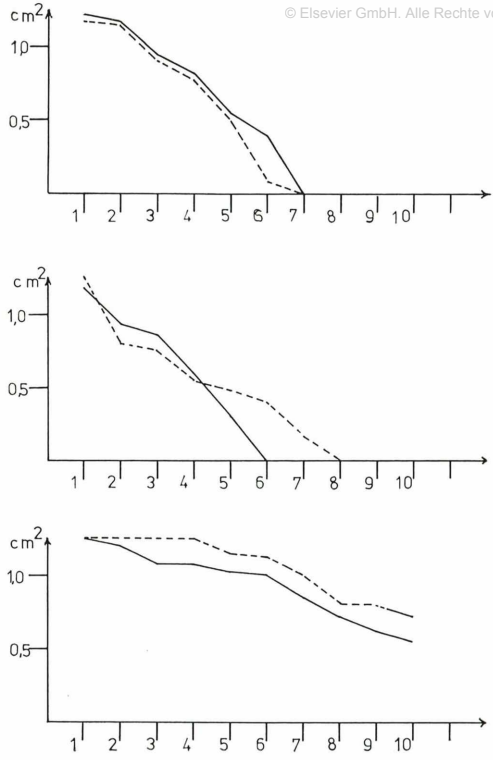


Bild 2: Kulturversuch mit der Aminosäure Glycin. Oben Hellkultur, Mitte Dunkelkultur, unten algenfreie Kontrollkultur. Ordinate: Fleckengröße im Dünnschichtchromatogramm; Abszisse: Anzahl der Tage —— *Scenedesmus*, - - - *Chlorella*.

arten gleich gut aufgenommen. Am 7. Versuchstag war der Aminosäureanteil der Kulturlösung bereits aufgebraucht. Unterschiedlich ist jedoch die Aufnahme von Glyzin in Dunkelkultur (Dauerdunkel); sie ist nämlich bei *Scenedesmus* bereits am 6. Tag und bei *Chlorella* am 8. Tag beendet.
DL-Alanin wird von *Chlorella*-Algen gut aufgenommen, am 7. Kulturtag ist die Aminosäurekonzentration auf Null abgesunken; bei *Scenedesmus* ist dies erst am 10. Versuchstag der Fall. Kulturen der beiden Algenarten im Dauerdunkel zeigten jedoch, daß DL-Alanin von *Scenedesmus obliquus* bei völliger Dunkelheit besser aufgenommen wird als von *Chlorella pyrenoidosa*. Am 6. Kulturtag ist in den *Scenedesmus* Kulturen die DL-Alanin-Konzentration auf Null abgesunken, bei *Chlorella* ist dies erst am 8. Kulturtag der Fall.
Die schon etwas komplizierter strukturierte L-Glutaminsäure wird von *Scenedesmus obliquus* schlecht verwertet. Am 10. Versuchstag ist die Konzentration noch nicht einmal bis zur Hälfte abgesunken, während hingegen bei *Chlorella pyrenoidosa* die Aufnahme von L-Glutaminsäure am 10. Kulturtag beendet ist. Bei völliger Dunkelheit, so zeigten Versuche in Dunkelkultur, ist die Aufnahme und Verwertung von L-Glutaminsäure durch *Scenedesmus* jedoch besser als durch *Chlorella*-Algen (s. Bild 2). Die Ergebnisse haben die in der Einleitung erwähnte Fähigkeit der Algen, organische Stoffe aufzunehmen und zu verwerten, bestätigt. Ferner ist bei den Experimenten deutlich geworden, daß die Aufnahme der organischen Stoffe bei völliger Dunkelheit anders ist als bei Lichteinwirkung, bei der die chemoorganotrophe Ernährungsweise noch durch den Photosyntheseprozeß überlagert wird.

Literaturhinweise:

1. *Fogg, G. E.* and *Miller, J. D. A.*: The effect of organic substances on the growth of fresh water algae Monodus subterraneus. — Verh. int. Ver. Limnol. 13, 892—895 (1958)
2. *Gocke, K.*: Untersuchungen über die Abgabe und Aufnahme von Aminosäuren und Polypeptiden durch Planktonorganismen. — Arch. Hydrobiol. 67, 285—367 (1970)
3. *Klotter, H.-E.*: Grünalgen (Chlorophyceen), Franck'sche Verlagshandlung, Stuttgart (1975)
4. *Krogh, A.*: Dissolved organic substances as food of aquatic organisms. — Biol. Rev. 6, 412—442 (1931)
5. *Netuchova, H.* and *Tichy, V.*: Effect of humus substances on the production and the quality of the biomass of Scenedesmus quadricauda. — Arch. Hydrobiol. 39, 26—37 (1970)
6. *Provasoli, L.* and *Pinter, L. J.*: Ecological implications on in vitro nutrional requirements of algal flagellates. — Ann. N. Y. Acad. Sci. 56, 839—851 (1953)
7. *Parsons, T. R.* and *Strickland, S. D. H.*: On the production of particulate organic carbon by heterotrophic processes in sea-water. — Deep Sea Res. 8, 211—222 (1962)
8. *Rhode, W.*: Environmental requirements of fresh-water-plankton-algae. — Symbol. Bot. Upsal. 10, 1—149 (1948)
9. *Rhode, W.*: Can plankton production proceed during winter darkness in subarctic lakes? — Verh. int. Ver. Limnol. 12, 117—119 (1955)
10. *Round, F. E.*: Biologie der Algen. Verlag Thieme Stuttgart (1975)
11. *Schwoerbel, J.*: Methoden der Hydrobiologie. Franckh'sche Verlagshandlung Stuttgart 1966
12. *Weinmann, G.*: Gelöste Kohlenhydrate und andere organische Stoffe in natürlichen Gewässern und in Kulturen von Scenedesmus quadricauda. — Arch. Hydrobiol. 67, 164—242 (1970)

Verfasser: Hans-Jürgen Voß, Möllerstr. 44, 4390 Gladbeck i/W

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

Klaus Dietrich

Saugwurmlarven in Kiemen der Strandkrabbe Carcinus maenas

Die Metacercarien (2. Larvenstadium) der Trematoden (Saugwürmer) entwickeln sich auch in den Kiemen von Wirbellosen. Im untersuchten Fall in den Kiemen der Strandkrabbe *Carcinus maenas*.

Da die Kiemenpräparate unmittelbar nach dem Fang fixiert wurden, ist nachträglich eine Artbestimmung der Trematoden schwierig. Dazu benötigt man lebende Tiere. Man präpariert die Kapsel mit der darin eingeschlossenen Larve aus dem umgebenden Gewebe und zerstört mit der Spitze einer Präpariernadel unter leichtem Druck die kalkigen Wände der Encyste. Die austretende Larve überträgt man auf einen Objektträger, legt ein Deckglas auf und preßt sie bis kurz vor dem Platzen. Zum Fixieren saugt man 4%iges Formol zwischen beiden Gläsern hindurch. Nach dieser Methode dauert die Fixierung 10 Minuten. Danach kann man die Larve mit fast allen Farbstoffen, die in der Histologie üblich sind, anfärben, z. B. mit Methylenblau nach Löffler, Gentianaviolett usw.

Solchermaßen hergestellte Präparate sind für die Artbestimmung geeignet. Die Trematoden machen einen recht interessanten Wirtswechsel durch.

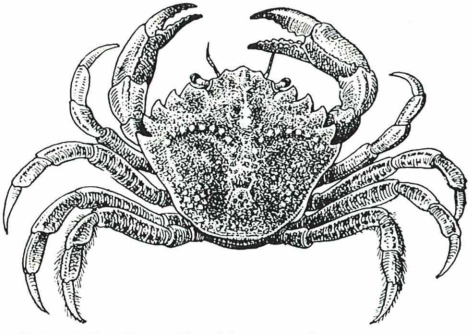


Bild 1: Die Strandkrabbe *Carcinus maenas*. Aus de Haas/Knorr, Was lebt im Meer? Kosmos-Naturführer, Kosmos-Verlag.

Die Miracidien dringen als bewimperte Larven (1. Larvenstadium) in Wasserschnecken ein. In der Mitteldarmdrüse dieser Schnecken entwickeln sie sich zu Cercarien. Diese verlassen dann die Schnecke und schwimmen mit ihrem Ruderschwanz im Wasser umher. Die Cercarien besitzen bereits die typische Trematodenorganisation. Ihre Geschlechtsorgane sind aber noch nicht entwickelt.

Die umherschwimmende Cercarie sucht ihren 2. Zwischenwirt. Dies können Fische, Krebse oder andere Tiere sein. Durch deren Haut oder Darmwand bohren sie sich, werfen ihren Ruderschwanz ab und encystieren in dem umgebenden Gewebe.

Hier wachsen sie heran und verbleiben dann in einem Ruhestadium (Metacercarium). Die Entwicklung wird vollendet, wenn dieser 2. Zwischenwirt vom Endwirt gefressen wird. Dies können Vögel, Fische oder der Mensch sein. In deren Darm oder Leber entwickelt sich der Parasit zur Geschlechtsreife. Seine Eier gibt der Parasit aus der Leber mit der Galle in den Darm. Mit dem Kot gelangen sie ins Freie und

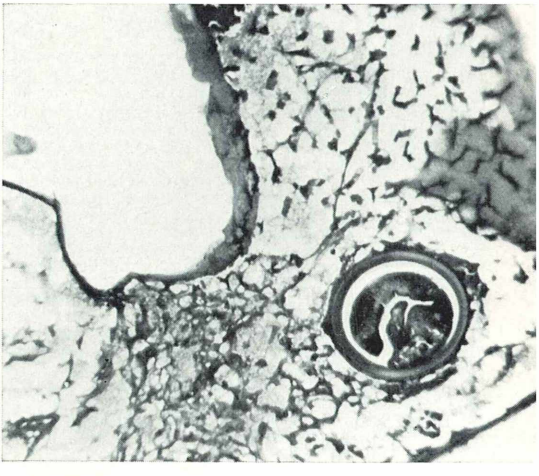
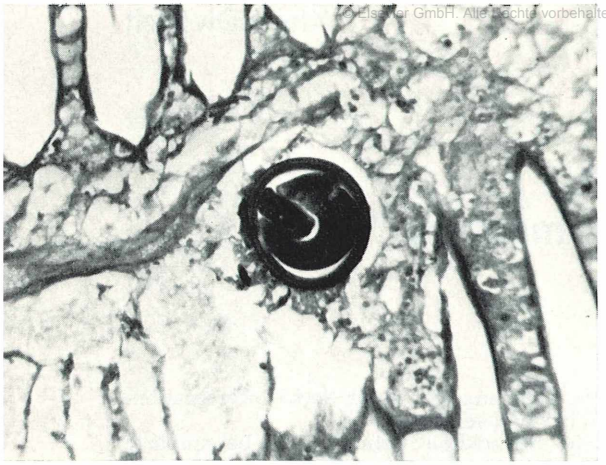


Bild 2: Encystierte Metacercarie in einer Kiemenlamelle der Strandkrabbe *Carcinus maenas*. Die typische Trematodenorganisation ist angelegt und im Präparat erkennbar. Susa-fixiert, Paraplastschnitt 5 µm, ca. 100 : 1.

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



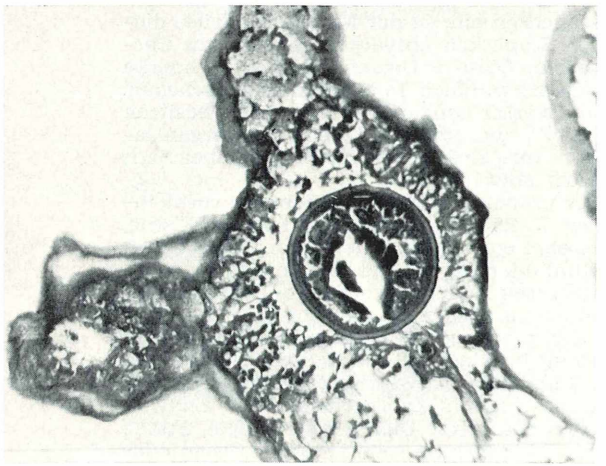


Bild 3: Sagittalschnitt durch die Kiemen von *Carcinus maenas* mit encystierter Metacercarie im Gewebebereich zwischen den Kiemenlamellen. Susa-fixiert, Paraplastschnitt 5 μm, ca. 100 : 1.

Bild 4: Medianschnitt durch eine encystierte Metacercarie. Die Encyste besteht aus einer äußeren stark verkalkten und einer inneren weniger stark verkalkten Schale. Susa-fixiert, Paraplastschnitt 5 μm, ca. 100 : 1.

werden hier wieder von Schnecken aufgenommen.
In Adaption an den Parasitismus haben die Trematoden diesen komplizierten Wirtswechsel „erfunden". Nicht minder kompliziert ist der Generationswechsel. Dabei wechseln mehrere parthenogenetische und eine zwittrige Generation einander ab. Die bisexuelle Generation im Darm oder der Leber des Endwirtes entläßt die befruchteten Eier. Aus diesen Eiern schlüpfen die bewimperten Larven (Miracidien), die sich in Schnecken (1. Zwischenwirt) und in Fischen, Krebsen, Mensch (2. Zwischenwirt) parthenogenetisch und vivipar vermehren. Mit dem Eindringen der Cercarien in den Endwirt ist die geschlechtliche Generation wieder erreicht.
Unter den Trematoden gibt es einige Formen, die beim Endwirt schwere Krankheiten bewirken.
Schistostoma haematobium z. B. parasitiert in der Darm- und Harnblasenvene sowie in der Pfortader beim Menschen. Sie ist der Erreger der Bilharziose, einer Krankheit, die endemisch bei der Bevölkerung Afrikas und Ostasiens auftritt.
Die abgebildeten Metacercarien wurden im Sommer 1975 an verschiedenen Stellen der Husumer Bucht (Nordsee) aufgefunden. Sie sind relativ häufig anzutreffen und können von jedem, der sich die Mühe macht, die Kiemenlamellen von ‚gestrandeten Krabben' zu untersuchen, gefunden werden.

Mikroskopikern, die sich für Parasitologie interessieren, sei vor allem die Lektüre des Werkes Frank, W.: Parasitologie (Ulmer-Verlag, Stuttgart 1976) empfohlen.

Verfasser: Klaus Dietrich, Leopoldweg 9 a, 6380 Bad Homurg v. d. H.

Modifiziertes Verfahren zur Untersuchung der Blattepidermis von Getreidearten

Direkte Verfahren zur Untersuchung der Blattepidermis werden indirekten Verfahren vorgezogen, kosten jedoch meist mehr Zeit und Mühe. Bei den 2 gängigen Methoden wird entweder das Chlorophyll entfernt, das Blattgewebe erweicht, in Milchsäure eine Seite des Blattes abgeschabt und das restliche Häutchen gefärbt, um die Konturen der einzelnen Zellen hervorzuheben oder es werden von der Blattoberfläche mit Nitrocellulose oder mit Silikongummi Abdrücke hergestellt, wobei allerdings durch das anschließende Abziehen von der Blattoberfläche Artefakte entstehen können; außerdem entziehen sich bei letzterem Verfahren epidermale Haare und Mesophyllzellen einer Untersuchung. Das besonders für Getreidearten geeignete Verfahren wurde an Mehrzeiliger Gerste *(Hordeum vulgare)*, an den Weizenarten Einkorn *(Triticum monococcum)*, Emmer *(Triticum dicoccum)* und Saatweizen *(Triticum aestivum)* und an Roggen *(Secale cereale)* erprobt. 1. 4—5 cm lange Blattstücke werden 10 min in Wasser gekocht, um die Zellen abzutöten und wasserlösliche Pigmente zu entfernen. 2. Die Blattstreifen werden in 95%iges Äthanol übertragen und 10 min (Gerste) oder 15 min (Weizenarten, Roggen) gekocht, um das Chlorophyll herauszuziehen. 3. Die entfärbten Blattstücke werden in 85%iger Milchsäure bei 95 °C 8 min gekocht, um das Gewebe durchsichtig zu machen. Die durchsichtigen Streifen werden sofort in Milchsäure bei Zimmertemperatur übertragen, wo sie bis zum Eindecken verbleiben. 4. Die Objekte werden gut abgetropft, in Glyzerin getaucht und mit Glyzerin eingedeckt; umrandet werden die fertigen Präparate mit Nagellack. Die Präparate können mit normalem Durchlicht und mit dem Interferenzmikroskop nach Nomarski untersucht werden. Die Haltbarkeit beträgt mindestens ein Jahr.

Rajendra, B. R., Mujeeb, K. A., and Bates, L. S.: A modified technique to study leaf epidermis in Triticeae. Stain Technol. 52, 9—12 (1977).

Alexander Pareto

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

Frieder Sauer

Das Moostierchen Plumatella repens

Die Moostierchen (Bryozoa) bilden eine recht isolierte und uralte Tierklasse. Sie sind schon aus Devonfossilien überliefert und stehen allenfalls den Armfüßern (Brachiopoda) nahe. Die meisten Arten leben im Meer, wo sie meist große Tierstöcke mit verkalkten Gerüsten bilden, sie sind schon gesteinsbildend aufgetreten.

Die Süßwasserbryozoen bilden Kolonien mit chitinartigen oder gallertigen Hüllen. Zwölf Arten wurden aus Mitteleuropa beschrieben, fast alle sind durch Gewässerverbauung und Abwässer an den Rand der Ausrottung gebracht und vielleicht schon aus Mitteleuropa verschwunden. Am ehesten kann man sie noch in schattigen Weihern und langsam fließenden Bächen erhoffen. Nur eine Art hat sich als ausgesprochener Fischweihertyp und Kulturfolger erwiesen und ist weit verbreitet, die abgebildete *Plumatella repens*. Auf ihr Vorkommen wird man am ehesten durch die im Wasser treibenden Dauerkeime aufmerksam. Diese Statoblasten sind dunkelbraun, rund bis schmal elliptisch und tragen einem wabigen Schwimmring. Sie enthalten ein fertig ausgebildetes Einzeltier, das unter günstigen Lebensbedingungen nach der Überwinterung die Hüllen sprengt und sich auf der Unterlage anheftet. Bevorzugte Fundorte sind die Unterseite von Seerosenblättern und die Steine im Aus-

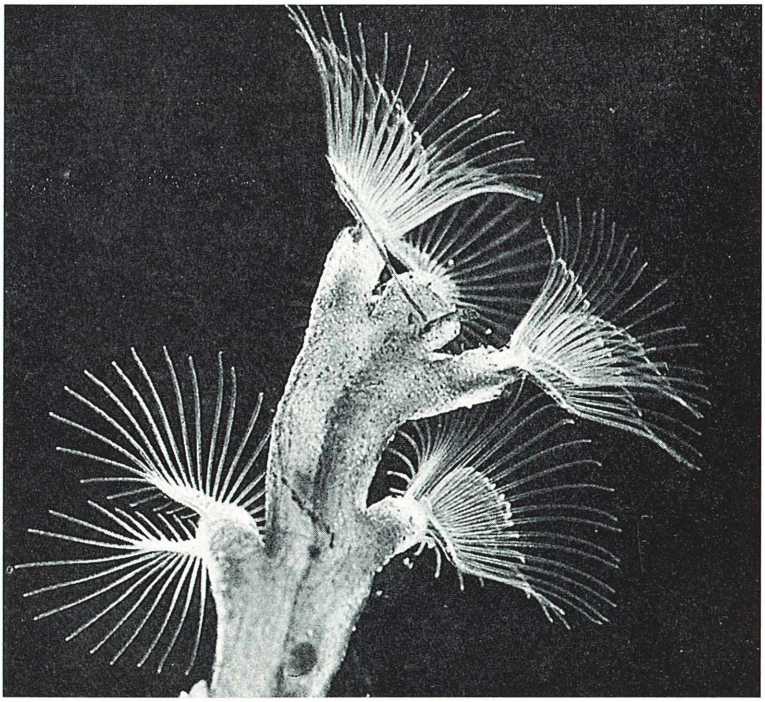


Bild: Moostierchenkolonie von *Plumatella repens*.

lauf von nährstoffreichen Fischweihern. Hier bildet *Plumatella* im Laufe des Sommers sich verzweigende und über die Unterlage hinrankende Kolonien. Gelegentlich erheben sich auch einzelne Stämmchen über die Unterlage oder ranken aneinander hoch.

Jedes Einzeltier entfaltet, wenn es ungestört ist, eine Tentakelkrone mit hufeisenförmiger Basis. Auf den Tentakeln sitzende Geißeln treiben die Nahrung, kleinstes im Wasser schwebendes organisches Material, in die Mundöffnung. Bei einer Störung ziehen sich die Kronen in das Gehäuse zurück.

Im schattig gestellten Aquarium läßt sich *Plumatella* leicht zum Wachstum und zur Vermehrung bringen. Als Nahrung hat sich Milch bewährt, mit der man das Wasser ganz leicht antrübt und die Milchgaben wiederholt, wenn sich das Wasser durch biologische Reinigung wieder geklärt hat. Die Moostierchen sind daran aktiv beteiligt, indem sie nicht nur die einstrudelbaren Bestandteile der Milch aufnehmen, sondern auch die sich entwickelnden Bakterienkulturen.

Ihre größte Ausdehnung erreichen die Kolonien im Frühherbst.

Verfasser: Dr. Frieder Sauer, Eichenweg 8, 8047 Karlsfeld.

Zur Einführung in die Mikroskopie

Aribert Jung

Pollen

Leicht beschaffbare Studienobjekte

Pollen sind in Größe und Form sehr unterschiedlich. Die Beschaffenheit richtet sich hauptsächlich nach den Bestäubungsmechanismen der Blüten. So haben naturgemäß windblütige Pflanzen, zu denen die meisten Forstgehölze gehören, andere Pollenstrukturen als die durch Insekten übertragenen Pollen. Die Bezeichnung „Korn" kann man auch nur insofern gelten lassen, als man mit dieser Bezeichnung einen Körper meint. Die Größe variiert von 5 Mikrometern bis 100 Mikrometer (1 Mikrometer — μm —

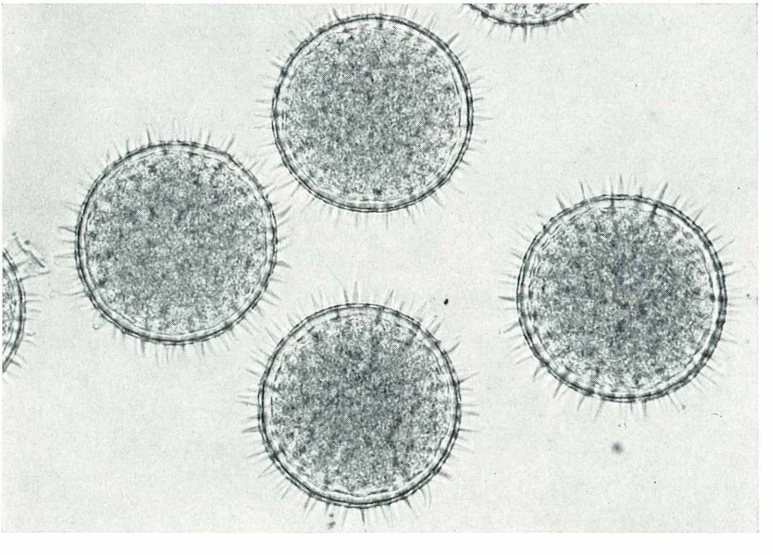
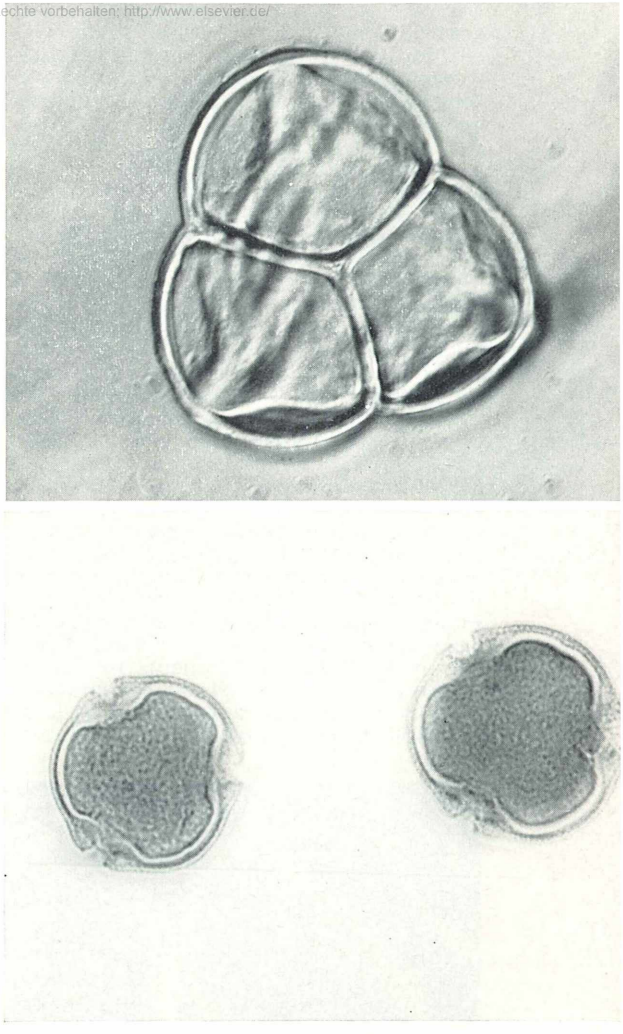


Bild 1: Pollen der Malve *(Malva moschata)*. Kugelig, mit stachelbewehrter Exine und 5 bis 9 Keimporen. 700 : 1

Alle Rechte vorbehalten: http://www.elsevier.de/

Bild 2: Pollen von Rhododendron (ringförmiges Hellfeld des Will-Stufendunkelfeldkondensors). Die Pollen sind zu einem Tetradenverband zusammengeschlossen. Die Exine ist uneben mit drei länglich-elliptischen, nicht immer erkennbaren Keimfalten. 1500 : 1

Bild 3: Pollen der Linde (*Tilia cordata*). Rundlich, schwach dreieckig. Drei rundlich-ovale Keimporen jeweils an den Ecken. 1600 : 1



=1/1000 mm). Das Pollenkorn entsteht im Pollensack der Anthere. Jede Anthere enthält mehrere, meist 4 Pollensackkammern, die — in Homologie zu den Farnpflanzen, aus denen die Blütenpflanzen entstanden sind — Mikrosporangien genannt werden. Aus den Pollenmutterzellen entstehen durch Reduktionsteilung Mikrosporen, die wir als Pollenkörner kennen. Sie sind für jede Pflanzenart von typischer Gestalt.

Jedes Pollenkorn wird von 2 Membranen umgeben, einer inneren, Intine genannt und einer äußeren, der Exine. Die Intine ist zart, aus ihr geht der spätere Pollenschlauch hervor. Sehr widerstandsfähig ist dagegen die Exine, sie zeigt die arttypischen Verdickungen und Unebenheiten wie Stacheln, Leisten und Warzen. Die Exine weist außerdem Stellen auf, die für den Austritt des Schlauches vorgesehen sind, die Keimfalten oder Keimporen. An anderer Stelle könnte der Schlauch die Außenhaut gar nicht durchbrechen, denn sie ist so robust, daß ihr nicht einmal Säuren etwas anhaben können. Wie wäre es auch sonst möglich, Pollen aus verschiedenen geologischen Schichten nach mehreren tausend Jahren zu untersuchen?

Unter „Pollenanalyse" versteht man die Erforschung der Vegetationsvergangenheit anhand in Erdschichten gefundener Pollen. Diese stammen überwiegend von windblütigen Pflanzen, deren Pollenwolken sich am Boden niederschlagen. Wir kennen alle die Wolken des Blütenstaubs über Getreidefeldern und im Frühjahr die der Fichten- und Kiefernwälder. Allgemein verrottet der Pollen, wobei die hartnäckige Exine durch Oxidation aufgelöst wird. Bei Lagerung unter Luftabschluß jedoch ist Pollen unbegrenzt haltbar. Durch bestimmte Methoden kann man Pollen aus Schlamm- und Torfablagerungen gewinnen. Unter dem Mikroskop werden sie gezählt und nach Art und Gattung geordnet. So erhält man quantitativ ein Bild früherer Vegetation aus jenem Zeitalter, aus dem das Untersuchungsmaterial stammt. Die Pollenanalyse erfaßt also überwiegend windblütige Pflanzen wegen ihrer großen Pollenproduktion, es sind in der Mehrzahl Bäume und Gräser. Es kann somit nur ein Teil früherer Vegetation nachgewiesen werden. Insektenblütige Pollen werden zwar auch gefunden, ihr Anteil ist jedoch sehr gering. Diese nur wenig vertretenen Pollen werden durch die Pollenanalyse zu wichtigen Beweisstücken für die Erforschung der Siedlungsgeschichte einer Landschaft.

Wenden wir uns dem Studium der Pollen zu. Die Beschaffung der Objekte ist einfach und für jeden ereichbar. Zudem ist das Objekt sofort ohne Bearbeitung einschlußfertig. Für die Herstellung eines Mikropräparates kann man verschiedene Einschlußmittel verwenden. Glycerin eignet sich sehr gut hierfür und hat den Vorteil, nicht so schnell zu verdunsten. Auf einen sauberen Objektträger wird ein Tropfen Glycerin gebracht. Anschließend hält man eine größere Anthere (z. B. von *Amaryllis, Clivia* oder *Malva*) über diesen Tropfen und schabt mit einer Präpariernadel den Pollenstaub ab. Bei Blüten mit kleinen Antheren wird die ganze Blüte über den Einbettungstropfen gehalten, worauf man vorsichtig die Antheren abklopft, damit keine

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

Unreinheiten mit hineinfallen. Zusammengeklebte Pollenpakete müssen durch Rühren mit der Präpariernadel im Einbettungstropfen aufgelöst werden. Das Rührwerkzeug sollte aber nicht den Boden berühren, da sonst auf dem Objektträger leicht Kratzer entstehen. Ein Deckglas der Stärke 0,17 mm wird aufgelegt. Es ist ratsam, das Deckglas kurze Zeit zu beschweren. Dadurch wird die Schichtdicke des Einschlußmittels auf ein Minimum herabgesetzt und die Pollen liegen besser plan. Das ist bei Vergrößerungen zwischen 300 bis 1000fach sehr wichtig. Dennoch wird der Betrachter, je nach Form der Pollen, seine liebe Not haben, mehrere Pollen in einer Schärfenebene zu finden. Chloralhydrat ist ein weiteres praktikables Einschlußmittel. Die Handhabung für das Fertigen eines Präparates ist die gleiche. Nachdem das überschüssige Einbettungsmittel, das unter dem Deckglas hervorquoll, verdunstet oder abgesaugt ist, wird eine Schicht Umrandungslack aufgetragen. Die so hergestellten Präparate sind über Monate haltbar, aber nicht als Dauerpräparate anzusehen. Nun wird es hin und wieder einmal vorkommen, daß Pollen kleine Luftbläschen in das Einbettungsmittel mitnehmen (besonders häufig bei stachelbewehrten Pollen). In solchen Fällen kann man getrost das Präparat (bevor Umrandungslack aufgetragen ist) leicht erhitzen. Die Luftblasen wandern dann sehr schnell zum Deckglasrand. Die Pollen werden dadurch nicht beschädigt.

Einige Pollen eignen sich vorzüglich für eine Dunkelfeld- oder Phasenkontrast-Betrachtung. Letztere besonders dann, wenn die Vergrößerung über 600fach hinausgeht. Für solche Präparate hat die Firma Zeiss ein Phasenkontrast-Einschlußmittel herausgebracht, das ich für Pollenuntersuchungen mit bestem Erfolg verarbeitet habe. Es wird im Set geliefert und enthält 2 erhärtende Einschlußmittel L 15 und L 25 mit den Brechungsindices nD = 1,515 und 1,525, sowie ein nicht erhärtendes Einschlußmittel W 15 mit dem Brechungsindex nD = 1,515. Diese Einschlußmittel haben außerdem die Eigenschaft, das Objekt aufzuhellen. Sie sind natürlich auch für alle Hellfelduntersuchungen zu verwenden. Für Dunkelfelduntersuchungen eignen sich besonders die Pollen, die innen strukturlos sind. Der Rand leuchtet mit all seinen Mustern, Leisten und Skulpturen im sonst dunklen Umfeld auf. Das Präparat muß für Dunkelfeldbetrachtungen besonders sauber eingeschlossen sein, da im Dunkelfeld auch alle Fremdkörper hell aufleuchten.

Wer sich längere Zeit mit der Pollenbetrachtung beschäftigt hat, wird weitere

Bild 4: Pollen der Amaryllis. Längliche, bananenähnliche Gestalt. Exine warzigrauh mit nur einer länglichen Keimfalte. Dunkelfeld. 700 : 1

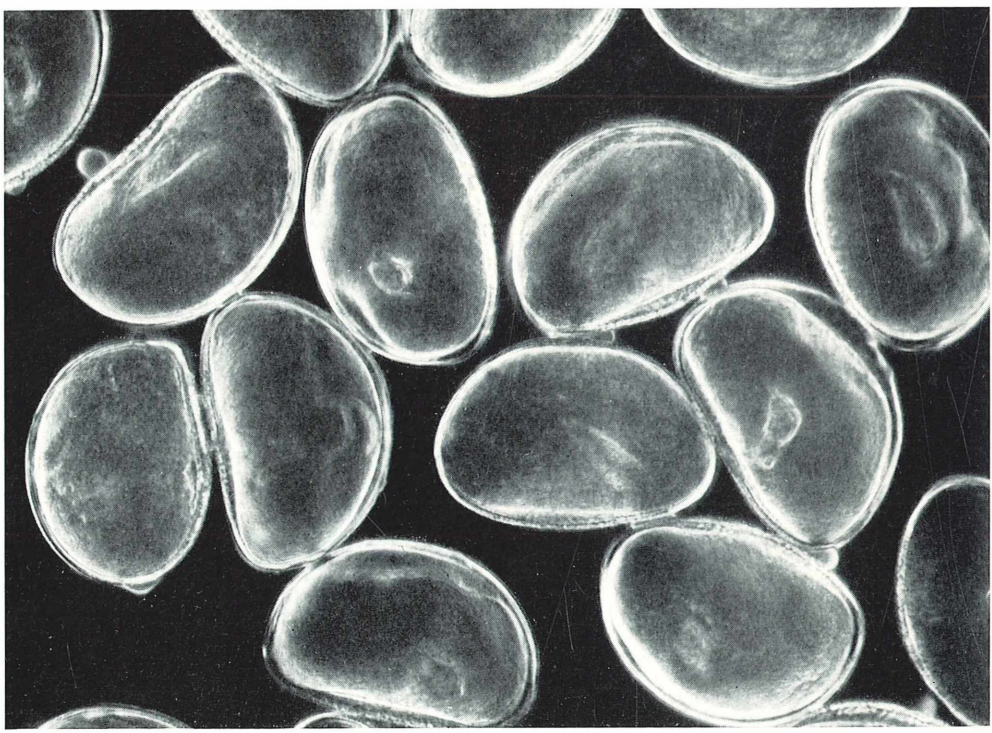
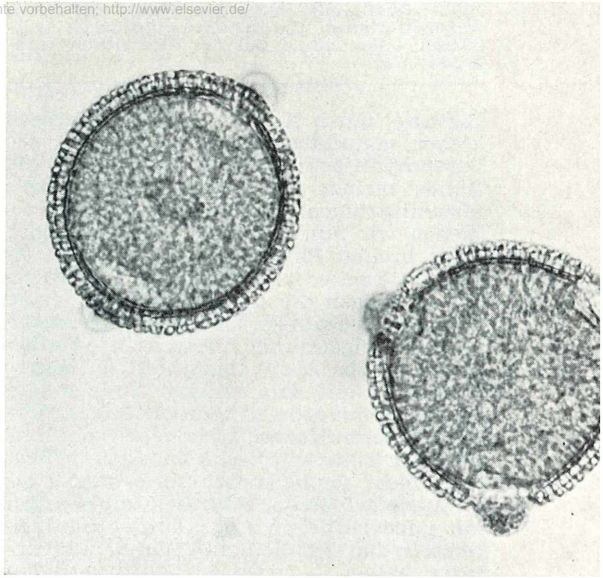


Bild 5: Pollen des Storchschnabels *(Geranium silvaticum)*. Abgerundet dreieckig. Exine uneben mit drei runden bis schwach-ovalen Keimporen. 700 : 1

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



Versuche anstellen wollen. Wie wir wissen, gelangt Pollen auf die Narbe, treibt einen Schlauch aus, der durch den Griffelkanal bis in den Fruchtknotenhohlraum und später zur Eizelle vordringt. Der natürliche Ablauf der Pollenkeimung kann auch mit Erfolg durch entsprechende Kulturen in Nährlösungen künstlich herbeigeführt werden. In 20%igem Zuckerwasser keimen einige Pollen, z. B. vom Fleißigen Lieschen *(Impatiens walleriana)* bereits nach einer Stunde. Man überträgt einen größeren Tropfen Zuckerwasser auf einen Objektträger und pudert die Pollen auf diesen Tropfen. Damit der Tropfen nicht eindunstet, wird er eine Stunde in feuchter Umgebung gehalten (Feuchte Kammer). Erst jetzt wird ein Deckglas aufgelegt und das entstandene Präparat untersucht. Bei solchen Lebendpräparaten kann unter dem Mikroskop das Wachstum der Pollenschläuche weiter verfolgt werden. Wer solche Präparate mit Lack umrandet, erhält ein Präparat, das sich über Wochen hält.

Verfasser: Aribert Jung, Vor dem Eichhain 1, 5912 Hilchenbach-Vormw.

Biologie in der Schule

Franz Bukatsch

Das Breitwegerich-Blatt — ein günstiges Objekt zur Darstellung der Wasserleitungsfunktion

Bekanntlich wird das Wasser mit gelösten Nährsalzen aus dem Boden im Gefäßteil der Leitbündel bis in die feinsten Verzweigungen des „Blattnerven-Systems" geleitet. Dieses Blattgeäder tritt bei den meisten Blättern deutlich hervor, besonders an der Unterseite. Dabei sind die Blätter der einkeimblättrigen Pflanzen zumeist parallelnervig, die der zweikeimblättrigen fieder- oder netznervig.

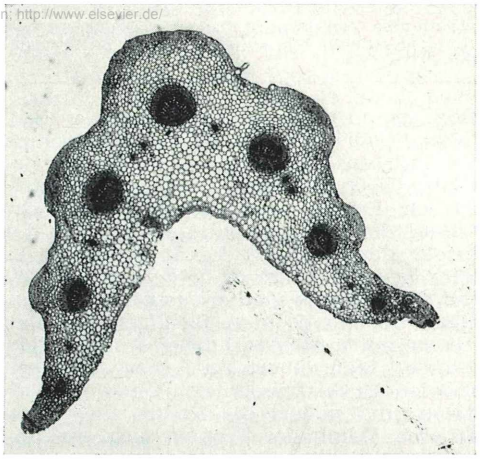
Besonders schön zeigt diese Erscheinung das Blatt aus der bodenständigen Rosette des großen oder Breiten Wegerichs *(Plantago maior)*, das man überall auf Wiesen fast das ganze Jahr hindurch finden kann. Die Pflanze wird von den Rasenfreunden oft als lästiges Unkraut betrachtet — für unsere Zwecke eignet sie sich aber gut zur Demonstration der Saftströmung in den Leitbündeln.

Das eiförmige, etwas zugespitzte Blatt zeigt besonders deutliche „Blattrippen" mit fiedriger Verzweigung in der Spreite. Betrachten wir einen Querschnitt durch den von der Blattfläche nicht deutlich abgesetzten Blattstiel, der rinnenförmig, oben konkav, unten konvex gestaltet ist, so merken wir schon bei etwa 30—50facher Vergrößerung im Mikroskop, daß die regelmäßig bogenförmig im Stengelparenchym angeordneten Leitbündel im Querschnitt elliptisch erscheinen (Bild 1). Beidseitig als Gewebe dem Gefäß- bzw. Siebteil aufgelagerte, aus langen, verdickten Zellen bestehende Kappen machen die Bündel besonders zähelastisch; wir können sie an der Blattunterseite bis in feine Verzweigungen (besonders gegen das Licht gehalten) verfolgen.

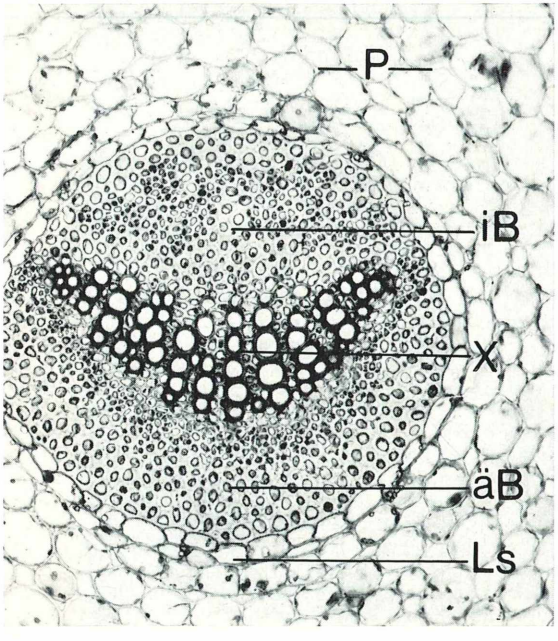
Nun kommt das Überraschende: Reißen wir bei einem nicht zu alten Blatt den

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

Bild 1: Querschnitt durch den Stengel des Breitwegerich-Blattes. Die rundlich-elliptischen Leitbündel fallen schon bei der Übersichtsvergrößerung auf.



Blattstiel durch Knicken und gleichzeitiges Ziehen vorsichtig quer durch, so gibt das Parenchym des Stengels nach, doch die Bündel bleiben wie gespannte Saiten eines Musikinstruments erhalten.
Ziehen wir nun mit spitzen Fingern oder einer breiten Pinzette die Blattnerven an der Unterseite langsam blattspitzenwärts ab, so bleiben die Leitbündel bis in feine Seitenverzweigungen als Gerippe erhalten.
Nun zum eigentlichen Versuch: Wir stellen frisch an der Basis abgeschnittene Wegerichblätter mit dem unteren Ende in ein Schälchen mit nicht zu konzentrierter Eosinlösung (deren Konzentration etwa verdünnter roter Tinte entspricht) an einem hellen, doch nicht sonnigen Ort für etwa 1/2 bis 1 Stunde auf. Naher sehen wir, meist schon mit unbewaffnetem Auge, an der Blattunterseite, daß sich die Leitbündel rötlich verfärbt haben — auch im durchfallenden Sonnenlicht heben sich bei jüngeren Blätter die Blattnerven rötlich gegenüber dem satten Grün des chloroplastenreichen Mesophylls (des mittleren Blattgewebes) ab. Haben wir ein schwach vergrößerndes Mikroskop und eine Rasierklinge zur Hand, so genügt ein einigermaßen dünner Querschnitt durch den Blattstiel oberhalb der eingetauchten, von Eosinresten gereinigten Eintauchstelle, um zu zeigen, daß nur der Gefäßteil (das Xylem) rötlich erscheint. Man kann es leicht an den Reihen der verdickten Gefäßquerschnitte vom sehr zarten Siebteil (Phloem) unterscheiden. Das Phloem bildet nur eine dünne Schicht, die der Blattunterseite zugewandt ist. Beiderseits sieht man deutlich die mächtigen Bastkappen, die zwar aus dickwandigen, in der Regel aber nicht verholzten Zellsträngen bestehen.
So ist der Beweis geführt, daß das Wasser — und damit auch unsere rote Farblösung — im Gefäßteil allein geleitet wird. Um den Gefäßteil eindeutig vom übrigen Gewebe zu unterscheiden, färben wir ihn selektiv an. Dazu können wir den Schnitt weiter verwenden, oder wir fertigen einen neuen gleichartigen Schnitt durch ein nur in Wasser gestandenes Blatt an.
Wir tropfen ein gleichteiliges Gemisch von alkoholischer Phloroglucin-Lösung und starker Salzsäure auf unser Präparat: Die Wiesnersche Ligninreaktion läßt nach kurzer Zeit das Xylem tief kirschrot erscheinen. In diesem Fall soll unbedingt ein Deckglas verwendet werden, um Optik und Metallteile des Mikroskops vor Säuredämpfen zu schützen!
Eine weitere empfehlenswerte Ligninreaktion besteht darin, daß man auf das Präparat eine konzentrierte, wäßrige Lösung von Anilinhydrochlorid auftropft; der Holzteil färbt sich bald tief-gelblich an. Notfalls kann man sich das Reagenz so herstellen: man mischt 1 Tropfen Salzsäure mit einem Tropfen Anilin (Vorsicht: Gift!), wobei sich das Hydrochlorid selbst bildet.



Verfasser: Dr. Franz Bukatsch, Am Heidebruch 14, 8 München 70.

Bild 2: Leitbündel aus dem Stengel des Breitwegerich-Blattes. *äB* äußerer Bastbelag. *iB* innerer Bastbelag. *Ls* Leitbündelscheide. *P* Parenchym. *X* Xylem. Aus dem Querschnitt läßt sich erschließen, weshalb sich die Leitbündel isoliert aus dem Blattstiel herausziehen lassen: Die Zellwände der das Leitbündel zylindrisch umschließenden Scheide sind viel dünner als die der umgebenden Parenchymzellen. Sie reißen schon bei geringem Zug. Vergr. 180 : 1.

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

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