II 90372/92,4

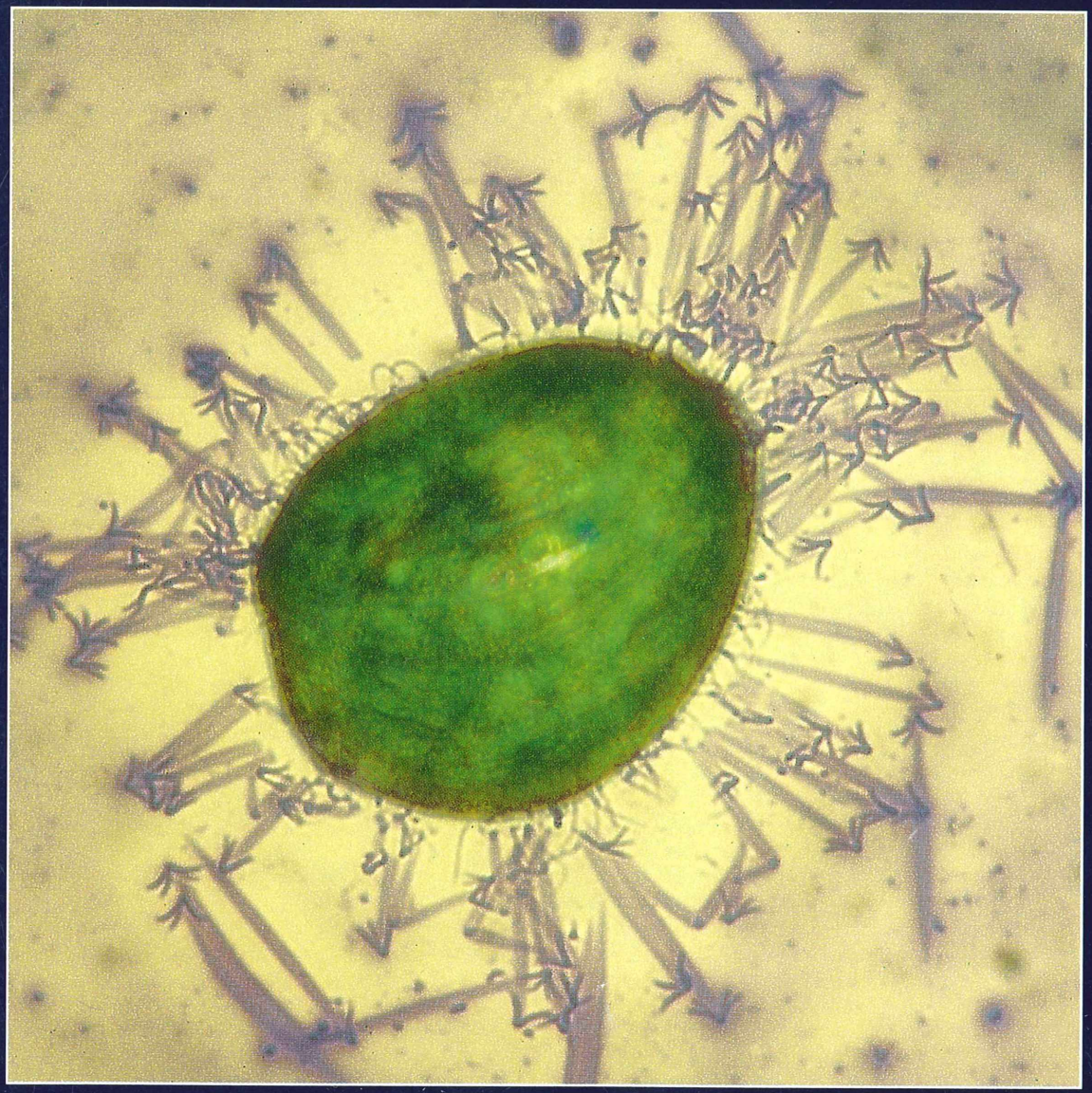
/mikrokosmos

F 20582

MIKROKOSMOS

URBAN & FISCHER

Juli 2003
92. Jahrgang
Heft 4
ISSN 0026-3680



MIKROKOSMOS Zeitschrift für Mikroskopie

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

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

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

Inhalt

Artikel

193 Vom Ei zum Organismus – Beobachtungen zur Embryonalentwicklung der Großen Schlammschnecke *(Lymnaea stagnalis)*
Armin Maidhof

199 Bildverarbeitung in der Mikroskopie – Teil 2
Norbert Lange

207 Zieralgen aus Thailand
Rupert Lenzenweger

211 Die sonderbaren Extrusomen der Microthoraciden (Ciliaten)
Klaus Hausmann und Renate Radek

219 Das Interzellularsystem der Samenpflanzen – Wie viel Luft befindet sich in einer Pflanze?
Walter Neubert

224 Dr. Robert Koch: Leistungen als „Beiwerk"
Norbert Gregor Günkel

229 Darstellung der Pollenentwicklung bei *Tradescantia*
Rainer Roeser

244 Leuchtfeldmikrometer – Ein Messverfahren zur Größenbestimmung mikroskopischer Objekte
Peter Hippe

247 Safari durch die Punica-Oase
Erich Lüthje

Rubriken

206 Nachrichten

210, 218, 240, 254 Kurze Mitteilungen

217 Aus der Industrie

241 Mikro-Galerie

253 Buchbesprechungen

254 Aus den Arbeitsgemeinschaften

255 Mikro-Markt

256 Impressum

Im elektronischen MIKROKOSMOS-ARCHIV (**http://urbanfischer.de/journals/mikrokosmos/archiv.htm**) wird mit dem Erscheinen dieses Heftes ein Artikel aus dem Jahrgang 27 (1933/34) über Moostierchen.

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

---

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

---

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

Umschlagabbildung: Der Ciliat *Pseudomicrothorax dubius* umgeben von ausgeschleuderten Extrusomen (Foto: R. Radek). Siehe Artikel K. Hausmann und R. Radek, S. 211–217.

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

Vom Ei zum Organismus – Beobachtungen zur Embryonalentwicklung der Großen Schlammschnecke (Lymnaea stagnalis)

Armin Maidhof

Die Embryonalentwicklung von Organismen stellt einen der erstaunlichsten Vorgänge der Biologie dar. Molekularbiologen haben in den letzten zwei Jahrzehnten tiefe Einblicke in ihre genetische Steuerung gewonnen. Es bahnt sich die Erkenntnis an, dass zumindest einige vom Genom programmierte Entwicklungsmechanismen bei allen Lebewesen – seien es Würmer, Fliegen oder gar der Mensch – in gleicher Weise wirksam sind.

Für bahnbrechende Arbeiten zur Aufklärung molekularbiologischer Grundlagen der Entwicklung wurde im Jahre 1995 an Edward B. Lewis, Eric Wischaus und Christiane Nüsslein-Volhard der Nobelpreis für Medizin verliehen.

Der Beginn der modernen Entwicklungsbiologie liegt an der Wende des 19. zum 20. Jahrhundert. In dieser Zeit veröffentlichten Theodor Boveri und Oscar Hertwig ihre Ergebnisse über die Befruchtung von Eiern des Seeigels beziehungsweise des Pferdespulwurms. Sie klärten die Chromosomenverhältnisse bei der Befruchtung auf. Es folgten in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts die klassischen Experimente von Hans Driesch und Hans Spemann an Seeigel- und Amphibieneiern, die erstaunliche Einblicke in die Ei- und Embryonalentwicklung erbrachten. Schon damals wurde für entwicklungsbiologische Arbeiten ein Medizin-Nobelpreis verliehen, und zwar im Jahre 1935 an Hans Spemann.

Das Hauptinstrument für diese klassischen Untersuchungen war das Mikroskop. Die molekularbiologischen Ergebnisse kann der Hobby-Mikroskopiker experimentell nicht mehr nachvollziehen. Ihm bleibt diesbezüglich nur das Literaturstudium (siehe Literaturhinweise). Was er aber mit etwas Geduld unter dem Mikroskop beobachten kann, ist faszinierend genug. Es gibt einige geeignete Modellorganismen, an denen entwicklungsbiologische Beobachtungen durchgeführt werden können, so zum Beispiel an Seeigeln, Fadenwürmern, Gliederwürmern und Schnecken. Ohne größeren experimentellen Aufwand lässt sich an Schneckeneiern die Embryonalentwicklung von der Befruchtung bis zum schlüpfreifen Organismus verfolgen. Dies gelingt nicht selten an einem einzigen Ei. Eier von Land- und Wasserschnecken sind gleichermaßen hierfür geeignet. Allerdings ist es einfacher, an Untersuchungsmaterial von Wasserschnecken zu gelangen, wobei die Art nicht entscheidend ist.

Haltung der Schnecken

In stehenden, pflanzenreichen Gewässern sind Vertreter der Schlammschnecken (Fam. Lymnaeidae) allgemein verbreitet, so dass man nach der Großen Schlammschnecke (*Lymnaea stagnalis*) nicht vergeblich suchen wird. Die Schlammschnecken gehören den Lungenschnecken (Pulmonata) an, zu denen die meisten deutschen Land- und Süßwasserschnecken zählen. Lungenschnecken sind Zwitter, so dass beim Sammeln nicht auf das Geschlecht geachtet werden muss; denn zwittrige Schnecken begatten sich gegenseitig. Jede Schnecke bewahrt den Samen des Partners bis zur Befruchtung der Eier in einer speziellen Samenblase. Somit ist die Entnahme eines Exemplars ausreichend, vorausgesetzt, dass die Begattung bereits stattgefunden hat. Erfolgversprechender ist die gemeinsame Haltung von mindestens zwei Tieren. Die Haltung kann in Glas- oder Plastika-

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

quarien von 0,5–1 Liter Inhalt erfolgen. Die Behälter sollten mit Standortwasser gefüllt sein; eine weitere Einrichtung mit Bodenschicht und Wasserpflanzen ist nicht nötig. Um Wasserverdunstung zu minimieren, muss das Gefäß mit einer Glasscheibe oder Plastikfolie bis auf eine kleine Öffnung zum Luftaustausch abgedeckt werden. Als Standort ist ein Ost- oder Nordfenster gut geeignet, damit eine zu starke Erwärmung durch Sonneneinstrahlung vermieden wird. Als Futter werden Salatblätter und grobes Fischtrockenfutter angeboten.

Beobachtungshinweise

Nach dem Einbringen der Tiere müssen die Gefäßwände täglich mehrmals nach den typischen Eigelegen abgesucht werden. Unsere Wasserschnecken legen keine einzelnen Eier ab, sondern heften Eiansammlungen in Form von Laichbändern oder -platten an feste Unterlagen, so auch an Aquarienscheiben. Die Große Schlammschnecke legt zahlreiche Eier in einer wurstförmigen Gallerte ab, die 1,5–3 cm lang ist und 30–60 Eier enthält (Abb. 1 und 2). Um die ersten Entwicklungsstadien beobachten zu können, muss die mikroskopische Untersuchung möglichst bald nach der Eiablage beginnen. Für die Beobachtung eignet sich ein Stereomikroskop mit 10–200facher Vergrößerung oder ein Mikroskop mit entsprechendem Vergrößerungsbereich. Der Einsatz des Phasenkontrastverfahrens ist für bestimmte Beobachtungen von Vorteil. Hellfeld- und besonders Dunkelfeldbeleuchtung bieten schöne Bilder von den äußeren Zellteilungsvorgängen. Da die Gallerte des Eigeleges lichtstreuende Eigenschaft besitzt, die bei stärkerer Vergrößerung das mikroskopische Bild verschleiert, sollten einige Eier aus dem Verband vorsichtig mit stumpfen Nadeln herauspräpariert und auf einen Objektträger in einen genügend großen Tropfen Standortwassers übertragen werden. Das Deckglas muss mit Glasstreifen von Objektträgerdicke abgestützt werden. An einem solchen Lebendpräparat kann die gesamte Embryonalentwicklung beobachtet werden. Zwischen den Untersuchungen wird das Präparat in einer feuchten Kammer aufbewahrt. Unter dem Deckglas muss verdunstetes Wasser durch destilliertes Wasser ergänzt werden, um ein Versalzen zu vermeiden. Alle 2–3 Tage sollte das Wasser vorsichtig vollständig erneuert werden.

Befruchtung der Eizelle

Da die Eier noch im Körper besamt werden, ist die Befruchtung bei der Eiablage bereits in vollem Gange. Die Samenzelle hat die Eischale, das Chorion, durchdrungen und wandert durch das Eiklar des so genannten perivitellinen Raumes auf die Eizelle zu, um sich mit ihr zu vereinigen. Kurze Zeit nach der Eiablage ist der Vorgang abgeschlossen, so dass es ein großer Glücksfall ist, wenn die Wanderung der Samenzelle unter dem Mikroskop beobachtet werden kann. Die Samenzelle, die fast ausschließlich aus Zellkern und Mitochondrien besteht, ist als kugelförmiges Körperchen zu erkennen, dessen Durchmesser circa nur 1/10 des Durchmessers der Eizelle beträgt. Die absolu-

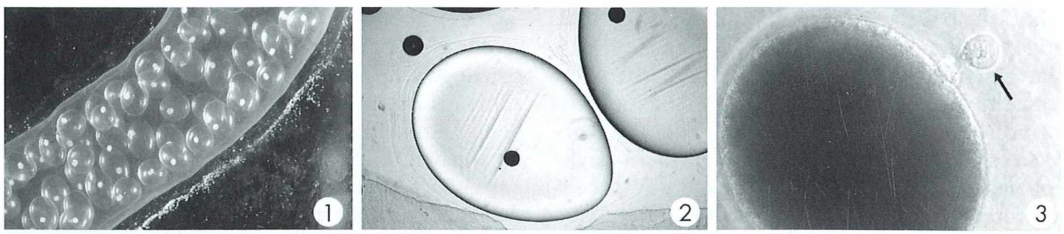


Abb. 1 und 2: Eier der Schlammschnecke *Lymnaea stagnalis*. – Abb. 1: Laichband; 30–60 Eier werden in einem Gallertschlauch abgelegt. Dunkelfeld, Vergr. 4fach. – Abb. 2: Einzelnes Ei; die Eizelle (dunkler Körper) schwimmt im Eiklar. Hellfeld, Vergr. 25fach. – Abb. 3: Eizelle in der 2. Reifeteilung: Der Richtungskörper (Pfeil) aus der 1. Reifeteilung liegt als kleines, rundes Gebilde am animalen Pol der Eizelle. Phasenkontrast, Vergr. 280fach.

ten Maße sind 100 µm zu 10 µm. Durchlicht, Hellfeld oder Schräglicht reicht als Beleuchtungsmethode aus. Eine erfolgreiche Beobachtung des Befruchtungsvorgangs ist nur zu erwarten, wenn die Schnecke unmittelbar beim Ablaichen entdeckt und der Laich sofort für die mikroskopische Untersuchung präpariert wird.

Reifeteilung

Die Befruchtung ist der Anstoß für die nun beginnende Entwicklung. Bevor der Spermakern sich mit dem Eikern vereinigt, muss bei höheren Tieren die Meiose, also die Reduktion des diploiden Chromosomensatzes zum haploiden Status, abgeschlossen werden. Während beim Seeigel der seltene Fall vorliegt, dass der Eikern bei der Besamung bereits im haploiden Zustand vorliegt, wird bei höheren Tieren die Meiose im Ei durch die Besamung in Gang gesetzt oder aus einem während der Eireifung sozusagen eingefrorenen Stadium heraus vollendet. Bei Weichtieren, wie beispielsweise den Schnecken, hat die Reifeteilung bei der Besamung entweder noch nicht begonnen oder ist in der Metaphase der ersten Reifeteilung gestoppt worden. Letzteres trifft für die Große Schlammschnecke zu. Bei den Säugetieren bleibt die Meiose bei der Eireifung im Metaphase-Stadium der zweiten Reifeteilung stehen und wird erst nach der Besamung abgeschlossen. Die meiotischen Teilungen der Eizelle sind mit der Abschnürung von so genannten Richtungskörpern – insgesamt zwei – verbunden, mit denen die überzähligen Chromosomen einschließlich einer sehr geringen Menge Cytoplasmas ausgestoßen werden. Danach sterben sie ab. An frisch abgelaichten Eiern können die Richtungskörper beobachtet werden (Abb. 3). Der Ort der Abschnürung wird als animaler Pol bezeichnet, dem der vegetative Pol gegenüberliegt.

Furchung und Bildung der Blastula

Ein bis zwei Stunden nach der Eiablage werden die ersten Anzeichen einer Zellteilung beobachtet. Meridional vom animalen zum vegetativen Pol schnürt sich die Eizelle furchenartig ein (Abb. 4). Das Ergebnis dieses Vorgangs der so genannten ersten Furchungsteilung sind zwei gleichgroße Zellen, die Blastomeren genannt werden (Abb. 5). Wiederum ein bis zwei Stunden später erfolgt ebenfalls meridional die zweite Furchungsteilung, die zum Vierzellenstadium führt, dessen Blastomeren ebenfalls von gleicher Größe sind (Abb. 6). In etwa gleichem Zeitabstand erfolgt ein dritter Teilungsschritt, dessen Furchungsebene äquatorial verläuft und dem animalen Pol näher liegt. Durch diese inäquale Furchung entsteht ein Achtzellenstadium aus vier kleinen, animalen Zellen, den so genannten Mikromeren, und vier vegetativen, großen Zellen, den Makromeren (Abb. 7). Bei günstiger Orientierung des Eies im mikroskopischen Blickfeld kann noch eine weitere Besonderheit dieser Furchung beobachtet werden. Die Mikromeren stehen nämlich spira-

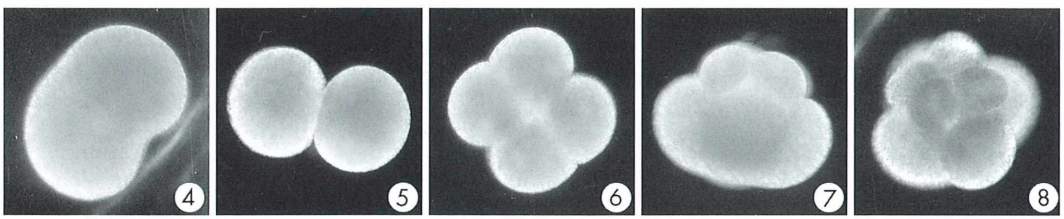


Abb. 4: Eizelle am Beginn der 1. Furchungsteilung. Dunkelfeld, Vergr. 140fach. – Abb. 5: Ergebnis der 1. Furchungsteilung: Das Zweizellenstadium. Dunkelfeld, Vergr. 140fach. – Abb. 6: Ergebnis der 2. Furchungsteilung: Das Vierzellenstadium. Dunkelfeld, Vergr. 140fach. – Abb. 7: Die 3. Furchungsteilung verläuft inäqual und führt zum Achtzellenstadium aus vier animalen Mikromeren und vier vegetativen Makromeren. Dunkelfeld, Vergr. 140fach. – Abb. 8: Blick – schräg zur Polaritätsachse – auf den animalen Pol des Achtzellenstadiums: Die Mikromeren sind gegenüber den Makromeren um circa 45° verdreht (Spiralfurchung). Dunkelfeld, Vergr. 140fach.

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

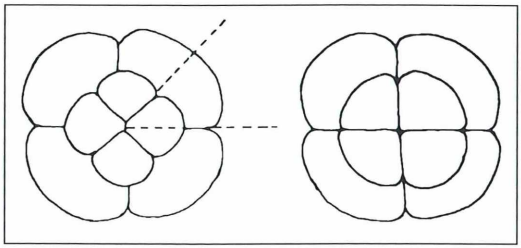


Abb. 9: Schematische Gegenüberstellung von Spiralfurchung und Radiärfurchung. Links Spiralfurchung: Der gestrichelte Winkel gibt den 45-Grad-Versatz der animalen Mikromeren gegenüber den vegetativen Makromeren an. Rechts Radiärfurchung: Die Blastomeren sind radiärsymetrisch gruppiert (z. B. Seeigelentwicklung).

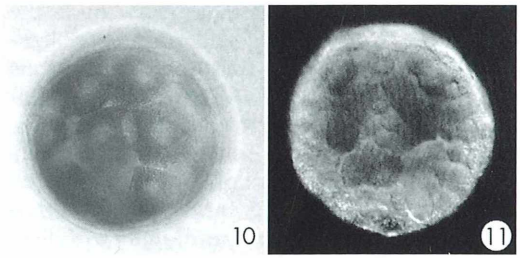


Abb. 10: 16-Zellstadium: Zellgrenzen und Zellkerne sind in diesem Stadium noch gut zu erkennen. Phasenkontrast, Vergr. 140fach. – Abb. 11: Junge Blastula; die Zellen werden mit jedem Teilungsschritt kleiner. Dunkelfeld, Vergr. 140fach.

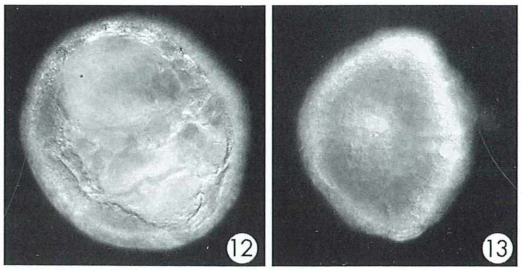


Abb. 12: Bei der Gastrulation verlagert sich peripheres Zellmaterial durch Einstülpung nach innen. Optischer Schnitt, Dunkelfeld, Vergr. 180fach. – Abb. 13: Gastrula mit Blick auf den Blastoporus (in der Mitte). Dunkelfeld, Vergr. 140fach.

lig um circa 45° verdreht gegenüber den vegetativen Makromeren (Abb. 8 und 9). Im Gegensatz zur Radiärfurchung (Abb. 9) wird dieser Furchungstyp als Spiralfurchung bezeichnet, die außer bei den Weichtieren auch bei verschiedenen Wurmfamilien auftritt (Plattwürmer, Schnurwürmer, Ringelwürmer). Während die ersten Furchungsteilungen synchron verlaufen, tritt mit dem vierten Teilungsschritt eine Desynchronisierung in der Art ein, dass die Makromeren in ihrer Teilungsaktivität den Mikromeren zeitlich vorauseilen. In der weiteren Entwicklung wird das Zellgeschehen für den Beobachter immer unübersichtlicher. Die zu diesem Zeitpunkt stark unterschiedlichen Größenverhältnisse der Zellen verwischen sich und am Ende der Furchung ist ein rundlicher, vielzelliger Keim entstanden, die Blastula (Abb. 10 und 11). Während der Furchungsvorgänge wird über die periphere Seite der Blastomeren Eiklar als Nahrungsquelle aus dem perivitellinen Raum durch Pinocytose ins Zellinnere aufgenommen. Dabei werden von der Zelloberfläche Vakuolen ins Cytoplasma hinein abgeschnürt. Die nach Abschluss der Furchung folgende Bildung der Keimblätter (Ektoderm, Entoderm, Mesoderm) und die Differenzierung der Gewebe und Organe bleiben der direkten Beobachtung weitgehend verborgen. Ihre Analyse erfordert die aufwändige Herstellung von Mikrotomschnitten. Doch auch die äußerlich sichtbaren Veränderungen des Keims sind aufschlussreich, so dass sich eine weitere Verfolgung der Vorgänge lohnt.

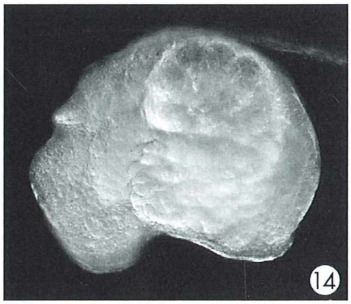
Gastrulation und Keimblattbildung

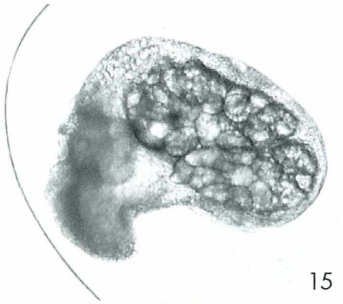
Die Gastrulation, die sich an die Entwicklung der Blastula anschließt, führt durch Einstülpung (Invagination) von Zellmaterial des vegetativen Bereichs zur Bildung des Entoderms, aus dem sich die Darmanlage entwickelt. Die bei der Einstülpung entstehende Öffnung wird Blastoporus genannt, der sich letztendlich zur Mundöffnung differenziert (Abb. 12 und 13). Der Keim, der bei der Gastrulation entstanden ist, wird als Gastrula bezeichnet. Bis zu diesem Zeitpunkt sind seit der Befruchtung etwa 25–30 Stunden vergangen, wobei der Keim an Größe annähernd gleich geblieben ist. Die Ernährung des Keims erfolgt während der Gastrulation peripher über alle Ektodermzellen sowie peroral durch den Blastoporus über die in-

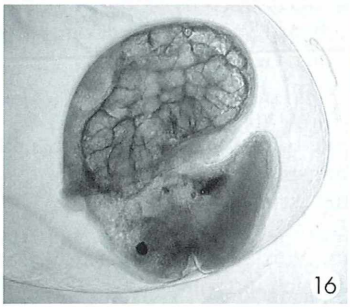
vaginierten entodermalen Darmanteile. Auch hier wird durch Pinocytosevorgänge Eiklar über Abschnürung von Vakuolen ins Zellinnere transportiert. Nach der Gastrulation beginnt die Zellkugel sich erheblich zu vergrößern. Der Beginn dieses Entwicklungsabschnitts ist daran erkennbar, dass der Keim zu rotieren anfängt, zunächst in langsamer, nach einiger Zeit in schneller Umdrehung. Angetrieben wird diese Bewegung durch zahlreiche Cilien auf der Oberfläche des Keims, die nur bei starker Vergrößerung (etwa 500fach) besonders gut im Phasenkontrast erkennbar sind. So rollt der Keim durch den perivitellinen Raum.

Postgastruläre Entwicklung zur schlüpfreifen Schnecke

Im Verlauf des zweiten Tages beginnt sich die Morphologie des Keims zu ändern. Zwei Bereiche können unterschieden werden, nämlich ein lappenartiger Fortsatz, der sich zum Fuß entwickeln wird, und ein schaumig wirkender Bereich mit Dottermaterial, der so genannte Dottersack, aus dem der Eingeweidesack der Schnecke hervorgehen wird. In den folgenden 2–3 Tagen nimmt der Embryo an Größe zu, wobei sich die Fußanlage besonders hervorhebt (Abb. 14 und 15). Als augenfällige Organent-







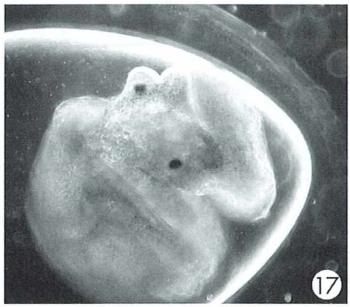
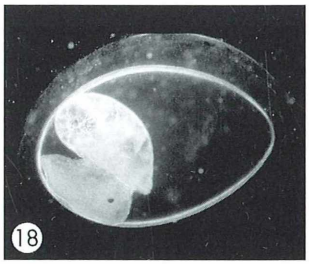
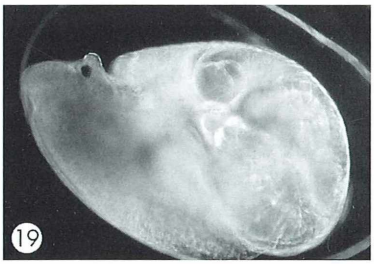


Abb. 14: Postgastruläres Stadium mit Fußlappen (links) und schaumig strukturiertem Dottersack (rechts). Dunkelfeld, Vergr. 140fach. – Abb. 15: Fuß und Eingeweidesack vergrößern sich stark. Durchlicht, Vergr. 80fach. – Abb. 16: Die Körpergliederung in Fuß, Kopf mit Augen (schwarzer Punkt) und Eingeweidesack, vom napfförmigen Gehäuse umhüllt, ist gut zu erkennen. Durchlicht, Vergr. 80fach. – Abb. 17: Blick auf die Kopfregion: Neben den Augen entwickeln sich die Fühler als kleine Ausstülpungen. Dunkelfeld, Vergr. 80fach.





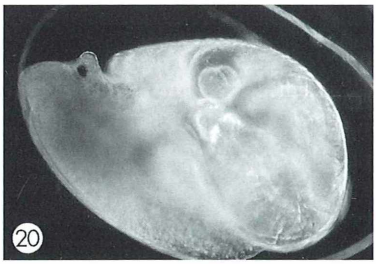


Abb. 18: Um den 7. Tag der Entwicklung nimmt die Schnecke etwa die Hälfte des Eivolumens ein. Dunkelfeld, Vergr. 25fach. – Abb. 19 und 20: An inneren Organen ist das Herz als pulsierender Beutel in der Pericardialhöhle dicht unter dem Gehäuserand (oben) zu sehen. Abb. 19: Diastole, Abb. 20: Systole. Dunkelfeld, Vergr. 50fach.

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

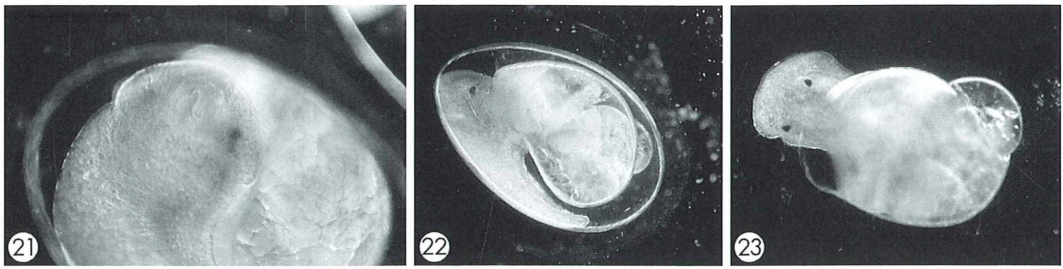


Abb. 21: Blick auf die Mundöffnung an der Unterseite des Kopfes. Die Ernährung erfolgt jetzt ausschließlich durch den Mund. Dunkelfeld, Vergr. 80fach. – Abb. 22: Die schlüpfreife Jungschnecke füllt das Ei fast vollkommen aus. Dunkelfeld, Vergr. 30fach. – Abb. 23: Geschlüpfte Jungschnecke. Dunkelfeld, Vergr. 30fach

wicklung im Inneren des Embryos lässt sich jetzt das pulsierende Herz beobachten, ein bläschenförmiger Beutel, der sich gleichförmig kontrahiert und wieder ausdehnt. Auch in der weiteren Entwicklung bleibt das Herz durch seine pulsierende Aktivität das markanteste Gebilde unter den inneren Organen (Abb. 19 und 20). Die Differenzierung der anderen inneren Organe entzieht sich weitgehend der unmittelbaren Beobachtung. Dagegen lassen sich leicht täglich neue Veränderungen an der äußeren Morphologie des Embryos feststellen. Um den Eingeweidesack entwickelt sich das Gehäuse. Am Fuß setzt sich der Kopfbereich mit Fühlern und Augen an deren Basis ab (Abb. 16 und 17). Die Form des Embryos ähnelt bereits stark einer Schnecke. In dieser Entwicklungsphase geht die rotierende Bewegung in eine kriechende Fortbewegung über (Abb. 18). Beim Blick auf die Kriechsohle des Fußes ist am Vorderende die Mundöffnung zu erkennen, die sich in typischer Weise öffnet und schließt. In der postgastrulären Entwicklung ernährt sich der Embryo allein peroral durch die Mundöffnung (Abb. 21). Bei stärkerer Vergrößerung ist bereits die Bezahnung der Radula zu sehen. Gegen Ende der Embryonalentwicklung füllt die Jungschnecke fast den gesamten Innenraum des Eies aus, den sie in unermüdlich kriechender Bewegung durchwandert (Abb. 22). Um den zwölften Tag herum schlüpfen die etwa 1 mm großen Schnecken aus dem Ei (Abb. 23).

Literaturhinweise

De Robertis, E. M., Oliver, G., Wright, C. V. E.: Homöobox-Gene und der Wirbeltierbauplan. Spektrum der Wissenschaft, September 1990, 84–91.

Fioroni, G.: Allgemeine und vergleichende Embryologie der Tiere. Springer Verlag, Berlin 1987.

Gering, W. J.: Die molekulare Grundlage der Entwicklung. Spektrum der Wissenschaft, Dezember 1985, 148–159.

Groepler, W.: Taschenatlas der Embryologie. Frankhsche Verlagshandlung, Stuttgart 1989.

McGinnis, W., Kuziora, M.: Kontrollgene für den Körperbauplan. Spektrum der Wissenschaft, April 1994, 38–45.

Nüsslein-Volhard, Chr.: Die Neubildung von Gestalten bei der Embryogenese von Drosophila. Biologie in unserer Zeit *24*, 114–119 (1994).

Nüsslein-Volhard, Chr.: Gradienten als Organisatoren der Embryonalentwicklung. Spektrum der Wissenschaft, Oktober 1996, 38–46.

Schierenberg, E.: Vom Ei zum Organismus. Die embryonale Entwicklung des Nematoden *Caenorhabditis elegans*. Biologie in unserer Zeit *17*, 97–106 (1987).

Wolpert, L.: Regisseure des Lebens. Das Drehbuch der Embryonalentwicklung. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 1993.

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

Gemeinsam können wir dazu beitragen, *dass Bergbau, Erdölförderung, Holzeinschlag nicht länger ganze Landstriche im Süden unserer Einen Welt zerstört und Menschen aus ihren traditionellen Siedlungsgebieten vertrieben werden.*

BROT FÜR DIE WELT _____ *Postbank Köln 500 500-500 BLZ 370 100 50*

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

Bildverarbeitung in der Mikroskopie – Teil 2

Norbert Lange

Im ersten Teil des Artikels wurde über Grundlagen und Programme für die Bildverarbeitung gesprochen. In diesem zweiten Teil soll etwas mehr auf verschiedene Techniken zur Bildverarbeitung eingegangen werden. An Beispielen soll aufgezeigt werden, was uns diese Methoden bringen und warum auch der Amateur davon profitieren kann. Natürlich kann dieses weit umfassende Thema in diesem Artikel nur sehr oberflächlich behandel werden; für weitergehende Studien sei die Literatur im Anhang empfohlen. Diese grundlegenden Techniken sind allgemeingültig und damit Programm übergreifend.

In der analogen wie auch der digitalen Fotografie gibt es eine Reihe verschiedener Bildfehler, von denen einige in beiden Versionen, andere bevorzugt in der einen oder anderen Variante vorkommen. Ein häufiger Fehler der analogen Fotografie sind so genannte Telegrafendrähte. Das sind horizontale Kratzer, die sich durch das gesamte Filmmaterial ziehen und durch Staubkörner im Kameragehäuse oder in der Entwicklungsmaschine hervorgerufen werden. Bei digitalen Aufnahmen können Störungen durch Fehler auf dem CCD-Chip entstehen, wenn zum Beispiel eine Diodenreihe ausgefallen ist. Computerchips können auch eine Quelle für Bildrauschen sein. In der herkömmlichen Fotografie können die Bilder retuschiert, einkopiert oder auf sonstige Weise bearbeitet werden. Ziel in der wissenschaftlichen Fotografie muss es sein, bei der Fehlerkorrektur so wenig Bildinformation wie möglich zu zerstören oder zu verändern, um den Wahrheitsgehalt unverändert zu belassen.

Higauss-Filter zum Schärfen

Die Aufnahmen können, speziell beim Scannen, an Schärfe verlieren und flau werden. Dadurch gehen kleine Details verloren oder sind schlecht zu erkennen. Solche Aufnahmen gewinnen an Qualität, wenn der Kontrast an den Kanten angehoben wird. Dies erreicht man durch ein so genanntes Higauss-Filter, vergleichbar mit der unscharfen Maske beziehungsweise Schärfen-Funktion in vielen Grafikprogrammen (Abb. 1 bis 6). Dieses Filter führt zu einer Schärfung der Bilder, gleichwohl kann diese Funktion aus unscharfen Bildern oder gar verwackelten Bildern keine scharfen Bilder machen. Diese Funktion sollte mit Vorsicht angewandt werden, da sie leicht zu zu harten Kontrasten führt und auch das Rauschen erhöht. Bei gescannten Bildern und Negativen ist sie fast unerlässlich, da es hierbei zu einem Verlust an Kantenschärfe kommt.

Medianfilter gegen Rauschen

Ein weiteres Problem bei Bildern und Videoaufnahmen kann das Rauschen sein, das die Qualität stark vermindert. Gerade elektronische Geräte neigen zum Rauschen. In der Astronomie versucht man dieses durch Kühlen des CCD-Chips zu verringern beziehungsweise durch hochwertige Elektronikbauteile zu minimieren. Es gibt aber auch Möglichkeiten, dies durch die nachträgliche Bildverarbeitung in den Griff zu bekommen. Dazu verwendet man den Medianfilter (Abb. 7 bis 10). Dieses Filter ersetzt das mittlere Pixel durch den Mittelwert der umliegenden Pixel. Dabei kann man das Ergebnis durch die Wahl der Matrixgröße aus welcher der Mittelwert gebildet wird beeinflussen. Nachteil dabei ist, dass das Bild etwas an Schärfe verliert.

Gamma-Einstellung zum Aufhellen und Abdunkeln

Ein Problem, das man häufig in der Fotografie unabhängig von analogen oder digitalen Verfahren findet, ist der Umstand, dass die hellen

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

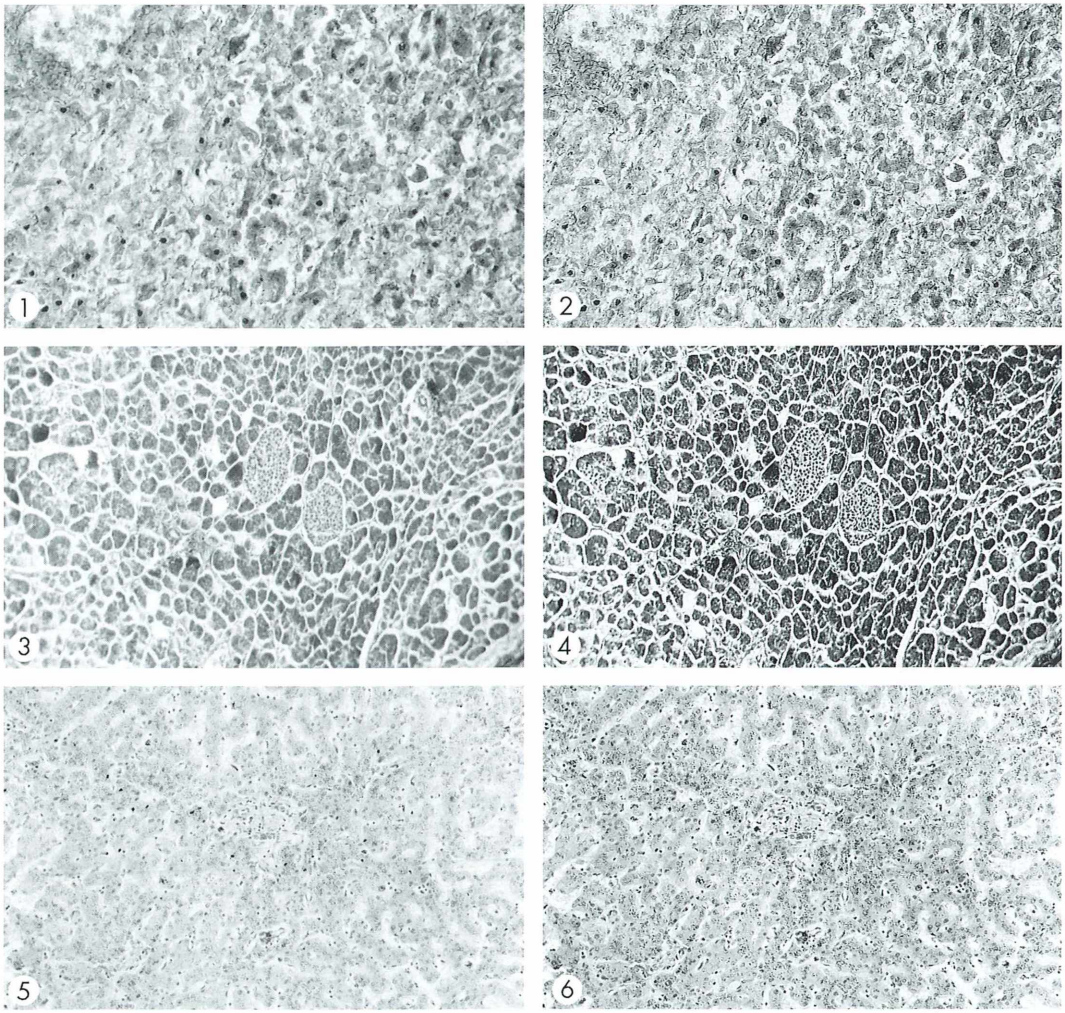


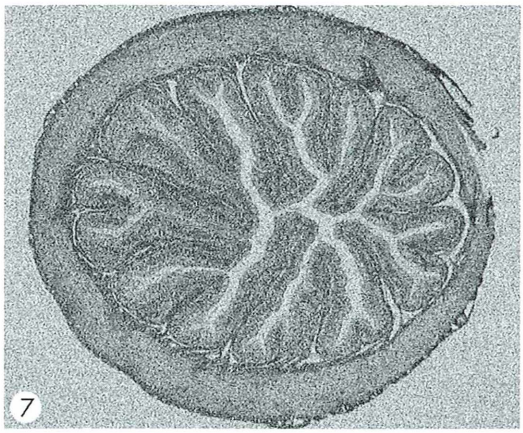
Abb. 1 und 2: Syphilis im Lungengewebe mit Spirillen des Erregers. – Abb. 3 und 4: Bauchspeicheldrüse mit Langerhans'schen Inselzellen. – Abb. 5 und 6: Hämosiderosis der Leber. Bei den Abbildungen 1, 3 und 5 sind die Konturen verschwommen; bei den entsprechenden Abbildungen 2, 4 und 6 sind die Konturen dagegen scharf und deutlich, so dass die Details besser zu erkennen sind.

Stellen im Bild zu hell und die dunklen zu dunkel sind. Würde man die Helligkeit erhöhen, käme das immer nur den dunklen Stellen zugute, und würde man sie verringern, käme dies nur den hellen Stellen zugute. Mittels der Gamma-Einstellung (Abb. 11 und12) kann man beides erreichen. Die dunklen Stellen im Bild werden aufgehellt und die hellen Stellen abgedunkelt. So ist es möglich aus sehr hellen beziehungsweise sehr dunklen Bereichen noch Informationen herauszuarbeiten, in denen man gar keine mehr vermutet hatte.

Konturfindung ähnelt Zeichnung

Die Funktion Konturfindung durchsucht das Bild nach Kanten, die dann nachgezeichnet werden (Abb. 13 und 14). Dadurch verschwindet der gleichförmige schwarze Hintergrund.

© Elsevier GmbH. Alle Re



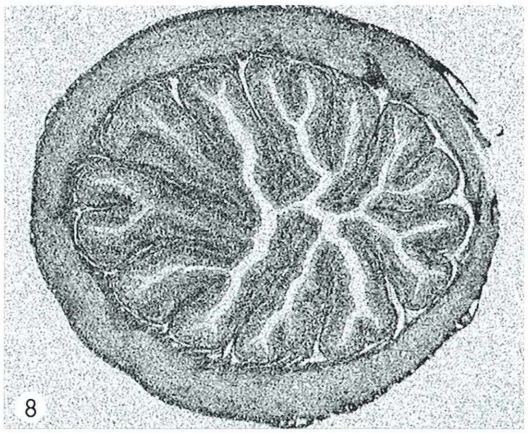


Abb. 7 und 8: Querschnitt durch den Darm. – Abb. 7: Das Bild ist völlig verrauscht und gibt kaum Details preis. – Abb. 8: Nach dem Anwenden des Medianfilters gibt das Bild erstaunlich viele Details wider. – Abb. 9 und 10: Röntgenographische Aufnahmen von Zähnen mit Plomben und einer Brücke. – Abb. 9: Man sieht eine starke vertikale Streifenbildung und im oberen schwarzen Bildbereich viele weiße Punkte als Bildstörungen. – Abb. 10: Nach Anwendung des Medianfilters sind sowohl die Linien als auch die störenden Punkte im oberen Bildteil verschwunden und neue Bilddetails werden sichtbar.

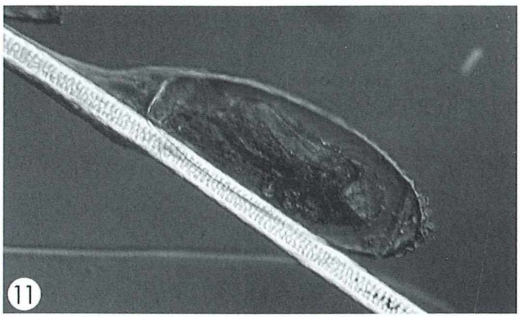
Die Struktur des Flügels wird wie mit einem Bleistift nachgezeichnet. Mittels dieser Funktion lassen sich Bilder in etwas Ähnliches wie Handzeichnungen umwandeln. Dies ist zwar kein Ersatz für echte Zeichnungen, in die ja oft Informationen einfließen, die aus zehn und mehr Bildern dieses Objektes gewonnen werden und dadurch erst ihren hohen Informationsgehalt erhalten, aber es ist durchaus eine Methode, um den Anschein einer Zeichnung zu vermitteln. Außerdem ist es mit dieser Methode möglich, Fotos in Konturbilder zu verwandeln, die als Strichzeichnungen vielfältige Anwendung finden können (z. B. als stilisiertes Logo oder einfach um wichtige Konturen hervorzuheben).

Hochpassfilterung und Reliefdarstellung

Weitere Möglichkeiten der Filterung sind die Hochpassfilterung (Abb. 15) und die Reliefdarstellung (Abb. 16). Die Hochpassfilterung verstärkt die hochfrequenten Anteile des Bildes. Dabei erfährt das jeweils zentrale Pixel einer Matrix eine deutliche Kontraststeigerung im Vergleich zu den benachbarten Pixeln. Das Hochpassfilter lässt nur Frequenzen mit hohem Kontrast unverändert. Der schwarze Hintergrund geht verloren.

Durch die Reliefdarstellung kann ein Pseudo-3D-Effekt erzielt werden. Der wissenschaftliche Wert ist zwar sehr gering, aber die Darstellung wird dadurch plastischer. Der Effekt ähnelt et-

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



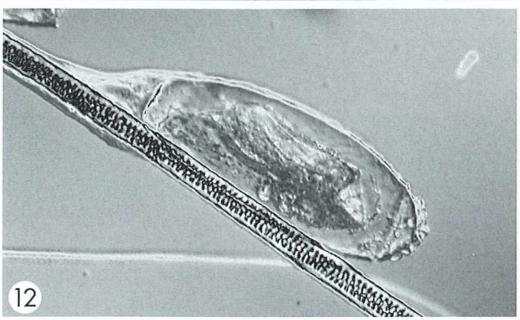
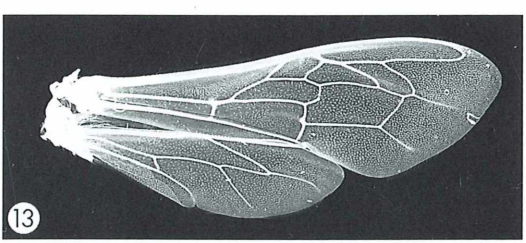


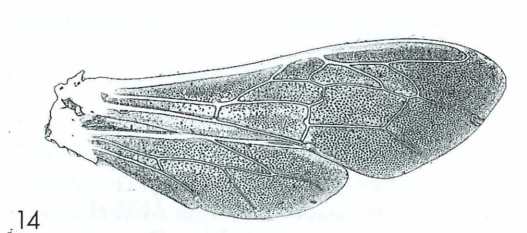
Abb. 11 und 12: Ei der Kopflaus, Nisse am Kopfhaar. – Abb. 11: Das Bild ist viel zu dunkel, während das Haar im DIK aufleuchtet. Ein Anheben der Helligkeit würde hier die Struktur des Haares völlig verschwinden lassen, nicht so die Gamma-Korrektur. – Abb. 12: Hier sind alle Bildteile gut zu erkennen.

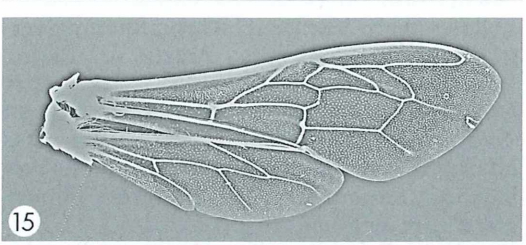
was den Aufnahmen eines Rasterelektronenmikroskops beziehungsweise des differentiellen Interferenzkontrastes. Es wird dadurch eine Höhenkarte gezeichnet, die nicht die tatsächlichen Höhen und Tiefen widerspiegelt, sondern durch die gefundenen Kanten bedingt ist.
Bei der lokalen Angleichung (Abb. 17 und 18) wird das Histogramm der jeweils um das zentrale Pixel herum angeordneten Pixel untersucht und auf das zentrale Pixel angewandt. Dadurch wird der Pixelkontrast stark angehoben und die Konturen treten deutlicher hervor. Der Effekt ist abhängig von der gewählten Matrixgröße, also von der Zahl der benachbarten Pixel, die in die Berechnung mit einbezogen werden.

Kanten- und Angleichungsfilter

Die vertikalen und horizontalen Kantenfilter (Abb. 19, 24, 31) suchen nach Kanten und heben sie hervor. Dadurch wird die Aufnahme zum einen plastischer, zum anderen dient der Filter vor allem dazu, solche Kantenstrukturen hervorzuheben und dadurch eventuell verborgene Strukturen besser sichtbar zu machen. Der Varianzfilter (Abb. 20) sucht nach Kanten und Mustern, um diese zu verstärken. Dieser Filter ermittelt die Standardabweichung der benachbarten Pixel und ersetzt damit das zentrale Pixel. Da die Blutkörperchen wenig Struktur







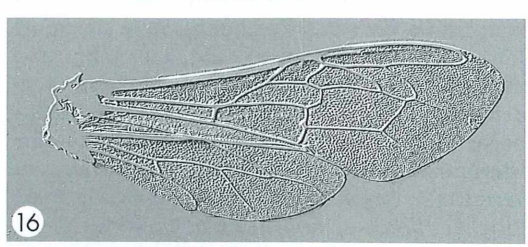
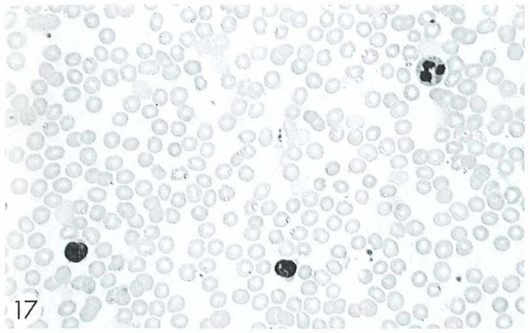
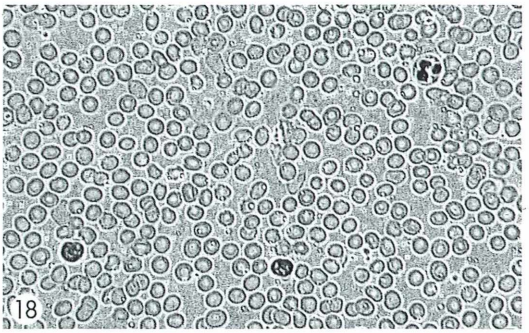
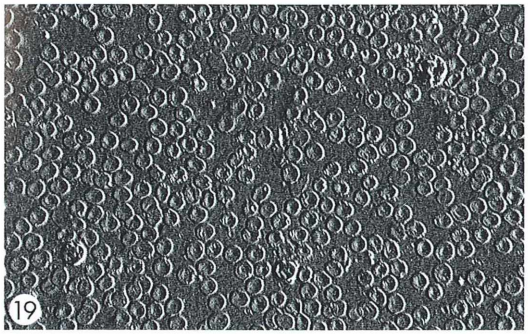


Abb. 13 und 14: Makroaufnahme eines Insektenflügels vor schwarzem Hintergrund (Abb. 13) und eine Demonstration der Funktion Konturfindung (Abb. 14). – Abb. 15: Insektenflügel mit Hochpass Filterung. – Abb. 16: Insektenflügel als Reliefdarstellung.

© Elsevier GmbH. Alle Re







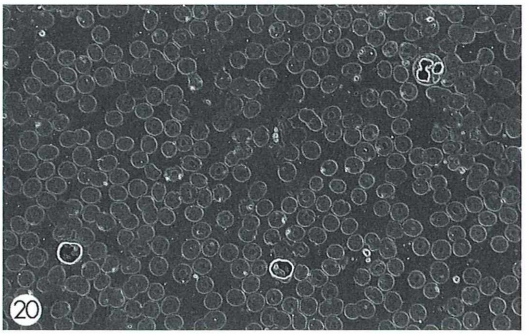
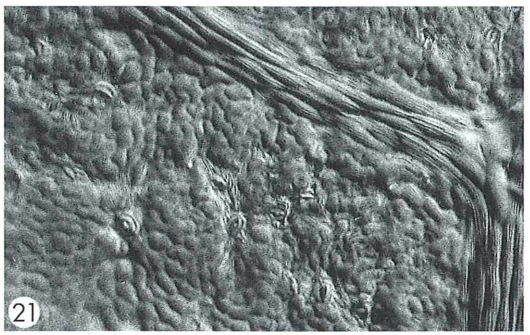


Abb. 17–20: Blutausstriche. – Abb. 17: Hellfeldaufnahme. – Abb. 18: Dieselbe Aufnahme mit erhöhtem Pixelkontrast dargestellte, basierend auf dem Histogramm der benachbarten Pixel. – Abb. 19: Der vertikale Kantenfilter sucht nach vertikalen Kanten und hebt diese hervor. – Abb. 20: Der Varianzfilter sucht Kanten und Muster und verstärkt diese.



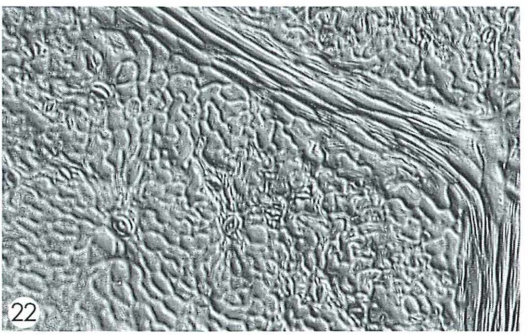


Abb. 21 und 22: Lackabdruck der Blattunterseite eines Weinblattes. – Abb. 21: DIK-Aufnahme. – Abb. 22: Dieselbe Aufnahme mit erhöhtem Pixelkontrast basierend auf dem Histogramm der benachbarten Pixel.

(Muster) aufweisen, können hier nur die Kanten verstärkt werden, allerdings auch die Kanten der Schmutzpartikel.

Der lokale Angleichungsfilter (Abb. 22) wirkt je nach Bildobjekt unterschiedlich. Im Fall des Lackabdruckes der Unterseite des Weinblattes wird die Struktur des Blattes und vor allem der Spaltöffnungen deutlich hervor gehoben. Das Bild wirkt gleichmäßiger, ohne allzu große Schattenbildung und zeigt die Details dadurch besser. In Abbildung 25 beim Lackabdruck des menschlichen Haares ist die Schuppenstruktur des Haares wesentlich deutlicher zu erkennen als im differenziellen Interferenzkontrast. Selbst der horizontale Kantenfilter (Abb. 24) zeigt diese Strukturen recht deutlich. Im Hell-

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

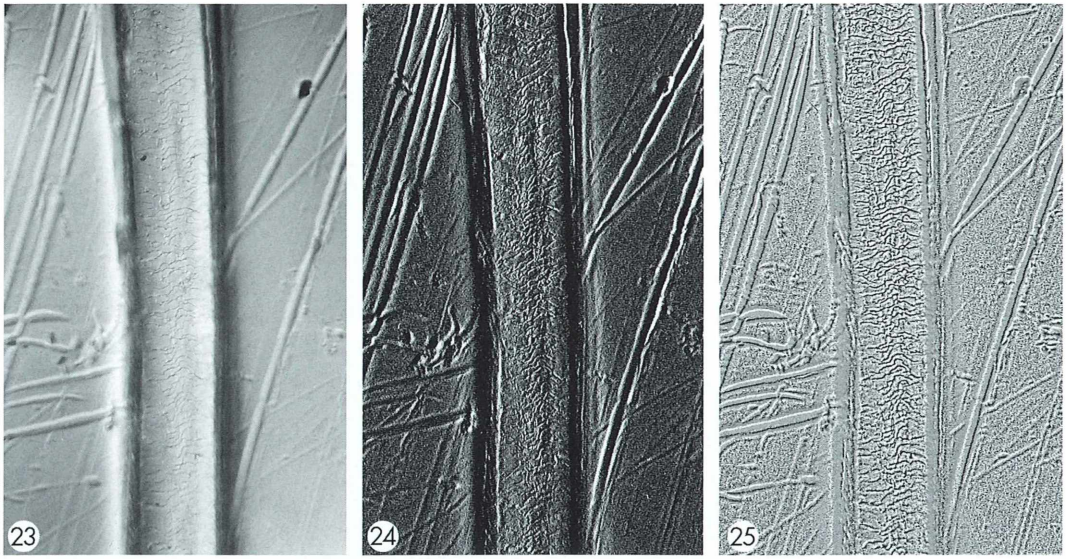


Abb. 23–25: Lackabdruck eines menschlichen Haares. – Abb. 23: DIK-Aufnahme. – Abb. 24: Horizontaler Kantenfilter sucht nach horizontalen Kanten und hebt diese hervor. – Abb. 25: Erhöhter Pixelkontrast basierend auf dem Histogramm der benachbarten Pixel.

Abb. 26–28: Epithelzellen aus der Mundschleimhaut im differenziellen Interferenzkontrast. – Abb. 26: Ohne Verarbeitung. – Abb. 27: Mit Higaus-Filter, um die Aufnahme zu schärfen und den Kontrast zu erhöhen. – Abb. 28: Mit erhöhtem Pixelkontrast basierend auf dem Histogramm der benachbarten Pixel.

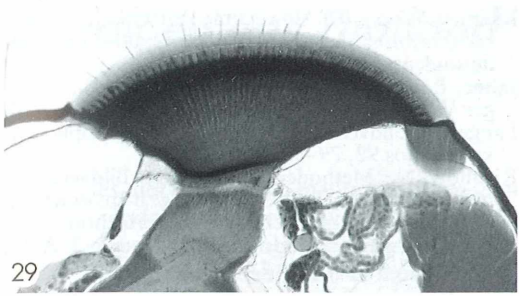
feld würde man bei den Lackabdrücken im durchsichtigen Lack nichts erkennen. Lediglich die schiefe oder die Rheinberg Beleuchtung könnten hier ein wenig Abhilfe schaffen. Diese Methoden der Bildverarbeitung sind also geeignet, solche latent vorhandenen Strukturen deutlich sichtbar zu machen.

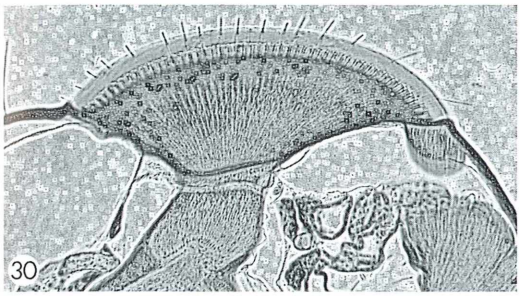
Alle diese Faltungsfilter (engl. Convolution) müssen vorsichtig gewählt und die Ergebnisse sorgfältig geprüft werden. Nur allzu leicht kann man Artefakte falsch deuten, wenn zum Beispiel unbedeutende Objekte wie Fremdkörper stark in den Vordergrund treten oder Erhebungen erscheinen, die in Wirklichkeit flächig sind. So leistungsfähig diese Filter auch sein mögen, ist es gefährlich, sie ohne ausreichendes Wissen über ihre Wirkweise zu verwenden und die Ergebnisse ohne ausreichende Prüfung zu übernehmen.

Mundschleimhautzellen und Bienenauge vor und nach Bildverarbeitung

Im Fall der Epithelzellen aus der Mundschleimhaut (Abb. 26) wird der Vorteil der Bildverarbeitung noch einmal recht deutlich. Auch hier

© Elsevier GmbH. Alle Re





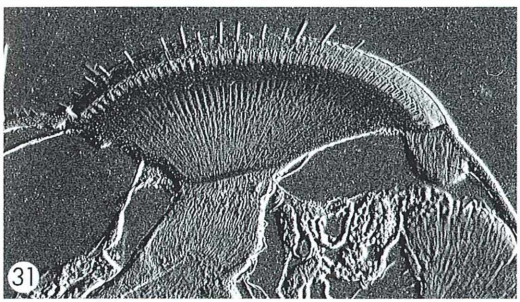


Abb. 29–31: Auge der Biene quer. – Abb. 29: Hellfeldaufnahme. – Abb. 30: Mit erhöhtem Pixelkontrast basierend auf dem Histogramm der benachbarten Pixel. – Abb. 31: Vertikaler Kantenfilter sucht nach vertikalen Kanten und hebt diese hervor.

handelt es sich um ungefärbte Zellen, die im Hellfeld kaum Strukturen erkennen lassen (Ähnliches gilt für Protozoen). Lediglich der differenzielle Interferenzkontrast kann hier etwas Abhilfe schaffen, aber auch diese Ergebnisse sind noch zu verbessern. Abbildung 27 zeigt das Ergebnis des Higaus-Filters. Hier sind der Kontrast verbessert und die Kantenschärfe erhöht. Trotzdem ist das Bild noch ungleichmäßig ausgeleuchtet und die Zellkerne sind nur ungenügend zu erkennen. Nach Anwendung des lokalen Ausgleichsfilters ist das Bildfeld gleichmäßig ausgeleuchtet und die Konturen der Zellen wie der Zellkerne treten deutlich hervor (Abb. 28). Diese Bildverbesserung lässt sich mit allen ähnlich aufgebauten Bildern erzielen.

Abbildung 29 zeigt den Querschnitt eines Bienenauges im Hellfeld. Innerhalb des Auges und des Sehnervs wirkt das Bild flau und zeigt wenig Struktur. Der lokale Angleichungsfilter (Abb. 30) zeigt hier schon wesentlich mehr Details, speziell im Bereich des Facettenauges. Ebenfalls feine Details zeigt hier der Varianzfilter. Während er bei den Blutkörperchen aufgrund des fehlender Musters (Feinstruktur des Objektes) nicht viele neue Informationen zeigen konnte, kommt hier die Feinstruktur des Facettenauges und des Sehnervs voll zur Geltung. Auch andere Bereiche wie die der borstenartigen Sinneszellen auf dem Auge, treten deutlich hervor. Nachteil der Methode ist, dass das Hintergrundbild (ähnlich dem Dunkelfeld) nicht gleichmäßig ist, sondern jedes Stäubchen und jeder Bildfehler deutlich hervortreten. Die Fehler des Hintergrundes lassen sich aber verschmerzen, da sie nach einer Retusche völlig verschwinden.

Falschfarben versus Schwarzweißbilder

Eine andere in der Wissenschaft häufig angewendete Methode ist die der Falschfarben. In vielen Bereichen wie der Elektronenmikroskopie, Röntgenografie, Aufnahmen von Raumsonden und so weiter werden nur schwarzweiße Bilder erhalten. Nun kann das menschliche Auge zwar an die 17 Millionen Farbwerte unterscheiden, aber nur verhältnismäßig wenige Graustufen. Deshalb werden diese Bilder gerne eingefärbt, wobei die Wahl der Farben dem Einzelnen selbst überlassen bleibt. Dabei werden die Graustufen Farbwerten zugeordnet und dadurch für den Betrachter besser unterscheidbar.

Ausblick

Die hier vorgestellten Methoden können natürlich nur ein kleiner Abriss dessen sein, was im Bereich der wissenschaftlichen Bildverarbeitung möglich ist. Ganz ausgenommen, weil für den Mikroskopiker weniger interessant, sind die Bereiche der Bilderkennung und logischen Bildauswertung. Weiterhin sollen hier nicht die vielfältigen Methoden der Vermessung in Länge

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

und Volumen beziehungsweise Anzahl an Teilchen besprochen werden. Andere Methoden sind zum Beispiel aus einem Stapel von Schnittbildern ein Bild in der senkrechten Achse zu den gescannten Bildern zu berechnen. Es kann an dieser Stelle nur dazu ermutigt werden, selbst auf diesem Gebiet zu experimentieren und eigene Erfahrungen zu sammeln.

Literaturhinweise

Abmayr, W.: Einführung in die digitale Bildverarbeitung. Teubner Verlag, Stuttgart 1994.

Internet: Skripte der Universität Dortmund, Fachbereich Informatik: http://ls7-www.cs.uni-dortmund.de/students/lectures/dbv

Jähne, B.: Digitale Bildverarbeitung. 4. Aufl., Springer Verlag, Berlin 1997.

Lange, N.: Bildverarbeitung in der Mikroskopie. Mikrokosmos 92, 79–82 (2003).

Richnow, N.: Methoden der digitalen Bildverarbeitung, Teil A: 04. Bildverbesserung: http://www.cs.uni-magdeburg.de/~richnow/A04Verbe.htm

Wahl, F. M.: Digitale Bildsignalverarbeitung. 2. Aufl., Springer Verlag, Berlin 1989.

Verfasser: Dr. Norbert Lange, Idsteiner Str. 36, D-57074 Siegen, e-mail: norbert.lange@gwu.net

Nachricht

Ausstellung Mannometer: Nanometer! Ein Lernprojekt mit der Bezirksregierung Köln im Deutschen Museum Bonn

Alles nano, oder was? Dies können sich in Zukunft Schüler und Lehrer im Deutschen Museum Bonn (DMB) fragen. Schon lange vor Bekanntgabe der PISA-Studie setzten sich unter Leitung der Bezirksregierung Köln/Obere Schulaufsichtsbehörde engagierte Lehrer und das DMB zusammen, um nach Wegen aus der Bildungsmisere zu suchen. Am 19. März wurde dann schließlich das Resultat dieser gemeinsamen Anstrengungen der Öffentlichkeit vorgestellt: Die Lernstation *Mannometer: Nanometer!*
Der Nanokosmos (griechisch nanos = Zwerg), die Welt der allerkleinsten Teilchen, ist nicht nur faszinierend, sondern auch zukunftsträchtig. Die Nanotechnologie erlaubt das Sichtbarmachen und Bearbeiten von kleinsten Teilen der Materie. Ihre Bedeutung wird in den kommenden Jahren und Jahrzehnten noch deutlich zunehmen. Der Besuch im DMB soll fortan junge Menschen frühzeitig mit dieser wichtigen Zukunftstechnologie vertraut machen und ihr Interesse an eigener wissenschaftlicher Erkenntnis wecken. Die Konzeption der Lernstation soll helfen, dieses ambitionierte Ziel zu erreichen. Bewährte Elemente der schulischen und museologischen Didaktik gehen dabei eine synergetische Verbindung ein.
Ausstellungstexte und Exponate erläutern anschaulich verschiedene Aspekte der Nanotechnologie. Im Zentrum steht dabei das Rastertunnelmikroskop, mit dem erstmals Atome sichtbar gemacht wurden. Aber auch eigenes Experimentieren steht auf dem Lehrplan im DMB. Die Schüler können beispielsweise an einem rechnergestützten Rastertunnelmikroskop die atomare Struktur verschiedener Oberflächen untersuchen und damit eigene Einblicke in den Nanokosmos gewinnen. Vernetztes Arbeiten an Computerstationen ermöglicht es, Versuchsergebnisse miteinander auszutauschen und zu analysieren. Per e-Mail können die gewonnenen Daten auch zur Weiterbearbeitung in die jeweilige Schule gesendet werden. Speziell entwickelte Arbeitsblätter für die einzelnen Themenbereiche der Lernstation unterstützen die Vertiefung der Ausstellungsinhalte. Über das eigene Internetportal *www.mannometer-nanometer.de* stehen diese Arbeitsblätter nach Anmeldung zur didaktischen Vorbereitung des Museumsbesuches für Lehrer und Schüler zum Abruf bereit. Links zu neuesten Entwicklungen der Nanotechnologie runden dieses virtuelle Begleitangebot inhaltlich ab.

Deutsches Museum Bonn im Wissenschaftszentrum,
Ahrstraße 45, D-53175 Bonn,
Tel.: 02 28/30 22 55, Fax: 02 28/30 22 54,
e-Mail: info@deutsches-museum-bonn.de
http://www.deutsches-museum-bonn.de

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

Zieralgen aus Thailand

Rupert Lenzenweger

Es gibt bekanntlich mehrere Gründe, einen Urlaub in Thailand zu verbringen, der absonderlichste aber ist wohl der, wegen der Algen dieses ferne Land zu besuchen. Gelegentliche Anfragen um Hilfestellung beim Bestimmen von Zieralgen seitens von Studenten des *Department of Biology* der Universität Chiang-Mai in Nordthailand führten zu brieflichen Kontakten und im vergangenen Jahr letztendlich zu einem Besuch des dortigen Institutes. Dadurch bot sich für mich die einmalige Gelegenheit, unter geländekundiger Führung zahlreiche Algenproben aus Gewässern unterschiedlichen Charakters zu sammeln.

Als solche boten sich neben künstlich aufgestauten Reservoirs auch natürliche Kleinseen mit Verlandungszonen, bewässerte Reisfelder und die Becken für Wasserpflanzen in Botanischen Gärten an. Durch die Untersuchung dieser Proben bekam ich einen kleinen Einblick in den enormen Formenreichtum der Zieralgenflora Südostasiens. Die beiden Bildtafeln mögen eine bescheidene Vorstellung davon übermitteln. Die Zusammensetzung des Artenspektrums lässt übrigens darauf schließen, dass dieses einer so genannten indomalayischen-nordaustralischen Desmidiaceenflora zugeordnet werden kann, wobei speziell die Gattung *Staurastrum* mit zahlreichen Arten vertreten ist, die sich ganz besonders durch bizarre Formen mit oft ungewöhnlich langen Fortsätzen auszeichnen.

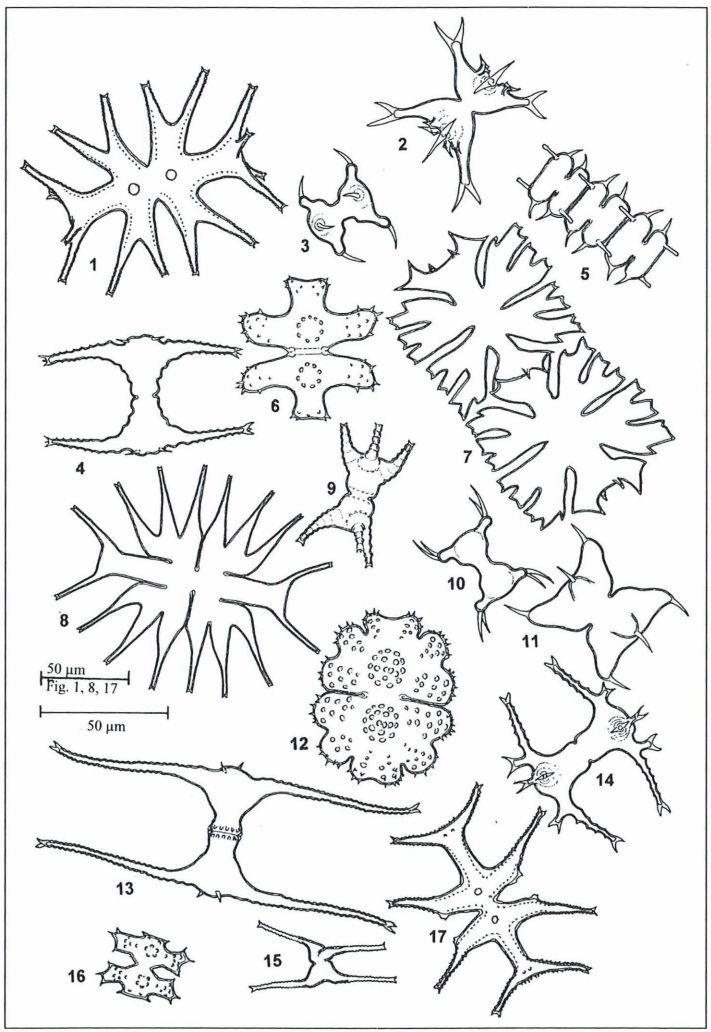
Zwar fanden sich in den Proben vereinzelt auch in unseren Breiten vorkommende Arten, von denen man annimmt, dass sie weltweit verbreitet sind (Kosmopoliten), der weitaus größte Teil aber sind Bewohner der Subtropen und als solche für uns ausgesprochene Exoten. In diesem Zusammenhang sollte erwähnt werden, dass aber auch in unseren Breiten mitunter Arten gefunden werden, die ursprünglich nur aus den warmen Klimazonen bekannt waren. Bemerkenswert ist wohl auch der Umstand, dass bei den Zieralgen in den Tropen und Subtropen, ganz im Gegensatz zu den höheren Pflanzen (Phanerogamen), bei denen ganze Gattungen oder gar Familien rein tropisch sind, von wenigen Ausnahmen abgesehen, die selben Gattungen vertreten sind wie in den gemäßigten und kalten Zonen.

Algenkundliches Neuland

Ist die höhere Vegetation dieser Gebiete weitestgehend bekannt und erforscht, kann davon bei den Algen wohl nicht die Rede sein. Es gibt zwar vereinzelte, lokal begrenzte Arbeiten auf diesem Gebiet, von einer repräsentativen Gesamtübersicht ist man aber aus verständlichen Gründen noch weit entfernt. Ältere Arbeiten basieren meist auf Aufsammlungen, die von Expeditionen mitgebracht wurden, während jüngere Publikationen hauptsächlich von einheimischen Doktoranden stammen oder im Rahmen irgend eines Projektes erstellt werden. Dies bedeutet einerseits eine dementsprechende Unsicherheit bei dem Versuch, exotische Desmidiaceen sicher zu bestimmen, andererseits ist dadurch aber auch die Chance geboten, algenkundliches Neuland zu betreten und damit verbunden die Möglichkeit, die eine oder andere Alge als Erstfund neu beschreiben zu können.

Reisen in fernste Länder sind heute ja fast schon zur Selbstverständlichkeit geworden und so möchte ich mit den Bildtafeln 1 und 2 interessierte Leser dazu ermuntern, im Urlaub zwischendurch einmal auch auf Algenjagd zu gehen. Vielleicht finden Sie dann in Ihren Proben die eine oder andere der auf den Tafeln abgebil-

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



Tafel 1: Zieralgen aus Thailand. 1 *Micrasterias mahabuleshwarensis*, 2 *Staurastrum freemanii* var. *evolutum*, 3 *Staurastrum unicorne* (Frontalansicht), 4 *Staurastrum nodulosum*, 5 *Onychonema laeve* var. *sumatranum*, 6 *Euastrum substellatum*, 7 *Micrasterias foliacea*, 8 *Micrasterias alata*, 9 *Staurastrum rectangulare*, 10 *Staurastrum unicorne* (Seitenansicht), 11 *Staurodesmus leptodermus* var. *subcorniculatus*, 12 *Euastrum spinulosum*, 13 *Staurastrum leptocladum* var. *cornutum*, 14 *Staurastrum* spec., 15 *Staurastrum excavatum* var. *minimum*, 16 *Euastrum diplostauron*, 17 *Micrasterias tropica* var. *polonica*.

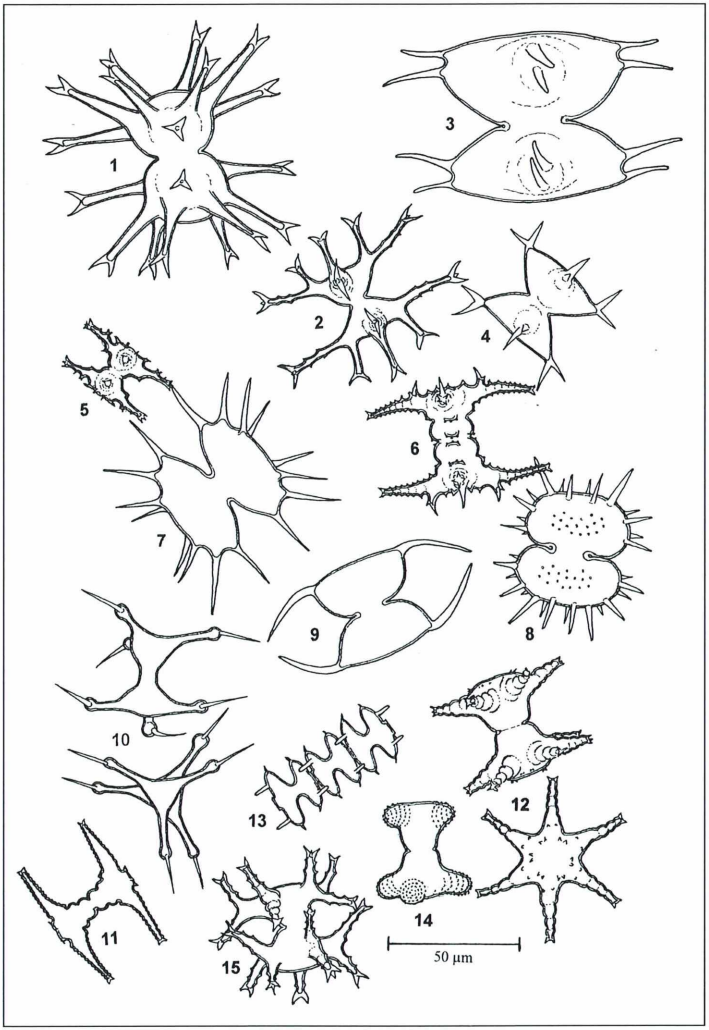
deten Arten. Es ist dabei gar nicht so wichtig, von jeder Alge den wissenschaftlichen Namen zu kennen, es genügt schon die Freude am Betrachten dieser schönen Formen. Wegen der meist hohen Temperaturen in diesen Ländern ist es aber ratsam, die Proben entweder erst wenige Tage vor Antritt der Heimreise zu sammeln oder zu konservieren. Dazu genügt es, den Proben einige Tropfen Formalin beizumengen. Wenn solches nicht verfügbar ist, tut es auch ein wenig Alkohol von einem harten Getränk aus der Strandbar.

Abschließend möchte ich es nicht versäumen, mich bei Frau Prof. Dr. Peerapornpisal und ihren Studenten von der Universität Chinag-Mai für die herzliche Gastfreundschaft zu bedanken.

Literaturhinweise

Croasdaleh, H., Scott, A. M.: New or otherwise interesting desmids from Northern Australia. Nova Hedwigia 27, 501–596 (1976).

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



Tafel 2: Weitere thailändische Zieralgen. 1 *Staurastrum tohopekaligense*, 2 *Staurastrum rosei* var. *stemmatum*, 3 *Staurastrum longispinum*, 4 *Staurastrum ensiferum*, 5 *Staurastrum galeatum* var. *reductum*, 6 *Staurastrum javanicum* var. *apiculiferum*, 7 *Xanthidium hastiferum*, 8 *Xanthidium acanthophorum* var. *raciborskii*, 9 *Staurodesmus curvatus* var. *latus*, 10 *Staurastrum unicorne* var. *longicolle*, 11 *Staurastrum indentatum*, 12 *Staurastrum pinnatum* var. *subpinnatum* f. *robustum*, 13 *Onychonema laeve* var. *constrictum*, 14 *Staurastrum disputatum* var. *sinense*, 15 *Staurastrum sexangulare*.

Islam, A. K. M.: Contributions to the knowledge of desmids of Pakistan. Nova Hedwigia *20*, 903–983 (1970).
Krieger, W.: Die Desmidiaceen der Deutschen Limnologischen Sunda-Expedition. Archiv für Hydrobiologie, Suppl. *11*, 129–230 (1932).
Ling, H. U., Tyler, P. A.: A limnological survey of the Alligator Rivers Region. Austral. Government Publ. Service Canberra *3*, 1–173 (1986).
Scott, M. A., Prescott, W.: Indonesian desmids. Acta Hydrobiologia. *17*, 1–2 (1961).
Skuja, H.: Zur Süßwasserflora Burmas. Nov. Act. Reg. Soc. Sci. Upsaliensis *4*, (1949).
Yamagishi, T., Kanetsuna, Y.: The planktonic Chlorophyceae from Lake Boraphet (the Central Plain, Thailand). General Educ. Rev. Nihon Univ. *23*, 19–38 (1987).

Verfasser: Prof. Rupert Lenzenweger, Schloßberg 16, A-4910 Ried/Innkreis, e-mail: prof.r.lenzenweger @utanet.at

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

Kurze Mitteilung

Membranfusion

Die intrazelluläre Verschmelzung von Membranen spielt in der Zelle eine wichtige Rolle. Zahlreiche Membransysteme sind diskrete Organellen mit speziellen Funktionen, bei denen Membranfusionen stattfinden. So erfordern zahlreiche lebenswichtige Vorgänge wie der Transport von sekretgefüllten Vesikeln, Signalübertragung, Ausschüttung von Verdauungsenzymen und Membranwachstum das Verschmelzen von Membranen. Die Kenntnis der dabei beteiligten Moleküle und der Reaktionsmechanismen ist für das Verständnis von entscheidender Bedeutung. Diese intrazelluläre Membranfusion und die Vesikelbildung sind Forschungsschwerpunkte einer Gruppe unter Leitung von PD Dr. Andreas Mayer am Friedrich-Miescher-Laboratorium der Max-Planck-Gesellschaft in Tübingen (Jahrbuch 2002 der MPA, München, Seite 158–160).

Die Fusion von Membranen erfordert, dass sich die Membranen gegenseitig erkennen. Nach dieser spezifischen Erkennungsreaktion erfolgt eine gegenseitige Anheftung und schließlich die Verschmelzung der Lipid-Doppelschichten. An der intrazellulären Fusionsreaktion sind Proteine beteiligt. Es gelang, niedermolekulare Hemmstoffe zu finden, welche die Membranverschmelzung blockieren. Mit deren Hilfe konnte man die Proteine isolieren, welche an der Membranverschmelzung beteiligt sind. Es handelt sich dabei um Lipoproteide – also um Eiweiße mit einem Fettanteil – mit ungewöhnlichen Eigenschaften. Die Wechselwirkung der Proteolipidkomplexe wird durch zwei Faktoren gesteuert:

1. durch einen Kalziumstrom aus dem Lumen des Organells, der durch Calmodulin (ein Kalziumregulatorprotein) und einem Enzym, nämlich eine Phosphatase, erkannt und umgesetzt wird. Der Kalziumstrom wird durch Fusionsproteine ausgelöst, die auf einen bislang noch nicht identifizierten Kalziumkanal wirken.
2. durch einen Komplex von integralen Membranproteinen, welche die Proteolipid-Kanäle physisch und funktionell an den Fusionsfaktor koppeln. So kommt dann die Dimerisierung der Proteolipid-Kanäle zustande: Zwei hexamere Proteolipid-Ringe aus den einander gegenüber liegenden Membranen bilden dabei einen durchgehenden Kanal (Abb. 1), in dessen Zellraum eine hydrophile Pore gebildet werden kann. Dies ist dann das letzte fassbare Zwischenstadium vor der Membranverschmelzung. Dieses neue Modell eines hexameren (sechszähligen) Kanals gestattet es, dass durch Auseinanderweichen seiner Untereinheiten Lipide in den entstandenen Zwischenraum eindringen können. Die hydrophilen (wasserliebenden) Kopfgruppen sollten dabei dem hydrophilen Zentrum der Proteolipidhexamere zugewandt sein. Durch einen membranspannenden und radial expandierenden, multimeren Kanal könnte damit der Lipidübergang zwischen den Membranen gefördert werden. Die Fusion der Membranen, also ihre Verschmelzung, kann so katalysiert werden.

H. F. Linskens, Nijmegen

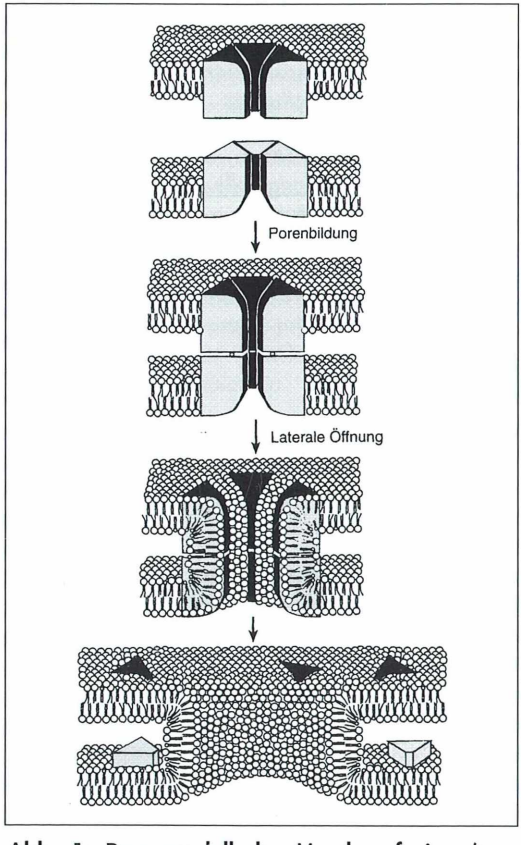


Abb. 1: Porenmodell der Membranfusion (aus Mayer, 2002).

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

Die sonderbaren Extrusomen der Microthoraciden (Ciliaten)

Klaus Hausmann und Renate Radek

In den Lehrbüchern der Protozoologie findet man weitreichende Informationen über die Extrusomen der Einzeller (ausschleuderbare Organellen) (Anderson, 1987; Grell, 1973; Hausmann und Hülsmann, 1996; Mehlhorn und Ruthmann, 1992; de Puytorac et al., 1987). Es werden auf Grund ihrer Struktur und Funktionsweise rund ein Dutzend verschiedener Typen unterschieden. Die Extrusomen der Microthoraciden, über welche dieser Bericht handelt, stellen insofern eine Besonderheit dar, weil sie sozusagen als ein Hybrid zwischen zwei verschiedenen Typen aufgefasst werden können, nämlich im weitesten Sinne als eine Kombinationsform von Trichocysten und Toxicysten.

Spontan fragt man sich, welche Funktion die besagten Extrusomen für den einzelligen Organismus haben. Generell kann man wohl festhalten, dass sie mehr oder minder der Feindabwehr und/oder dem Beuteerwerb dienen (Hausmann, 1978). Allerdings ist das nicht in allen Fällen klar belegt.

Die relativ schwer zu beantwortende Frage nach der biologischen Funktion soll jedoch im Folgenden nicht im Mittelpunkt der Betrachtung stehen. Es geht vielmehr darum, die zellbiologisch interessanten Vorgänge während des Abschusses der Extrusomen sowie die Analyse der Ultrastruktur und die der Veränderung dieser Organellen während der Expulsion genauer zu betrachten.

Alles hat seinen vorgegebenen Platz

Generell finden sich im ruhenden Zustand die Extrusomen an definierten Stellen im Rindenplasma (Cortex) der Einzeller, so auch bei *Pseudomicrothorax dubius* (Abb. 1) und *Drepanomonas dentata*, beides Vertreter der Ciliatenfamilie Microthoracidae (Eisler und Peck, 1998; Hausmann, 1979). Aufgrund elektronenmikroskopischer Untersuchungen weiß man ganz genau, wo diese Organellen angeordnet sind, nämlich in streng vorgegebenen Positionen unterhalb der längs verlaufenden Einfaltungen des Cortex, aus denen auch die der Fortbewegung dienenden Cilien entspringen (Abb. 1c und d). Im Polarisationsmikroskop sind die Extrusomen, um die es in diesem Bericht geht, besonders gut wegen ihrer prominenten Doppelbrechung zu erkennen (Abb. 1b). Dies ist schon ein Hinweis darauf, dass es sich um Organellen handelt, die eine hochgeordnete Molekularstruktur aufweisen.

Im elektronenmikroskopischen Präparat erscheinen die Microthoraciden-Extrusomen als im Querschnitt quadratische, spindelförmige Strukturen, die von vier schlauchartigen Elementen umgeben sind (Abb. 2a und b). Bei stärkerer Vergrößerung erkennt man im ruhenden Extrusom-Körper eine enge, aber deutlich sichtbare periodische Querstreifung, welche die kräftige Doppelbrechung im polarisierten Licht verursacht (Abb. 2c).

Wie erfolgt der Abschuss?

Eine der wichtigsten Fragen, die sich im Zusammenhang mit dem Abschuss von Extrusomen stellt, ist natürlich: Wie gelangen diese Organellen nach außen? Es kann ja nicht angehen,

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

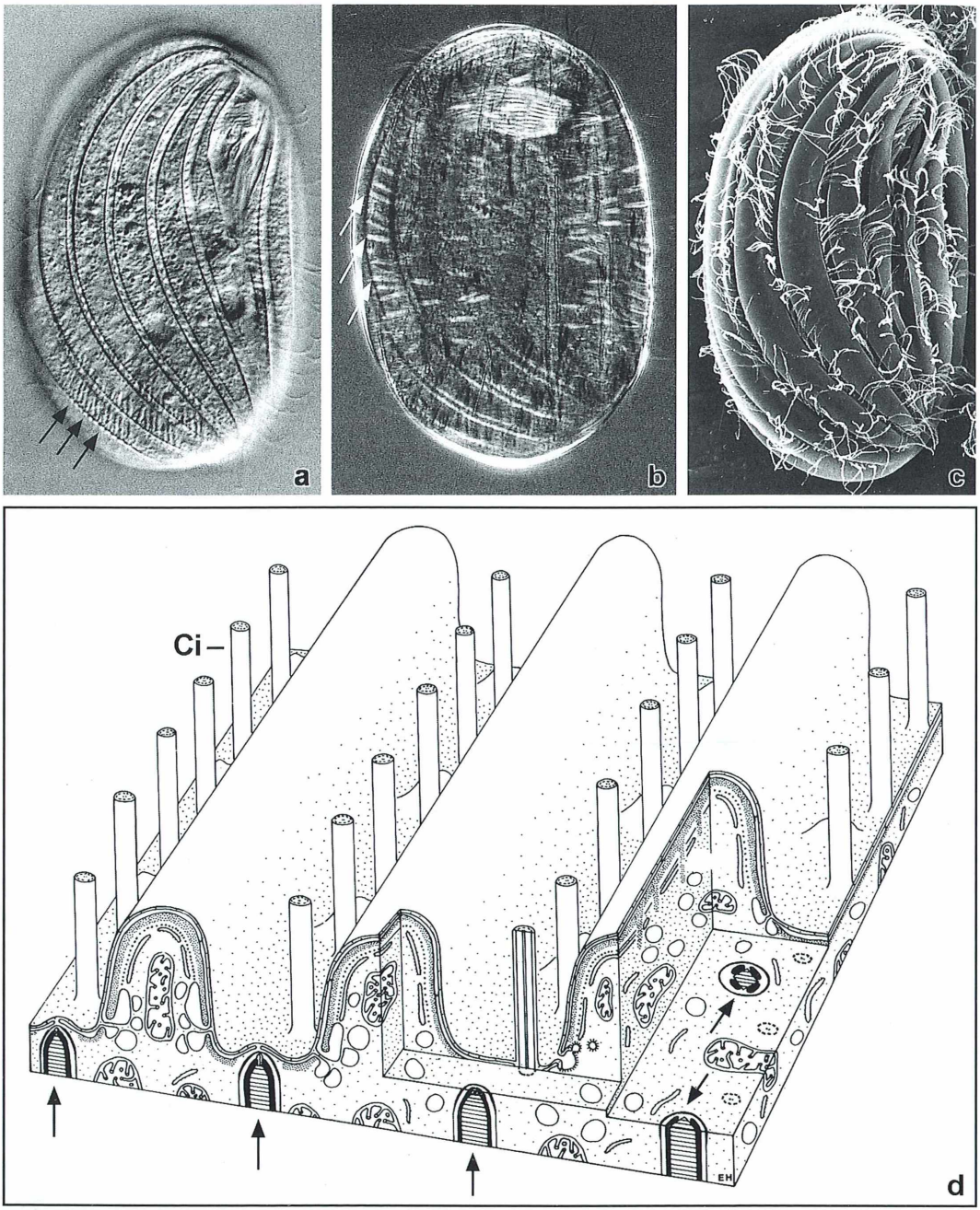


Abb. 1: Der Ciliat *Pseudomicrothorax dubius* im differentiellen Interferenzkontrast (a), im polarisationsmikroskopischen (b) und im rasterelektronenmikroskopischen Bild (c). In a und b sind die Extrusomen deutlich zu erkennen (Pfeile). Die auf elektronenmikroskopischen Dünnschnittuntersuchungen basierende dreidimensionale Rekonstruktion des Cortex lässt die regelmäßige Anordnung der Extrusomen im Wechsel mit den in Längsreihen angeordneten Cilien (Ci) erkennen (d, Pfeile) (d aus Hausmann, 1979). Vergr.: a–c 90×.

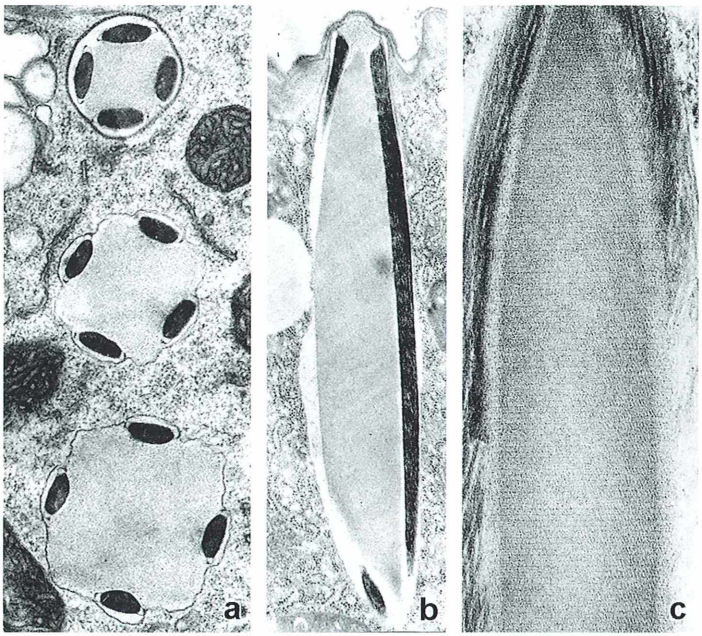


Abb. 2: Das ruhende Extrusom ist ein im Querschnitt quadratischer Körper (a), der von vier Schläuchen umgeben ist, welche, wie der Längsschnitt zeigt, dem Schaft eng anliegen (b). Bei höherer Vergrößerung erkennt man im Extrusom-Schaft eine periodische Querstreifung und in den Schläuchen röhrenförmige Untereinheiten (c). Vergr.: a und c 25.000×, b 16.000×.

dass der Cortex während der Extrusom-Abgabe im wahrsten Sinne des Wortes durchlöchert wird. Das wäre für den Einzeller katastrophal. Er würde sofort daran zugrunde gehen. Lichtmikroskopisch lassen sich diese Zusammenhänge nicht erklären.
Elektronenmikroskopische Untersuchungen haben gezeigt, dass ein Extrusom im Grunde genommen ein membranumgebenes Vesikel mit einem besonders geformten Inhalt ist, der in vielen Fällen während der Expulsion – bisweilen sogar blitzschnell – seine Struktur verändert. Diese Organellen liegen unmittelbar unter der Plasmamembran der Einzeller (Abb. 3a).
Bei Ciliaten ist in diesem Bereich das Alveolensystem unterbrochen, welches eine wesentliche Komponente des Cortex bildet (Abb. 3b und c) (Alveolen sind abgeplattete Vesikel unterhalb der Plasmamembran). Die Extrusom-Membran verschmilzt vor dem Abschuss des Vesikelinhalts innerhalb von Sekundenbruchteilen mit der den Einzeller umgebenden Plasmamembran (Abb. 3d). Somit ist eine geregelte, zerstörungsfreie Ausschleusung (Exocytose) des Extrusom-Inhalts gewährleistet. Dieser zunächst trivial erscheinende Membranfusionsprozess hat sich im molekularen Bereich als ein ausgesprochen komplizierter Vorgang herausgestellt, an dem eine Vielzahl von regulierenden Proteinen und Enzymen beteiligt ist (Plattner, 2002).
Die hier am Beispiel der Extrusomen der microthoraciden Ciliaten dargestellten Membranfusionsvorgänge spielen sich, um das nachdrücklich zu betonen, bei der Ausschleusung aller Extrusom-Typen ab.

Besonderheiten der Pseudomicrothorax dubius-Extrusomen: Zunächst der Schaft…

Das Besondere der Microthoraciden-Extrusome ist, wie eingangs erwähnt, deren Hybridstruktur: Ein periodisch quergestreifter, im Querschnitt im Gegensatz zu den kreisrunden *Paramecium*-Trichocysten quadratischer Trichocystenkörper trägt an seiner Spitze vier Schläuche, die dem Trichocystenschaft eng anliegen (Abb. 2a und b). Im ruhenden Zustand sind Schaft und Schläuche mehr oder weniger gleichlang. Der Schaft verändert sich während des Abschusses in charakteristischer Weise: Während sich die Anzahl seiner Querstreifen nicht ändert, vergrößert sich deren Periodenabstand. In dem Maße, wie der Periodenabstand zunimmt, verlängert sich der Schaft (Abb. 4a bis d). Ein abgeschossener Schaft ist mit 35 Mikrometern ungefähr 4,5-mal so lang wie die Ruheform.

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

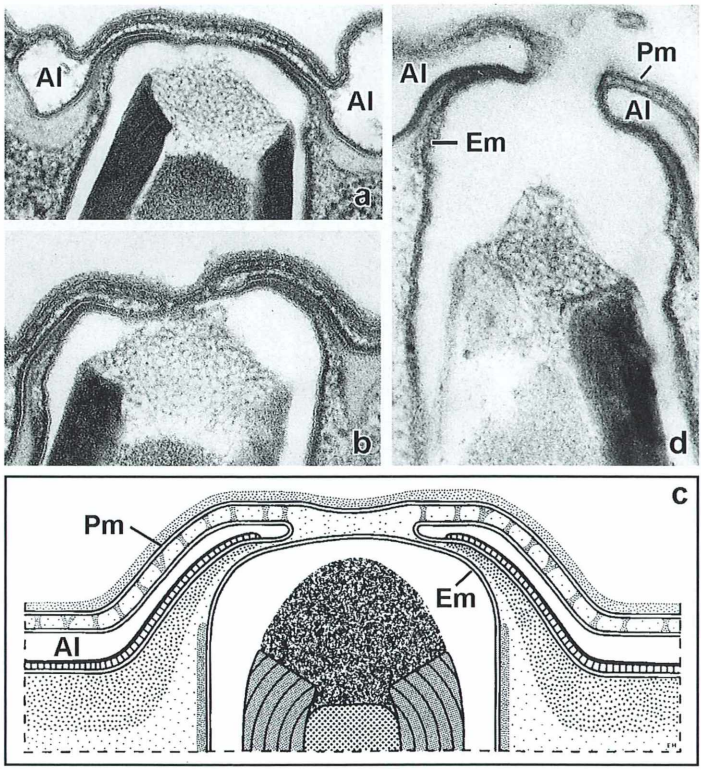


Abb. 3: Die Extrusomen sind unmittelbar unter der Plasmamembran angeordnet (a und b). Das Alveolensystem (Al) ist, wie eine auf elektronenmikroskopischen Dünnschnitten (a und b) basierende Rekonstruktion verständlich macht, an dieser Stelle unterbrochen (c). Unmittelbar vor dem Extrusom-Abschuss fusioniert die Extrusom-Membran (Em) mit der Plasmamembran (Pm; d). Vergr.: a 35.000×, b und c 40.000×.

Das ist eine Situation, wie man sie für den Schaft der Spindeltrichocysten, die beispielsweise in der *Paramecium*-Zelle zu Tausenden auftreten, kennt (Hausmann, 1978). Hier streckt sich beim Abschuss die ruhende Trichocyste allerdings um den Faktor 8, wobei sich natürlich der Periodenabstand der Querstreifung ebenfalls um den Faktor 8 vergrößert. Die blitzschnell erfolgende Trichocystenexpulsion wird als die mehr oder minder augenblickliche Streckung eines im ruhenden Zustand vorgegebenen, dreidimensionalen Knüpfwerks von Proteinfäden interpretiert (Hausmann, 1978). Dieses Knüpfwerk, das man in vergleichbarer Weise auch bei den Microthoraciden-Extrusomen vorfindet, ist höchst kompliziert und durch einen periodischen Wechsel einer Zick-Zack- und einer Strickleiterstruktur gekennzeichnet (Abb. 4e und f), die sich letztendlich auf ein gemeinsames 3-D-Grundmuster zurückführen lassen. Somit könnte man die Extrusome der Microthoraciden als Trichocysten auffassen

Bislang ist immer noch ungeklärt, wie diese blitzartige Streckung der Trichocystenschäfte erfolgt. Es wurde nachgewiesen, dass dafür keine energiereichen Verbindungen wie beispielsweise ATP notwendig sind, dass aber Calcium eine ganz entscheidende Rolle bei der Entfaltung des Filamentnetzwerkes spielt, allerdings ohne eine plausible Erklärung für die Funktionsweise des Calciums während dieses Prozesses vorschlagen zu können.

... dann die Schläuche

Die vier an der Spitze des Trichocystenschaftes angebrachten Schläuche der Microthoracidae (Abb. 2) machen die Situation noch rätselhafter. Sie sind nicht nur kompliziert aufgebaut, sondern zeigen eine eigentümliche Dynamik, die man relativ leicht anhand elektronenmikroskopischer Bilder belegen, aber in ihrer Kausalität zur Zeit immer noch nicht erklären kann (Hausmann und Mignot, 1975).

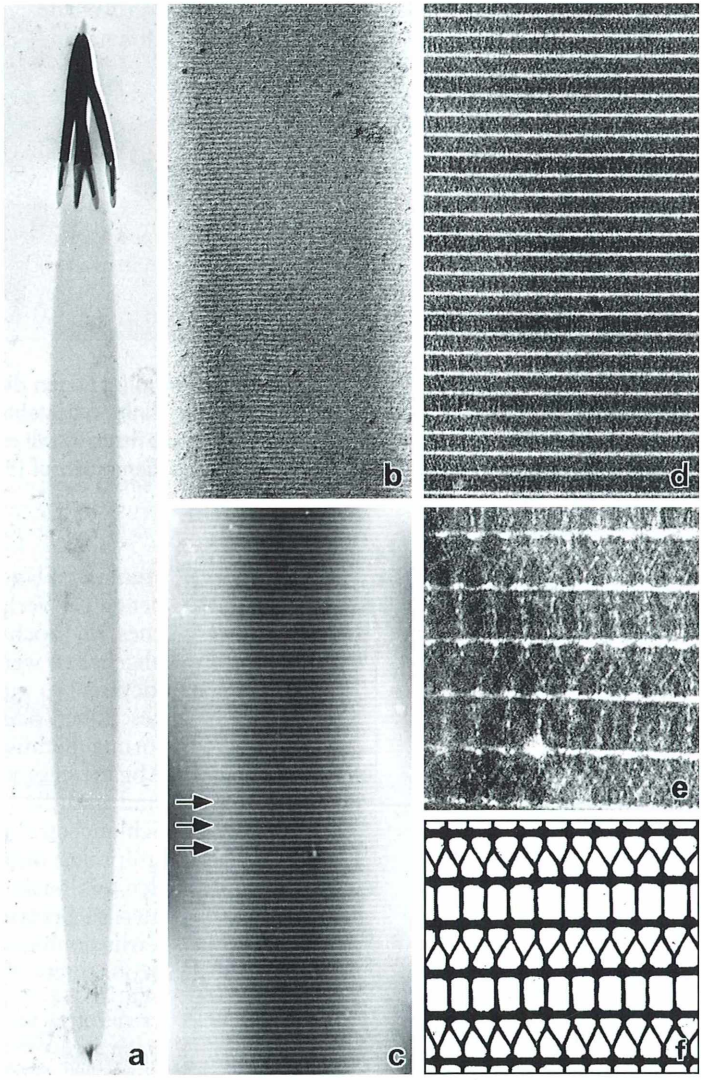


Abb. 4: Nach dem Abschuss hat sich der Schaft des Extrusoms um ein Vielfaches gestreckt, wobei sich die Dimensionen der Apikalschläuche nicht verändert haben (a). Der Schaft ist durch eine gleichförmige periodische Querstreifung gekennzeichnet (b), die in einigen Präparaten von einer Periode höherer Ordnung überlagert ist (c, Pfeile). Höhere Vergrößerungen lassen zunächst nur schmale helle sowie breite dunkle Banden erkennen (d). In günstigen Präparaten zeigen sich bei sehr hoher Vergrößerung in den schwarzen Banden feine, längs ausgerichtete Filamente (e), die in den aufeinanderfolgenden Perioden alternierend zu einem Zick-Zack- und einem Strickleiter-Muster miteinander verknüpft sind (f). Vergr.: a 4.800×, b und c 15.000×, d 50.000×, e 135.000×.

Im Ruhezustand sehen sie zunächst kompakt aus. Nach Modifizierung der Präparationstechnik zeigen sich allerdings in den Schläuchen rätselhafte röhrenförmige Untereinheiten (Abb. 2c). Im Verlaufe des Trichocystenabschusses spreizen sich die Schläuche vom Schaft, was problemlos im Lichtmikroskop zu erkennen ist (siehe Titelbild). Dieses Verhalten hat dazu geführt, dass diese Extrusome im Laborjargon Regenschirm-Trichocysten genannt werden. Es wurde übrigens am Beispiel von *Drepanomonas dentata* und *D.* spec. diskutiert, ob ein nach Abschuss zu beobachtendes Abspreizen oder Anliegen der Schläuche am Trichocystenschaft als ein weiteres Artunterscheidungsmerkmal genutzt werden kann oder nicht (Kreutz, 1998). Weitere Untersuchungen sind notwendig, um diese Frage zu beantworten.

Nun spreizen sich die Schläuche nicht nur einfach ab, sondern geben dabei offenbar eine Substanz ab, was besonders gut im Elektronenmikroskop zu sehen ist (Abb. 5b und c). Nicht genug damit: Die entleerten Schläuche lassen in ihrem hinteren Fünftel jeweils ein massives, stabförmiges Element erkennen, das seinerseits wiederum aus längsausgerichteten Untereinheiten besteht (Abb.

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

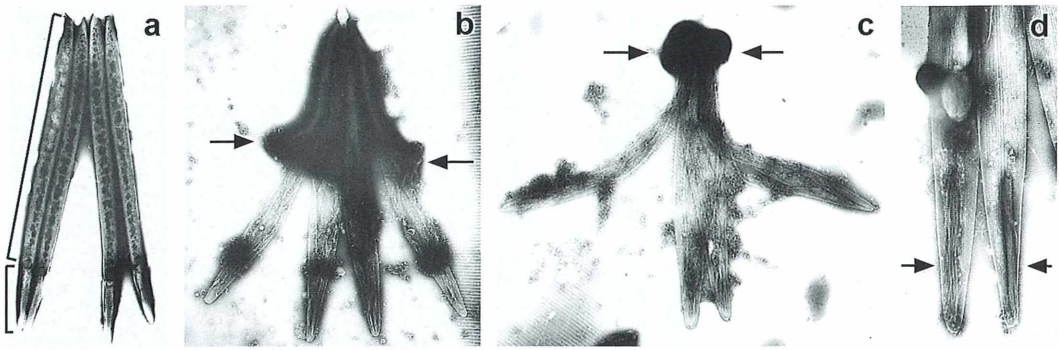


Abb. 5: Dynamik der Apikalschläuche. Im Ruhezustand (a) liegen die mehr oder minder kompakten Schläuche, die aus jeweils zwei ungleich großen Abschnitten bestehen (Klammern), dem Extrusomschaft eng an. Während sie sich abspreizen, geben sie ihren Inhalt ab (b und c, Pfeile). Die entleerten Schläuche weisen in ihrem Endabschnitt stabförmige Elemente auf (d, Pfeile). Vergr.: a 7.500×, b und c 10.000×, d 20.000×.

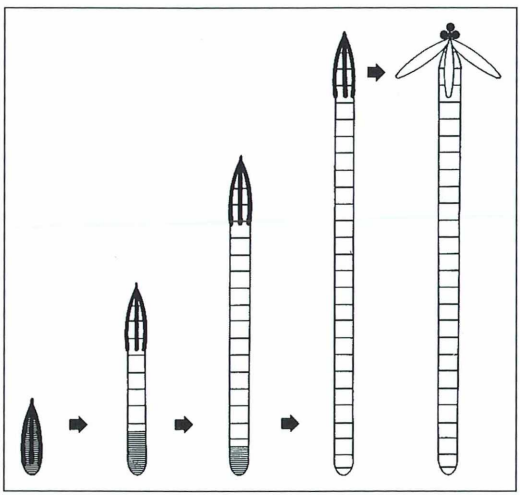


Abb. 6: Der Abschuss der Microthoraciden-Extrusome ist durch die Streckung des Schaftes sowie das Abspreizen und Entleeren der apikalen Schläuche gekennzeichnet.

5d). Derzeitig fehlt jeglicher Erklärungsansatz für dieses Phänomen. Es ist bislang auch nicht beobachtet worden, dass dieser Typ von Extrusom in irgendeiner Weise der Feindabwehr dient.

Toxicysten rufen sich in Erinnerung

Bei den vier Schläuchen fühlt man sich natürlich spontan irgendwie an die Toxicysten bestimmter Flagellaten und Ciliaten erinnert, aus denen im Verlaufe der Expulsion eines Schlauches im höchsten Maße toxische Substanzen abgegeben werden. Allerdings wird je nach Toxicystentyp aus einer Kapsel ein Rohr herausgeschoben oder ein Schlauch handschuhfingerförmig herausgestülpt, Vorgänge, die mit der Abgabe besagter giftiger Substanzen verbunden sind und die letztendlich zu leeren Rohr- oder Schlauchstrukturen führen. Es sind weder Ausstülpungsvorgänge noch völlige Entleerung bei den Schläuchen der Microthoraciden-Extrusomen zu beobachten. Somit verbergen sich vielleicht doch ganz andere Funktionen hinter den beobachteten Phänomenen.

Resümee

Die Extrusomen der Microthoraciden stellen offenbar eine Sonderform dar, die bislang bei keiner anderen Ciliatengruppe beobachtet wurde: Ein quergestreifter, spindelförmiger Schaft streckt sich unter Beibehaltung der Anzahl seiner Perioden um den Faktor 4 bis 5 und vier apikal angeordnete, schlauchartige Differenzierungen spreizen sich unter Absonderung einer unbekannten Substanz ab (Abb. 6). Merkwürdig!

Schlussbetrachtung

Es ist immer wieder erstaunlich, feststellen zu müssen, dass in der mikroskopischen Dimen-

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

sion eine Vielzahl von speziellen Strukturen und Abläufen bildmäßig bis ins feinste Detail erfasst und analysiert worden ist, aber eine Erklärung der Funktionsweise der entsprechenden Strukturen und Vorgänge nach wie vor aussteht, ganz abgesehen davon, dass deren biologische Bedeutung vielfach schlichtweg schleierhaft ist. Dazu gehören derzeitig offenbar die in diesem Artikel näher beschriebenen Extrusomen der Ciliaten aus der Gruppe der Microthoraciden.

Literaturhinweise

Anderson, O. R.: Comparative protozoology. Ecology, physiology, life history. Springer Verlag, Heidelberg 1987.

Eisler, K., Peck, R. K.: Ultrastructural analysis of the cortical modification during trichocyst secretory granule docking in the ciliate *Pseudomicrothorax dubius*. Europ. J. Protistol. *34*, 39–50 (1998).

Grell, K. G.: Protozoology, 3rd edition. Springer Verlag, Heidelberg 1973.

Hausmann, K.: Extrusive organelles in protists. Int. Rev. Cytol. *52*, 197–276 (1978).

Hausmann, K.: Die extrusiven Organellen der Protisten. Naturwiss. Rdsch. *31*, 460–468 (1978).

Hausmann, K.: Characteristics of the membranes of the pellicle of the ciliate *Pseudomicrothorax dubius*. Protoplasma *92*, 199–213 (1979).

Hausmann, K., Hülsmann, N.: Protozoology, 2nd edition. Thieme Verlag, Stuttgart 1996.

Hausmann, K., Mignot, J.-P.: Cytologische Studien an Trichocysten. X. Die zusammengesetzten Trichocysten von *Drepanomonas dentata* Fresenius 1858. Protoplasma *83*, 61–78 (1975).

Kreutz, M.: Beobachtungen an zwei Arten der Ciliatengattung *Drepanomonas*. Mikrokosmos *87*, 321–327 (1998).

Mehlhorn, H., Ruthmann, A.: Allgemeine Protozoologie. Gustav Fischer Verlag, Jena 1992.

Plattner, H.: My favorite cell – *Paramecium*. BioEssays *24*, 649–658 (2002).

Puytorac, P. de, Grain, J., Mignot, J.-P.: Precis de protistologie. Boubée, Paris 1987.

Verfasser: Prof. Dr. Klaus Hausmann und Dr. Renate Radek, Freie Universität Berlin, Institut für Biologie/Zoologie, Königin-Luise-Str. 1–3, D-14195 Berlin

Aus der Industrie

C-DIC: Neues Verfahren von Carl Zeiss zur kontrastreichen Darstellung feinster Materialstrukturen

Jetzt können auch feine und feinste Strukturen, Fehler und Defekte, die im klassischen Hellfeld/Dunkelfeld keinen oder nur ungenügenden Kontrast erzeugen, im Lichtmikroskop kontrastreich dargestellt werden. Das Differential-Interferenzkontrast-Verfahren C-DIC im zirkular polarisierten Licht bietet für die Halbleiter- und MEMS-Industrie und alle Zweige der Materialuntersuchungen höhere Effektivität bei der Fehlersuche. Fehler werden schneller erkannt und die Objekte in wesentlich besserer Qualität dargestellt.

Das C-DIC-Prisma wird in die Kompensatoröffnung des Mikroskops eingesetzt. Es ist unabhängig von seinem Haupt-Schwingungsazimut zwischen Zirkular-Polarisatoren angeordnet. Deshalb können Objektstrukturen, die in unterschiedlichen Azimuten liegen, nacheinander durch Drehen des C-DIC-Prismas und nicht wie bisher durch Drehen des Tisches oder des Objektes kontrastiert werden. Damit bleiben der Objekt-Zusammenhang und der volle Informationsgehalt erhalten. Mit dem zirkular polarisierten Licht ist die Objektiv-Austrittspupille homogen ausgeleuchtet – das bedeutet höheren Bildkontrast bei voller Beleuchtungsapertur. Feste Kreuz- und Scanningtische sind einsetzbar, so dass Fehler schneller detektiert werden können.

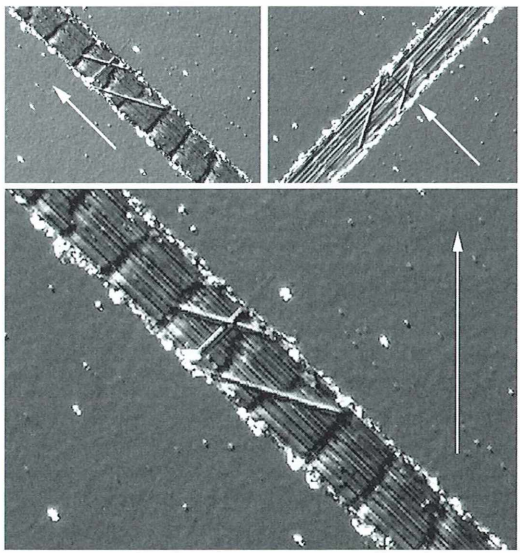


Abb. 1: Das Verfahren C-DIC bietet erstmalig die Möglichkeit, bei senkrecht zueinander verlaufenden Strukturen beide gleichzeitig darzustellen, ohne den Tisch zu drehen. Links oben: DIC linear. Rechts oben: DIC linear, Tisch 90° gedreht. Unteres Bild: C-DIC, Aufspaltungsrichtung gemäß Pfeil.

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

Kurze Mitteilung

Sedimentfalle

Das Verständnis der Prozesse, welche die Sedimentation (Absetzung von festen Teilchen auf Grund der Schwerkraft; Ablagerung) suspendierter Teilchen im Wasser von Seen und Ozeanen steuern, ist wichtig für die Deutung von Beobachtungen bei der mikroskopischen Untersuchung von Sedimentkernen.

Die Variabilität der Sedimentation in Seen ist sehr groß. Man unterscheidet zwischen primärer und sekundärer Sedimentation. Die primäre Sedimentation (Netto-Sedimentation) entspricht der jährlichen Ablagerung in Bohrkernen. Dabei wird die Umverteilung von Sedimenten außer Acht gelassen, welche die Ursache für die sekundäre Sedimentation ist. Diese Fehlerquelle soll ausgeschaltet werden durch eine neuartige Sedimentationsfalle, welche die komplette Sedimentation misst und dabei die spezifischen kurzzeitigen Ereignisse der sekundären Sedimentation erfasst, welche bei der ausschließlichen Untersuchung von Bohrkernen nicht erfasst werden können. Die neue Sedimentationsfalle (Abb. 1) besteht aus einem Karussell mit 12 Flaschen für die Proben, wobei jede für eine vorprogrammierte Zeit unter der Öffnung eines Trichters geöffnet wird. Die Öffnungszeit, während welcher das Sediment einströmen kann, kann zwischen vier und zwölf Stunden variiert werden.

Der Sammelzylinder (Probenflasche) hat einen Durchmesser von 25 cm. Die Öffnung des Trichterstiels ist so eng, dass eine Resuspendierung als unmöglich erachtet wird. Die Öffnung der Falle, ihr Mund, sollte zwei Meter über der Sedimentationsoberfläche liegen. Die Falle wird mit einem Tau an einem 100 kg Gewicht verankert, sodass Bewegungen auch unter extremen Wetterbedingungen verhindert werden. Aus den bislang erhaltenen Ergebnissen lässt sich schließen, dass Kurzzeit-Veränderungen der Sedimentationsrate in Seen sehr groß sein können.

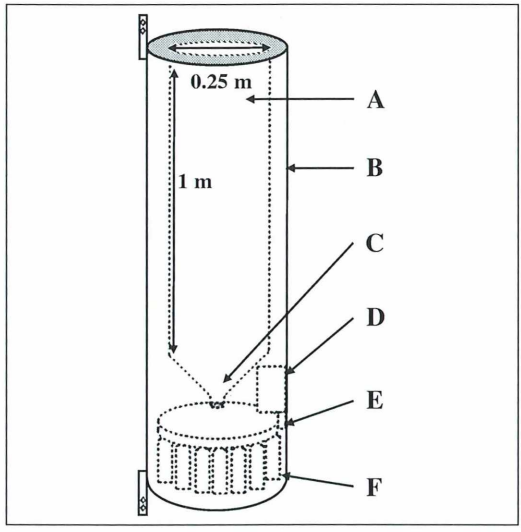


Abb. 1: Schema einer Sedimentfalle. Das Sediment wird in einem ein Meter langen Zylinder (A) von 25 cm Durchmesser aufgefangen. Die ganze Vorrichtung befindet sich in einem weiteren, größeren Plastikzylinder (B). Ein Karussell für 12 Polyethylen-Fläschchen (F) wird durch einen mit Batterie getriebenen Motor (D) über eine Spindel (E) angetrieben. Die Sedimentproben werden durch einen Trichter (C) aufgefangen und in die Fläschchen geleitet. Der lange Zylinder soll verhindern, dass die Sedimente resuspendiert werden. Die Umlaufzeit kann verändert werden. Normalerweise beträgt die Beobachtungszeit zwei Tage, sodass jede Flasche das Sediment vier Stunden lang einsammelt (aus: Douglas et al., 2002).

Literaturhinweis

Douglas, R. W., Rippey, B., Gibson, C. E.: Interpreting sediment trap data in relation to the dominant sediment redistribution process in a lake. Archiv für Hydrobiologie *155*, 529–539 (2002).

H. F. Linskens, Nijmegen

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

Das Interzellularsystem der Samenpflanzen – Wie viel Luft befindet sich in einer Pflanze?

Walter Neubert

Jeder, der sich einmal mit der Anatomie der Samenpflanzen beschäftigt hat, weiß, wovon die Rede ist. Die unscheinbaren, meist dreieckigen Zwischenräume, Interzellularen genannt, sind im Parenchym der Stängelquerschnitte gut zu erkennen. Diese Interzellularräume bilden ein zusammenhängendes System. Verästelte feine Kanäle durchziehen das ganze Gewebe und stehen über Spaltöffnungen und Lenticellen mit der Außenluft in Verbindung.

Lenticellen sind warzenförmige Gebilde in der Rinde von Stamm und Stängel, die bereits mit bloßem Auge zu sehen sind. Es handelt sich um aufgebrochene Epithelbezirke, aus denen stark durchlüftetes Parenchymgewebe hervortritt. Auf diese Weise ist ein Gasaustausch auch dann möglich, wenn die Spaltöffnungen geschlossen sind. Das Interzellularsystem hat die lebenswichtige Aufgabe, den Gasstoffwechsel im Rahmen der Fotosynthese und Atmung aller lebenden Zellen des pflanzlichen Organismus zu ermöglichen. Ohne Interzellularsystem gäbe es keine höheren Pflanzen. Das bedeutet, dass jede lebende Zelle im Innern der Pflanze mittelbar oder direkt Zugang zum Interzellularsystem haben muss. Die Zellwand muss dort, wo sie mit den Interzellularen in Berührung kommt, gasdurchlässig sein. Dies ist im Blattparenchym, dem Hauptort der Fotosynthese, gewährleistet. Hier sind die Zellen großflächig vom Interzellularraum umgeben. Bei den anderen Zellarten wie zum Beispiel den Siebzellen mit ihren starken sekundären Zellwänden ist der Stoff- und Gasaustausch nur über die Poren und Hoftüpfel möglich, mit denen die Siebzellen reichlich ausgestattet sind.

Siebzellen

Die Siebzellen müssen demnach mit einem Teil ihrer Poren auch Verbindung zum Interzellularsystem haben. Besonders in Tangentialschnitten erkennt man dies deutlich (Abb. 1a–c). Die Poren sind nicht leicht zu erkennen. Der Einsatz der Ölimmersion ist erforderlich. Die Pore ist nach innen offen, aber nach außen zur Interzellularen hin mit einer Membran verschlossen. Auch im Zell-Längsschnitt lassen sich Poren nachweisen, die in den Interzellularraum münden. Man kann an den Siebzellen deutlich zwei Arten von Poren unterscheiden, einmal die soeben genannten, zum anderen komplexe Poren (Hoftüpfel), die sich mit Poren der Nachbarzelle treffen und nur durch einen so genannten Torus voneinander getrennt sind (Abb. 2a–c). Letztere dienen allerdings nicht dem Gas-, sondern dem Flüssigkeitsaustausch.

Gasaustausch

Das Gasgemisch im Interzellularsystem, aus 79% Stickstoff, 20% Sauerstoff und etwa 0,03% Kohlendioxid bestehend, ist tagsüber wegen der Fotosynthese-Aktivität der chlorophyllhaltigen Zellen mit Sauerstoff angereichert. Da in den Nachtstunden ausschließlich Zellatmung stattfindet, wird der Sauerstoffüberschuss gegenüber der Außenluft abgebaut. Es kommt zu einer Anreicherung von Kohlendioxid, das von der Pflanze zum Großteil an die Umgebung abgegeben wird. Es bleibt aber ein geringer Überschuss bestehen, der nach Beginn der Fotosynthese verschwindet. Die Pflanze verwertet somit das bei der Zellatmung frei werdende Kohlendioxid. Sie besitzt hiermit eine Fähigkeit, die im Tierreich nicht vorkommt: Sie ist imstande, das bei der Atmung frei werdende Kohlendioxid für die Fotosynthese zu nutzen. Ausnahmen stellen einige mit Grünalgen in Symbiose lebende Protozoen dar wie beispielsweise *Paramecium bursaria*, *Coleps* spec. und *Vorticella fasciculata*.

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

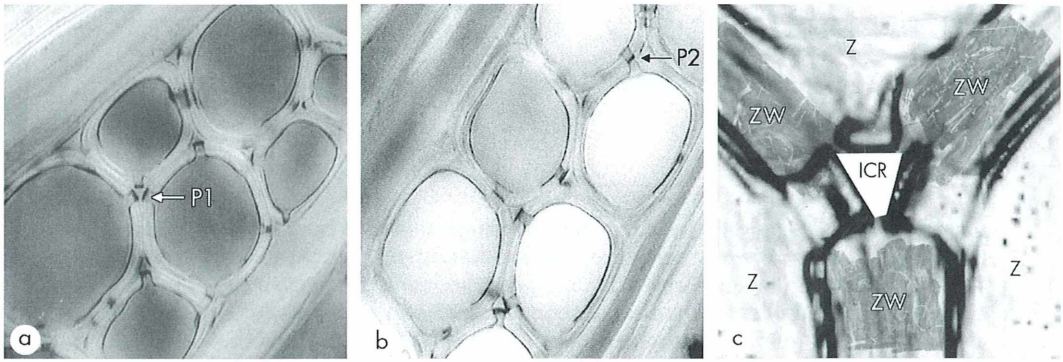


Abb. 1: Tangentialschnitt eines Ölbaumstängels. Abb. 1a: Man erkennt angeschnittene Poren (P1), die in den Interzellularraum einmünden. – Abb. 1b: Hier sind gut sichtbare Verbindungsporen (P2) zwischen den Zellen zu erkennen. – Abb. 1c: Stark nachvergrößerter Ausschnitt aus Abbildung a. Das weiße Dreieck in der Bildmitte stellt den Interzellularraum (ICR) dar. Z = Zellen, ZW = Zellwände.

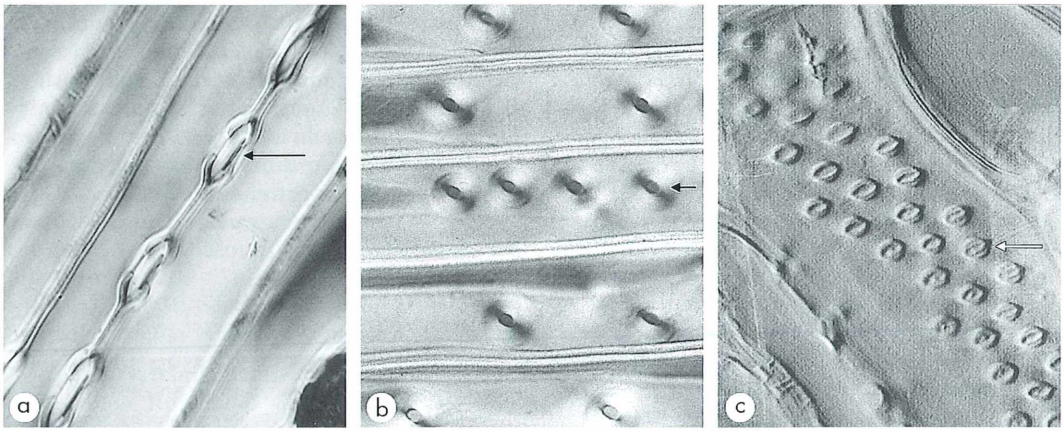


Abb. 2: Tangentialschnitt vom Zweig der Tanne. Abb. 2a: Quer getroffene Hoftüpfel. – Abb. 2b: Hoftüpfel in Aufsicht. – Abb. 2c: Porenanordnung in Aufsicht einer Siebzelle.

Aufbau und Funktion der Parenchyme

Das Interzellularsystem der Pflanzen hat also die Aufgabe, die beiden wichtigen Gase Sauerstoff und Kohlendioxid allen lebenden Zellen zugänglich zu machen. Genauer gesagt: Assimilierende Zellen benötigen Kohlendioxid und geben Sauerstoff ab. Die Zellen, die nicht assimilieren, verwenden Sauerstoff zur Atmung und geben Kohlendioxid ab. Diese Gase müssen von allen lebenden Zellen des pflanzlichen Organismus über Zellmembranen aufgenommen beziehungsweise abgeführt werden. Die Zellen des Schwammparenchyms der Blätter sind in der Lage, den Gasaustausch über die Zellmembranen zu bewerkstelligen, weil die Zellen noch keine Sekundärwände gebildet haben und in den Blättern auch nicht bilden. Anders ist das im lebenden Gewebe des Holzparenchyms, das den toten Holzkörper in Form von Markstrahlen vom Markparenchym ausgehend bis zum Rindenparenchym durchzieht (Abb 3a und b). Diese Gewebe dienen auch der Reservestoffspeicherung sowie dem Stofftransport. Man unterscheidet daher Speicher-, Leit- und Durchlüftungs-Parenchyme. Diese Zellen leben und haben aus Stabilitätsgründen dicke Sekundärwände ausgebildet. Sie stehen über zahlreiche Poren und Tüpfel untereinander und mit dem Xylem in Verbin-

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

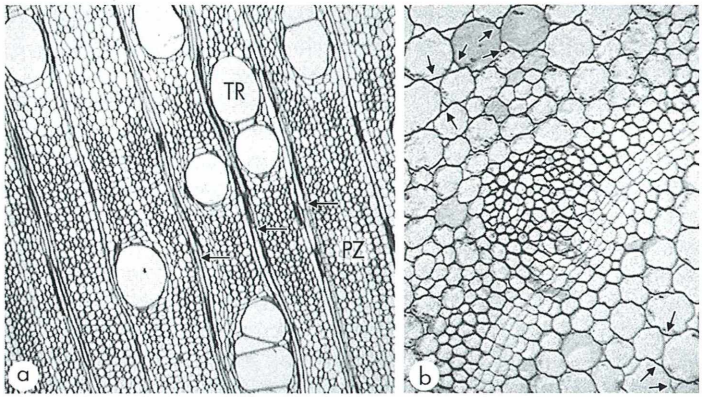


Abb. 3a: Querschnitt durch einen trockenen Balsaholzzweig. Markstrahlen (Pfeile) sind deutlich, die Interzellularen jedoch nicht zu erkennen. Weitlumige Tracheen (TR) und kleine, regelmäßig angeordnete, mit Luft gefüllte Parenchymzellen (PZ) sind zu erkennen. – Abb. 3b: Querschnitt durch die Wurzel des Maiglöckchens mit gut erkennbaren Interzellularräumen (Pfeile).

Tabelle 1: Luftanteile in frischen und getrockneten Pflanzen.

Pflanze (Pflanzenteil)	G 1	G 2	W	V	%
Begonie (Fruchtstand)	3,64	5,13	1,49	5,13	29
Begonie (Stiel)	1,09	1,61	0,52	1,61	32
Buche (Zweig, 2-jährig)	7,18	8,29	1,11	7,00	16
Efeu (Blatt)	1,34	2,21	0,87	1,84	47
Eiche (Zweig)	5,28	6,21	0,93	5,40	17
Esche (Stiel, getrocknet)	2,98	5,08	2,10	4,20	50
Fichte (Stiel, getrocknet)	3,82	7,38	3,56	6,20	57
Holunder (Mark)	0,36	6,05	5,69	6,00	95
Jasmin (Blatt)	3,92	4,90	0,98	4,80	20
Jasmin (Zweig)	0,96	1,12	0,16	1,10	15
Knöterich (Blattstiel)	7,10	7,70	0,60	7,00	8
Lärche (Stiel, fossil)	1,78	2,69	0,91	2,50	36
Lärche (Stiel, getrocknet)	0,52	1,69	1,17	1,60	73
Mais (Stängel, 8 mm)*	3,23	5,00	1,77	6,00	30
Mais (Stängel, 15 mm)*	6,05	10,4	4,34	12,0	36
Pappel (Zweig)	3,18	3,34	0,16	2,78	6
Roter Hartriegel (Zweig, 2-jährig)	7,32	8,21	0,89	7,00	13
Süßkirsche (Blatt)	3,83	5,52	1,69	5,06	33
Süßkirsche (Zweig, 1-jährig)	1,10	1,40	0,30	1,30	23
Süßkirsche (Zweig, 2-jährig)	6,00	7,30	1,30	6,67	19
Tanne (Nadel)	5,10	5,86	0,85	4,90	17
Tanne (Zweig)	3,10	3,20	0,10	2,80	4
Traubenkirsche (Frühlingsholz)	4,50	5,16	0,66	3,78	17
Traubenkirsche (Frühlingsholz, getrocknet)	1,90	5,16	3,26	3,78	86
Traubenkirsche (Winterholz)	4,02	4,85	0,83	3,55	23
Traubenkirsche (Winterholz, getrocknet)	1,91	4,85	2,94	3,55	83
Usambara-Veilchen (Blatt)	3,03	3,98	0,95	3,32	29
Usambara-Veilchen (Stiel)	1,67	1,70	0,03	1,42	2
Weihnachtsstern	5,90	7,44	1,54	7,40	20

G 1 = Gewicht vor der Infiltration in Gramm, G 2 = Gewicht nach der Infiltration in Gramm, W = G 2 – G 1 = Wasseraufnahme in Gramm oder Kubikzentimeter, V = Volumen in Kubikzentimeter, % = Luftanteil in Volumenprozent.

*Die Maisstängel konnten nicht vollständig entlüftet werden; nach der Infiltration schwammen sie noch auf der Wasseroberfläche. Das Durchlüftungsparenchym ist noch prall mit kleinsten Luftbläschen gefüllt, die sich mit dem Vakuum einer Wasserstrahlpumpe (15–20 mm Hg) nicht vollständig entfernen lassen.

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

dung. Die Abbildungen 1a–c zeigen sehr deutlich, dass solche Tüpfel auch an Stellen zu finden sind, die zu den Interzellularräumen führen. Über diese Poren und Tüpfel erfolgt der Gas- und Stoffaustausch. Die Zellen bilden viele solcher Poren aus. Abbildung 2c zeigt plastisch die Anordnung der Poren (= Hoftüpfel), die den Stoffaustausch zwischen den Siebröhren ermöglichen. Die primäre Zellwand liegt zwischen den beiden Sekundärzellwänden. Poren, die zu den Interzellularen führen, besitzen nur eine sekundäre Zellwand. Deswegen sind sie schwierig zu erkennen und man sucht auch vergeblich nach Abbildungen in einschlägigen Fachbüchern. Diese Poren sind aber notwendig, um den Gasaustausch zwischen den lebenden Siebzellen und der Außenwelt zu gewährleisten.

Wie viel Luft ist im pflanzlichen Gewebe verborgen?

Das Interzellularsystem hat noch eine andere Aufgabe zu erfüllen. Überall, wo Luft eingeschlossen ist, wird Baustoff gespart. Wie wir aus Tabelle 1 – am Beispiel von Holundermark – sehen, kann es sich dabei um beachtliche Mengen handeln. Auch unsere Nutzhölzer enthalten viel Luft. Holz verliert beim Trocknen beträchtlich an Gewicht. Der beim Verdunsten von Zellflüssigkeit entstehende Wasserdampf kann über das Interzellularsystem entweichen. Trockenes Holz kann somit bis zu 93% Volumenanteil Luft enthalten. Damit stellt sich überraschenderweise heraus, dass die Luft ein wichtiges Konstruktionselement im Pflanzenkörper darstellt. Das Interzellularsystem ist auf Grund seiner Struktur imstande, alle toten Zellen zu belüften und den Trocknungsprozess bis zur letzten Zelle zu ermöglichen. Das Interzellularsystem bleibt auch nach der Trocknung einer Pflanze funktionsfähig. Holz atmet. Es nimmt Feuchtigkeit auf und gibt sie wieder ab. Ohne das Interzellularsystem wäre das nicht möglich.

Die große Bedeutung des Interzellularsystems besteht demnach darin, ausgedehnte Hohlräume in der toten Holzmasse zu belüften. Das Durchlüftungsparenchym sorgt für die Bildung größerer Luftkammern. Die eingeschlossene Luft verringert das Holzgewicht ganz erheblich. Es wird Baustoff gespart und das Wachstum hoher Bäume überhaupt erst möglich.

Quantitative Bestimmung der Interzellularluft

Es gibt eine Methode, mit deren Hilfe man im Labor die im pflanzlichen Gewebe eingeschlossene Luft weitgehend entfernen kann. Man bringt die Pflanzenteile in eine Saugflasche, in der man mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe ein Vakuum erzeugt. Die im Wasser liegenden Pflanzenteile werden nun entlüftet. Beschleunigen kann man den Prozess, wenn das Vakuum mehrmals kurzzeitig aufgehoben wird. Man nennt diesen Vorgang Infiltration. Zur Durchführung des Versuchs benötigen wir die bereits erwähnte Wasserstrahlpumpe mit Vakuumschlauch und Saugflasche. Ferner ist eine Waage erforderlich, die eine Ablesegenauigkeit von mindestens 10 Milligramm haben sollte. Einige etwa 1 cm lange frische Pflanzenstängel von circa 3–10 mm Durchmesser werden genau gewogen und in die Saugflasche gebracht, die mit destilliertem Wasser gefüllt ist. Die Stängel schwimmen zunächst auf der Wasseroberfläche. Nun wird das Gefäß mit einem Korken luftdicht verschlossen. Mit dem Vakuumschlauch ist die Saugflasche an die Wasserstrahl-Pumpe angeschlossen. Das beim Betrieb der Pumpe entstehende Vakuum saugt die Luft aus den Gewebestücken, Gasbläschen steigen auf. Die Prozedur wird so lange fortgesetzt, bis die Pflanzenteile zu Boden sinken. Mit schwindendem Luftanteil verändern sie auch ihr Aussehen, sie werden transparenter. Nach dieser Prozedur werden die Pflanzenstücke aus der Saugflasche genommen, sorgfältig äußerlich abgetupft und ein zweites Mal gewogen. Die Gewichtszunahme in Gramm ist ein Maß für die entfernte Luftmenge in Milliliter. Um den prozentualen Anteil des Luftvolumens zu ermitteln, benötigen wir noch das Gesamtvolumen der für den Versuch benutzten Pflanzenteile. Die einfachste, aber sehr ungenaue Methode ist, die von den Pflanzenteilen verdrängte Wassermenge mit Hilfe eines geeichten Messzylinders zu ermitteln. Wesentlich genauer wird die Bestimmung durch eine Wägung. Wir wiegen die Wasserverdrängung, indem wir die infiltrierten Pflanzenteile an einem dünnen Faden aufhängen und in ein mit Wasser gefülltes, vorher auf der Waage austariertes Gefäß eintauchen. Wir halten dabei die Pflanzenteile mit dem Faden in der Schwebe und wiegen nun das verdrängte Wasser aus. Die Pflanzenteile dürfen dabei den Boden des Gefäßes nicht be-

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten

rühren und müssen vollständig eingetaucht sein. Nur dann wiegen wir die verdrängte Wassermenge genau. Auch hier gilt Gewichtszunahme in Gramm = Volumen in Millilitern (Kubikzentimeter).
Den prozentualen Volumenanteil ermitteln wir nun nach folgender Formel: Gewichtszunahme der Pflanzenteile infolge der Infiltration in Gramm (W) dividiert durch das Volumen der Pflanzenteile in Milliliter (V), multipliziert mit 100 ergibt den prozentualen Volumenanteil der aus den Pflanzenteilen entfernten Luft. Wir wiederholen diese Prozedur mit Pflanzenteilen unterschiedlicher Pflanzenarten sowie von Stamm, Stängel, Zweig und Blatt in frischem und im getrockneten Zustand. Tabelle 1 gibt Auskunft über einige Pflanzen und deren prozentualer Luftanteile. Wir stellen fest, dass erstaunlich viel Luft in allen Pflanzen enthalten ist. Besonders hoch ist der Luftanteil in getrocknetem Holz. Hier muss man natürlich berücksichtigen, dass das Wasserleitungssystem den Hauptanteil der Luftmenge bildet, die in getrockneten Pflanzen eingeschlossen ist. Aber auch bei frischem Pflanzenmaterial ist der Luftanteil immer noch erstaunlich hoch.

Zusammenfassung

Interzellularen sind mit Luft gefüllte Räume im Inneren der Pflanzen, die ein zusammenhängendes System bilden und bis in die äußersten Stängel- und Wurzelspitzen reichen. Sie stehen über Schließzellen und Lenticellen mit der Außenwelt in Verbindung. Damit sorgen sie für die Belüftung und Versorgung der Pflanze mit den lebenswichtigen Gasen Sauerstoff und Kohlendioxid. Durch Wechselwirkung der genannten Gase mit der Pflanze kommt es gegenüber der Außenluft zu einem Konzentrationsgefälle, das zu Ausgleichströmungen führt. Außerdem erspart die Einlagerung von Luft in die abgestorbenen Zellbezirke im Stamm der Pflanze die Verwendung von anderem, schwereren Füllmaterial. Das Zellulosegerüst der Zellwände besitzt nach dem Austrocknen große Festigkeit. Bei sparsamstem Materialverbrauch gelingt es der Natur, gegen Wind und Wetter stabile Organismen zu schaffen. Ohne die Erfindung des Interzellularsystems wäre das nicht möglich gewesen.

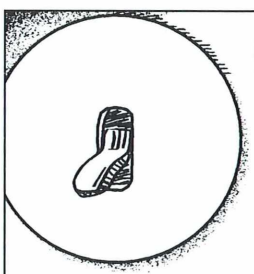
Dank

Für die Mithilfe bei der Korrektur und Bearbeitung des Textes sowie der Bilder bedanke ich mich ganz herzlich bei Herrn Fiedler, Mitglied der Mikrobiologischen Vereinigung München.

Literaturhinweise

Braune, W., Lehmann, A. Taubert, H.: Pflanzenanatomisches Praktikum. Gustav Fischer Verlag, Jena 1983.
Gunning, B. E. S., Steer, M. W.: Bilderatlas zur Biologie der Pflanzenzelle. Gustav Fischer Verlag, 1996.
Romeis, B.: Mikroskopische Technik/Romeis. Oldenbourg Verlag, München 1968.
Strasburger, E., Denffer, D., Ziegler, H.: Strasburger, Lehrbuch der Botanik, Gustav Fischer Verlag Jena, 1983.

Verfasser: Walter Neubert, Tassilostr. 1, D-85551 Kirchheim bei München



Kopfschmerz - abschalten

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

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

DEUTSCHES GRÜNES KREUZ e. V.
Stichwort: Kopfschmerz

Postfach 1207
35002 Marburg

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

Dr. Robert Koch: Leistungen als „Beiwerk"

Norbert Gregor Günkel

Mit dem Namen Dr. Robert Koch verbinden wir heute herausragende medizinische Leistungen: Entdeckung des Milzbrand-Infektionsweges, des Tuberkulose-Erregers, des Cholera-Verursachers, Medizin-Nobelpreis 1905. Doch auch ohne diese Pionierarbeit wäre Koch ein Platz in der Geschichte der Mikroskopie sicher. Denn der Arzt hat Methoden gleichsam nebenher entwickelt, die heute zu den Standardverfahren zählen, ohne dass damit sein Name noch verbunden würde. Dabei fallen freilich auch kleine Schatten auf den großen Forscher.

Robert Koch wurde am 11. Dezember 1843 im heutigen Clausthal-Zellerfeld geboren. Hier besuchte er das Gymnasium und wechselte 1862 an die Universität Göttingen, um zunächst Botanik, Physik und Mathematik zu studieren. Später stieg er um auf Medizin. 1865 wurde er Assistent am Pathologischen Museum, 1866 promovierte er. Es folgten Tätigkeiten am Hamburger Stadtkrankenhaus und an einem Heim für behinderte Kinder in Langenhagen bei Hannover. Dann ließ er sich als Arzt nieder. 1872, nach seiner Teilnahme am deutsch-französischen Krieg, wurde er in Wollstein Amtsarzt. Daneben interessierte er sich für die Bakteriologie, die sich gerade als eigenständiger Forschungszweig etablierte, und richtete sich ein eigenes kleines Labor ein. Als eine Besonderheit wird man die Vorrichtung für die Anfertigung von Mikro-Fotogrammen bezeichnen dürfen, die Koch in dem winzigen Arbeitsraum unterbrachte. Die notwendige Dunkelkammer in Form eines Schrankes ließ sich der Arzt nach eigenem Entwurf von einem Tischler bauen.

Die erste Leistung: Milzbrand

Seine erste wissenschaftliche Leistung war der Nachweis, dass sich der Milzbrand nur dann im Körper einer Maus entwickelte, wenn infektiöses Material mit dem Bakterium *Bacillus anthracis* in den Blutkreislauf injiziert wurde. Die Entdeckung des Auslösemechanismus und des Lebenszyklus des Erregers war von großer Bedeutung: Zum ersten Mal war der Verursacher einer Infektionskrankheit eindeutig nachgewiesen worden. Ansteckende Krankheiten wurden also nicht durch mehr oder weniger geheimnisvolle Substanzen erzeugt, sondern durch Mikroorganismen.

Schon bei seiner Milzbrand-Arbeit deutete sich an, welch grandioser Methodiker in dem Arzt steckte. Denn Koch lieferte sozusagen gleich ein Komplettpaket ab. Er demonstrierte, wie mit den Bakterien umzugehen war, wie man sie aus infiziertem Material gewinnen und kultivieren konnte, und schließlich auch, wie sie zerstört werden konnten. Er ist der *Schöpfer der bakteriologischen Technik* (John, 1960). Koch zeigte seine Entdeckungen dem anerkannten Pathologen Julius Friedrich Cohnheim und dessen Mitarbeitern, zu denen der künftige Bakteriologe Paul Ehrlich gehörte, der Begründer der modernen Immunologie, der später zu Koch stoßen sollte.

Die Tuberkulose

1880 wurde Koch, nachdem er seine Arbeit über die Bakteriologie der Wundinfektionen fertig gestellt hatte, zum Regierungsrat im Kaiserlichen Gesundheitsamt in Berlin berufen. Hier führte er den größten Teil seiner weiteren Forschungsarbeiten durch, soweit er dazu nicht in fremde Länder reisen musste. Im Jahr 1881 begann er seine Forschungen über Tuberkulose, und ein Jahr später, 1982, hatte er den Bazillus isoliert und einen Aufsatz dazu publiziert (Abb. 1). Seine Entdeckungen wurden von der wissenschaftlichen Welt bestätigt. Die Dia-

© Elsevier GmbH. Alle Rechte

gnose der gefürchteten Krankheit konnte nun entscheidend verbessert werden, weil es möglich war, den Erreger im Auswurf der Erkrankten festzustellen.

Koch konzentrierte sich anschließend auf die Cholera. In Indien entdeckte er das Bakterium, das die Krankheit verursacht, und fand, dass dieses vom Menschen in erster Linie mit Wasser aufgenommen wurde. Später reiste er nach Afrika, wo er die Ursachen von Krankheiten erforschte, die wie die Malaria durch Insekten übertragen werden.

1891 wurde Koch Direktor des Instituts für Infektionskrankheiten in Berlin (heute Robert-Koch-Institut), das auf spezielle medizinische Forschungsarbeiten ausgerichtet war. Hier blieb er bis zu seiner Pensionierung 1904. Im Jahr 1905 erhielt Koch den Nobelpreis für Medizin. Am 27. Mai 1910 starb er in Baden-Baden.

Forschungsgerät: Das Mikroskop

Bei diesen wissenschaftlichen Erfolgen erster Güte erarbeitete Koch sozusagen nebenher eine reiche Methodik für die Bakteriologie, als deren Begründer er gelten darf. Darüber hinaus gab er wichtige Anregungen für die Verbesserungen der Zeiss-Mikroskope (Abb. 2), vor allem für mikrofotografische Apparate, und konnte umgekehrt davon profitieren, dass ihm Ernst Abbe (Abb. 3) seine technischen Entwicklungen schon vor der Markteinführung zur Verfügung stellte (Vasold, 2002). Offen freilich ist die Frage, mit welchem Zeiss-Mikroskop Koch in den ersten Jahren gearbeitet haben könnte. Direkt an ihn geliefert wurde kein Instrument. Allerdings ging am 30. Dezember 1876 ein Zeiss-Mikroskop mit der Nummer 2999 an einen *Knechtel* in Wollstein, wo Koch gerade als Arzt tätig war. Aus späteren Jahren kann Zeiss nachweisen, dass Koch in der Berliner Filiale Instrumente erwarb. Ob Koch jemals Geräte bei Zeiss in Jena selbst abgeholt hat, ist im Archiv des Unternehmens nicht dokumentiert.

Ohne die Geräte von Zeiss wäre Kochs wissenschaftliche Arbeit sicher nicht möglich geworden. Sein Forscherdrang entfaltete sich gerade zur rechten Zeit, als technische Innovationen der wissenschaftlichen Welt immer neue Möglichkeiten bot. Vor allem der Abbe'sche Beleuchtungsapparat (zu dessen Verbesserung er vermutlich Anregungen gab) und die Ölimmersion waren zwei Verfahren, die Kochs Forscherdrang entscheidend unterstützten. Für den Kondensor lieferte der Mediziner wichtige Anregungen. 1878 besuchte er Ernst Abbe in Jena, noch im gleichen Jahr kamen die ersten Immersionsobjektive heraus. Die Entwicklung eines speziellen

Abb. 1: An die Veröffentlichung der Entdeckung des Tuberkulose-Bazillus in der Klinischen Wochenschrift erinnert diese Briefmarke aus dem Jahr 1982.

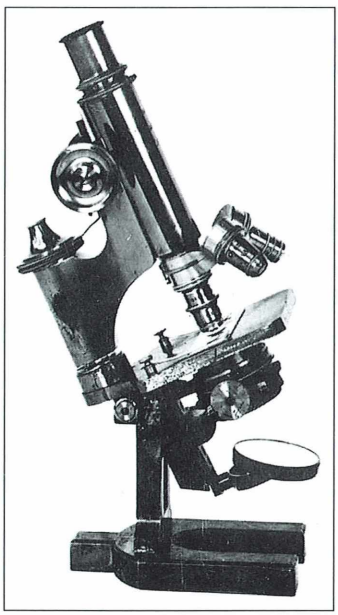


Abb. 2: Zeiss Mikroskop aus dem Jahr 1890, vermutlich von Robert Koch benutzt. Quelle: Archiv Carl Zeiss.

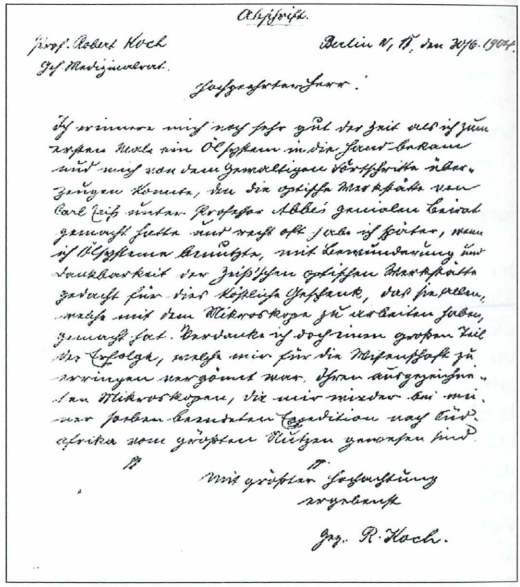
© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Fotokondensors geht auf eine Anregung des engagierten Mikrofotografen zurück. Über den Mikrofotoapparat gibt es einen längeren Schriftwechsel zwischen Koch und Zeiss. Das Unternehmen nimmt deshalb nicht zu Unrecht in Anspruch, die instrumentelle Grundlage für diese wissenschaftliche Leistung geliefert zu haben. Sicher ist: Beide, Koch und Abbe, haben von dieser Partnerschaft profitiert. Robert Koch anerkannte das schließlich 1904 in einem Brief an das Unternehmen (Abb. 4), in dem er seinen Erfolg zum Teil den ausgezeichneten Mikroskopen von Carl Zeiss zuschrieb. Das Unternehmen hatte ihm zuvor das 10.000. homogene Immersionsobjektiv 1/12" zum Geschenk gemacht.

Robert Koch hat indessen auch mit Instrumenten von Ernst Leitz gearbeitet. Das Werksmuseum in Wetzlar zeigte das Mikroskop aus dem Jahr 1891 mit der Nummer 18 553, das der Forscher seinem Studenten A. von Nolthafft schenkte. 1907 bekam Koch das Stativ A mit der Nummer 100 000 von Ernst Leitz geschenkt, womit dessen herausragende Leistungen gewürdigt wurden. Fünf Jahre später übrigens erhielt Paul Ehrlich das Stativ A mit der Nummer 150 000.

Auf Robert Koch geht die heute in jedem Methodikbuch der Mikroskopie angeführte Technik des hängenden Tropfens zurück. Als er sich mit dem Milzbrand-Erreger befasste, war es für Koch notwendig, den Lebenszyklus beobachten zu können. Mit dem üblichen Verfahren des aufgelegten Deckglases gelang dies nicht. Koch kam auf die ebenso einfache wie geniale Idee, einen Tropfen des Kulturmediums in einem Hohlraum des Objektträgers vom Deckglas herunter hängen zu lassen. Um eine Austrocknung der Präparate zu verhindern, dichtete der Arzt die Deckgläser mit Rindertalg und Provenzer-Öl ab.

Von noch weit reichenderer Bedeutung ist Kochs Beitrag zur Kulturtechnik von Mikroorganismen. Bei den Arbeiten zum Milzbrand-Problem hatte er klar erkannt, wie wichtig es sein würde, die Bakterien für künftige Fragestel-



Abschrift.

Prof. Robert Koch
Gh. Medizinalrat.

Berlin N, 39. den 30/6. 1904.

Hochgeehrtester Herr.

Ich erinnere mich noch sehr gut der Zeit, als ich zum ersten Male ein Ölsystem in die Hand bekam und mich von dem gewaltigen Fortschritte überzeugen konnte, den die Optische Werkstätte von Carl Zeiss unter Professor Abbés genialem Beirat gemacht hatte. Nur recht oft habe ich später, wenn ich Ölsysteme benutzte, mit Bewunderung und Dankbarkeit der Zeisschen Optischen Werkstätte gedacht für dies köstliche Geschenk, das Sie allen, welche mit dem Mikroskop zu arbeiten haben, gemacht hat. Verdanke ich doch einen großen Teil der Erfolge, welche mir für die Wissenschaft zu erringen vergönnt war, Ihren ausgezeichneten Mikroskopen, die mir wieder bei meiner (... unleserlich ...) Expedition nach Südafrika vom größten Nutzen gewesen sind.

Mit größter Hochachtung
ergebenst

Ihr. R. Koch.

Abb. 4: Die Abschrift eines Briefes Kochs an Carl Zeiss aus dem Jahr 1904: Hochgeehrter Herr! Ich erinnere mich noch sehr gut der Zeit, als ich zum ersten Male ein Ölsystem in die Hand bekam und mich von dem gewaltigen Fortschritte überzeugen konnte, den die Optische Werkstätte von Carl Zeiss unter Professor Abbes genialem Beirat gemacht hatte. Nur recht oft habe ich später, wenn ich Ölsysteme benutzte, mit Bewunderung und Dankbarkeit der Zeisschen Optischen Werkstätte gedacht für dies köstliche Geschenk, das Sie allen, welche mit dem Mikroskop zu arbeiten haben, gemacht hat. Verdanke ich doch einen großen Teil der Erfolge, welche mir für die Wissenschaft zu erringen vergönnt war, Ihren ausgezeichneten Mikroskopen, die mir wieder bei meiner (... unleserlich ...) Expedition nach Südafrika vom größten Nutzen gewesen sind. Quelle: Archiv Carl Zeiss

Abb. 3: Ernst Abbe und Carl Zeiss, die Pioniere des Mikroskop-Baues, auf zwei Briefmarken der DDR.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

lungen zu kultivieren – und zwar möglichst in Reinkultur. Die bis dahin üblichen Techniken hatten entscheidende Nachteile: Die klaren Flüssigkeiten brachten Niederschläge von organischen Materialien mit sich, die auf die Farbstoffe genau so reagierten wie Bakterien, also eine Beobachtung erschwerten. Als Nährböden waren undurchsichtige Substrate üblich, die eine mikroskopische Untersuchung äußerst schwierig, wenn nicht unmöglich machten.

Ein fremder Tipp

Einmal mehr fand Koch eine geniale Lösung: Da viele Krankheitserreger ausgerechnet in Rinderbrühe gediehen, dickte er sie mit Gelatine ein. Diese festen Substrate konnten nun mit Bakterien beimpft werden, ohne dass die Organismen sich vermischen konnten. In einem zweiten Schritt ersetzte Koch die Gelatine durch Agar-Agar, ein Extrakt aus Meeresalgen, der anders als Gelatine nicht schon bei Körpertemperatur wieder schmilzt. Den Tipp bekam Koch von seinem Mitarbeiter Walther Hesse, der ihn wiederum seiner Frau Fanny Angelina zu verdanken hat. Ihm war aufgefallen, dass ihre Gelees auch an heißen Sommertagen ihre Konsistenz nicht veränderten, während seine Gelatine-Platten im Labor schmolzen. Die in New York geborene Hausfrau niederländischer Abstammung klärte ihn auf: *Mach's mit Agar-Agar*. Das kannte sie aus ihrer Geburtsstadt, wo es von der holländischen Kolonie genutzt wurde. Importiert wurde Agar-Agar aus Java. Robert Koch übrigens hat, wie Hesse-Enkel Wolfgang kritisch anmerkt (1992), die Urheber „seiner" Agar-Technik nie öffentlich gewürdigt oder auch nur erwähnt.
Diese Kulturtechnik auf einem gelartigen Substrat hat die Bakteriologie schlicht revolutioniert. Jetzt war es möglich, Bakterien gezielt zu isolieren und zu kultivieren. Der Einsatz von Wärmeschränken war nicht mehr problematisch. Freilich: Kochs Plattenschale für die Nährböden wurde nur wenige Jahre später von etwas Besserem ersetzt, der Petri-Schale, entwickelt vom Berliner Arzt Julius Petri.

Der Tuberkulinschwindel

Auch bei einer anderen Facette seines Wirkens hat es bei Robert Koch offenbar kräftig „gemenschelt", nämlich bei seiner Ankündigung, mit dem Tuberkulin einen Wirkstoff gegen die Tuberkulose gefunden zu haben. Manfred Vasold deutet in seinem Aufsatz an, nicht nur die politischen Erwartungen der kaiserlichen Regierung hätten Koch dazu verleitet, ohne ausreichende wissenschaftliche Absicherung an die Öffentlichkeit zu gehen, sondern auch der Wunsch, sich von seiner Frau Emmy scheiden zu lassen, was ihn teuer kommen würde. 1893 heiratete Koch dann tatsächlich zum zweiten Mal – die fast 30 Jahre jüngere Hedwig Freiberg. Was immer an Motiven mitgespielt haben mag: Der *Tuberkulinschwindel*, wie zeitgenössische Wissenschaftler das Ganze nannten, schadete Kochs Ruf sehr. Im August 1890 hatte der Arzt beim 10. Internationalen Medizinischen Kongress in Berlin angekündigt, einen Wirkstoff gegen die Tuberkulose zu haben. Die kaiserliche Regierung hoffte auf einen Triumph gegen Louis Pasteur, der angeblich einen Milzbrand-Impfstoff entwickelt hatte, und Koch erwartete laut Vasold für sich einen *warmen Regen*. Immerhin stellte er der Regierung aus der Vermarktung des Mittels jährliche Einnahmen von mehr als vier Millionen Mark in Aussicht – nach heutiger Währung etwa 30 Millionen Euro. Der Kaiser revanchierte sich mit dem Großkreuz des Roten-Adler-Ordens, das noch nie zuvor ein Arzt erhalten hatte, für diese Perspektive; mehr war es ja nicht.
Als das Medikament im Oktober 1890 auf den Markt kam, zeigte sich schnell, dass es nicht wirkte. Koch blieb – ganz gegen seine früheren Gewohnheiten – die Dokumentation seiner Laborversuche weitgehend schuldig. Der herausragende Wissenschaftler hatte geschlampt, obwohl er nach Aussagen eines Mitarbeiters *Hekatomben von Meerschweinchen* geopfert hatte. Der Vorgang schadete seiner Glaubwürdigkeit sehr.

Färbetechnik

In der Bedeutung für die medizinische Praxis steht Kochs Färbetechnik gleichberechtigt neben seinen Reinkulturen – ein Begriff, der selbst in der englisch-sprachigen Literatur verwendet wird. Zur Identifizierung der Tuberkulose-Bakterien (Abb. 5) entwickelte Robert Koch eine Doppelfärbung aus Methylenblau und Vesuvin, die einen Nachteil hatte: Das Methylenblau musste 20 bis 24 Stunden einwir-

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

ken, bevor die Präparate weiterbehandelt werden konnten. Sein Mitarbeiter Paul Ehrlich, der mikroskopischen Färbetechnik ganz besonders zugetan, nahm sich das Rezept seines Chefs vor und ersetzte das Methylenblau durch Fuchsin. Auf dieser Basis erarbeiteten Franz Ziehl und Friedrich Neelsen dann die heute nach ihnen benannte Färbung mit Karbol-Fuchsin, die das Standardverfahren zur Identifizierung von Tuberkulose-Erregern darstellt. *Mycobacterium tuberculosis* und andere säurefeste Erreger werden rot gefärbt, andere Organismen hingegen blau.

Diese Errungenschaften brachten dem Mediziner schließlich auch die Anerkennung eines Mannes ein, dem später nahezu eine Feindschaft gegenüber Koch unterstellt wurde: Rudolf Virchow. Diese Berliner Institution glaubte zunächst nicht an die Entdeckung des Milzbrand-Erregers – vielleicht, weil er Kochs mikroskopische Methoden noch nicht recht nachvollziehen konnte. Schließlich war Virchow ein Pathologe, der sich mit Geweben beschäftigte, nicht mit Bakterien. Das änderte sich, als Koch den Cholera-Erreger entdeckt hatte und in Berlin der Reichstag die Errichtung einer Stiftung zur Belohnung der Kommissions-Mitglieder errichtete. Virchow war Abgeordneter und lobte die Arbeit des Kaiserlichen Gesundheitsamtes jetzt öffentlich.

Einen aus Kochs Familie hätte die breite öffentliche Anerkennung für Robert ganz sicher sehr gefreut, wenn er sie denn noch hätte miterleben können: Seinen Onkel Eduard. Denn vielleicht hat er den Jungen schon für das Mikroskop begeistert. Der Onkel war selbst ein begeisterter Mikroskopiker und ein talentierter Zeichner, der seine Beobachtungen in sehr guten Zeichnungen festzuhalten verstand. Robert Koch wurde des Öfteren damit konfrontiert und hat sicher manchen Blick durch das – damals freilich noch recht unzulängliche – Instrument werfen dürfen.

Robert Koch konnte viele Ehrungen entgegennehmen – von mehreren Orden des deutschen Kaisers bis zum Nobelpreis für Medizin. Die größte Ehre allerdings, so Dieter Gröschel in einer Würdigung (1982), ist die Tatsache, dass Mikrobiologen in aller Welt noch heute seine Labortechniken benutzen, um Infektionskrankheiten zu diagnostizieren.

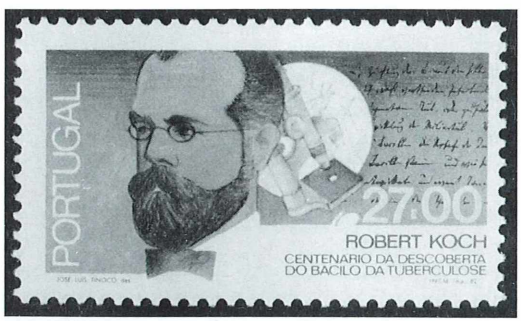


Abb. 5: Kochs Mikroskop und eine Abbildung mit Tuberkulose-Bakterien auf einer portugiesischen Briefmarke.

Dank

Frau Gudrun Vogel von der Pressestelle und Archivar Dr. Wolfgang Wimmer von Carl Zeiss Jena sowie der Limnologischen Flussstation der Max-Planck-Gesellschaft in Schlitz, in deren Bibliothek ich einmal mehr arbeiten durfte, gilt mein Dank für die freundliche Unterstützung.

Literaturhinweise

Beyer, H., Riesenberg, H. (Hrsg.): Handbuch der Mikroskopie. 3. bearb, Auflage. Verlag Technik, Berlin 1988.

Gloede, W.: Vom Lesestein zum Elektronenmikroskop. Verlag Technik, Berlin 1986.

Gröschel, D. H. M.: The etiology of tuberculosis: a tribute to Robert Koch on the occasion of the centenary of his discovery of the tubercle bacillus. ASM News *58*, 28–250 (1982).

Hesse, W.: Walther and Angelina Hesse – early contributors to bacteriology. ASM News *58*, 425–428 (1992).

John, K.: Robert Koch. Mikrokosmos *49*, 325–326 (1960).

Vasold, M.: Unterschied zwischen Menschen und Meerschweinchen. Scheidungsprozesse sind kostspielig: Wie Robert Koch in den „Tuberkulinskandal" schlitterte und seinen Ruf ruinierte. Frankfurter Allgemeine Zeitung vom 15. August 2001.

Vasold, M.: Robert Koch. Der Entdecker von Krankheitserregern. Spektrum der Wissenschaft: Biographie 2002/2, Spektrum Verlag, Heidelberg 2002.

Zey, R.: Lexikon der Forscher und Erfinder. Rowohlt Verlag, Reinbek bei Hamburg 1997.

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

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

Darstellung der Pollenentwicklung bei Tradescantia

Rainer Roeser

Die mikroskopische Untersuchung von Mitose und Meiose gelingt besonders zuverlässig und einfach bei den Frühstadien der Pollenentwicklung einiger Arten aus Familien der Gruppe der Monokotyledonen. Besonders geeignet sind Liliaceen. Allerdings ist die jahreszeitliche Verfügbarkeit des Materials eingeschränkt. Klassisches Objekt, trotz der nicht ganz so deutlichen Bilder und einiger Abweichungen vom Normalablauf, sind Vertreter der Commelinaceen. Die Gartenpflanze *Tradescantia virginiana* und Verwandte sind über den ganzen Sommer bis Ende Oktober, genauso wie im Winter die Zimmerpflanze *Rhoe discolor*, Lieferanten für alle gleichzeitig vorhandenen Entwicklungsstadien; der Blütenflor ist reichlich.

Die Kenntnis von Mitose und Meiose gehört zu den Grundlagen der naturwissenschaftlichen Bildung. Die direkte Beobachtung ist dabei nicht durch trockenes angelesenes Wissen zu ersetzen. Sonderbarer Weise klafft heute eine Wissenslücke zwischen den recht früh festgestellten mikroskopisch sichtbaren Vorgängen bei der Genomvermehrung im Mikrometer-Bereich und dem gründlich erforschten molekularen Nanometer-Bereich. Das konventionelle Lichtmikroskop ist durch moderne Methoden wie die Fluoreszenzmikroskopie bei der Schließung dieser Lücke für die Grundlagenforschung wieder zu einem der interessantesten Forschungsinstrumente geworden. Die Erkenntnisse über die Nukleosomenorganisation haben Vermutungen früher Mikroskopiker glänzend bestätigt, und je mehr wir mit Fluoreszenzmethoden und anderen Techniken die Auflösungsgrenze des Lichtmikroskops indirekt unterschreiten, wird auch die dazwischen liegende Dimension zur molekularen Ebene aufgeklärt und bahnbrechendes Wissen geliefert. Es ist damit zu rechnen, dass in diesen Dimensionen viele Variationen der Eukaryoten aufgedeckt werden, und dass damit mehr Ansatzstellen für die Medizin, die Schädlingsbekämpfung und andere Bereiche vorhanden sind.

An den hier dargestellten Abläufen der Pollenentwicklung werden vor allem die Methodik der Untersuchung und der Hinweis auf Besonderheiten bei *Tradescantia* in den Vordergrund gestellt. Die Bilder sollen Durchschnittsergebnisse aus einfachen Verfahren, die teilweise auch für den Schulunterricht geeignet sind, wiedergeben. Deshalb wurde auch überwiegend mit dem 40fach Trockenobjektiv und einer einfachen Videokamera dokumentiert. Für genauere wissenschaftliche Untersuchungen und bestechendere Bilddokumentationen sind aufwändige Vorbereitungen, Ölimmersion bei Chromosomenuntersuchungen sowie spezielle Software unerlässlich.

Entnahme des Untersuchungsmaterials

Nur sehr junge Knospen sind für die Untersuchungen geeignet. Meiosestadien beschränken sich auf Antheren, die noch nicht gelblich gefärbt sind. Mitosestadien innerhalb des Pollenkornes erfolgen bei beginnender Gelbfärbung. Reife Pollenkörner sind für das Studium der hier nicht dargestellten Pollenschlauchkeimung erforderlich. Auch diese Keimung gelingt bei *Tradescantia* sehr zuverlässig in feuchten Kammern auf Objektträgern, die mit rohrzuckerhaltiger Gelatine oder Agar beschichtet wurden. Da die Teilungen, insbesondere die frühen Stadien, streng synchronisiert

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

ablaufen, kann die Voruntersuchung einer einzelnen Anthere bei dem Auffinden der Stadien helfen. An einem Blütenwickel finden sich Knospen aller Größen. Die Teilungsstadien sind gehäuft in den frühen Morgenstunden bei wüchsigem Wetter zu finden. Von der Metaphase bis hin zur Anaphase findet man nachmittags oft nicht eine einzige Phase, während andererseits bei Entnahme zum richtigen Tageszeitpunkt alle Pollenmutterzellen einer Anthere sich gleichzeitig zum Beispiel in der Metaphase befinden. Die Beachtung des richtigen Entnahmezeitpunktes vermeidet Enttäuschungen. Unter der Lupe werden die Kelchblätter ebenso wie ein Teil der Blütenblätter mit Pinzette und Skalpell entfernt; Blütenbasis, Fruchtknoten und Antheren werden zusammenhängend in das Fixiermedium eingelegt, sofern nicht die direkte Ausstrichtechnik für die frühen Meiosestadien auf dem Objektträger vorgezogen wird.

An den Knospen finden sich stets die Staubfadenhaare, die auch ungefärbt die Zellkerne gut zeigen und auch die Lebendbeobachtung der Mitose ermöglichen. Eigenartiger Weise tritt die Mitose hier bevorzugt in den frühen Nachtstunden auf. Sie dauert bei Betrachtung unter dem Deckglas einige Stunden. Es gibt sonst nur wenige Objekte, bei denen Lebenduntersuchung und Visualisierung der Zellteilung derartig einfach möglich sind. Für didaktische Zwecke kommt allerdings nur die Film- oder Videoaufnahme in Frage, da Suchen und Beobachten einige Ausdauer erfordern. Die Kernfärbung gelingt dagegen sehr einfach durch Einlegen in Karminesssigsäure (KES) (Abb. 1).

Fixierung

Für einfache Untersuchungen ist das Carnoy'sche Gemisch die Methode der Wahl. Feinere Untersuchungen und Färbungen erfordern chromsäurehaltige Lösungen und Kristallviolett- oder Eisenhämatoxylinfärbungen. Diese Methoden sind nicht einfach und nicht immer sicher. Normalerweise werden die Knospen als Ganzes wie oben beschrieben eingelegt. Ausstriche früher Stadien werden ebenfalls in Carnoy'schem Gemisch fixiert. Die direkte Untersuchung mit Karminessigsäure ohne vorangegangene Fixierung ist wegen unsicherer Ergebnisse nicht zu empfehlen.

Die einzelnen Stadien: Prophase der ersten Reifungsteilung, Leptotän, Zygotän

Hier empfiehlt sich das Ausstreichen unfixierter Antheren. Dies erfolgt vorsichtig und nicht zu dünn mit dem Skalpell nach Öffnung der Anthere auf dem Objektträger. Auf keinen Fall dürfen die Ausstriche austrocknen. Das Chromatin ist dann wegen der Proteinummantelung nicht mehr gut anfärbbar, die Bilder werden unschön. Die Klebkraft bei Frischausstrichen ist gut. Eiweißglyzerinvorbehandlung der Objektträger ist nicht erforderlich. Überschüssiges Antherenmaterial muss mit Rücksicht auf die spätere Quetschung entfernt werden. Vorsichtig wird mit Carnoy'scher Lösung unter Vermeidung von Strömung tropfenweise überschichtet. Es genügen in diesem Falle einige Minuten Einwirkzeit. Das Fixiermittel wird dann vom Präparatrand aus weitgehend mit Filtrierpapier abgesaugt, anschließend wird mit KES vorsichtig überschichtet. Der Färbungsfortschritt wird mit dem Mikroskop – ideal ist ein Umkehrmikroskop – verfolgt. Anschließend wird überschüssige KES entfernt und ein Deckglas aufgelegt. Das Aufkochen der KES als Vorbereitung für das Quetschen ist nicht zwingend erforderlich und kann bei zu hoher Intensität das Ergebnis verschlechtern. Das Quetschen erfolgt kräftig zum Beispiel mit dem Fingernagel. Dabei darf der Druck nur senkrecht erfolgen, ein tangentiales Verschieben des Deckglases zerstört die Teilungsfiguren. Das Quetschergebnis sollte mikroskopisch verfolgt werden und das Pressen so lange fortgesetzt werden, wie die Zellen nicht zerreißen. Die Zelle wird also nur eingeebnet und vergrößert sich entsprechend unter Spreitung der Chromosomen.

Auf Grund der Aufgelockertheit der Chromosomen in dieser Phase ist die Anfärbung des Chromatins bei dieser Methode nur sehr schwach. Lichtfilterung und Kontrastierung bei Videowiedergabe helfen jedoch gut. Aus den Präparaten lassen sich leicht Dauerpräparate herstellen. Dazu ist das Deckglas wieder abzuheben und Objektträger und Deckglas dreimal nach der geschilderten Methode unter Absaugung mit Filtrierpapier mit Isopropylalkohol zu überschichten. Anschließend erfolgt die Überschichtung mit Terpineol. Vorteil dieses Intermediums ist, dass es sehr unempfindlich gegen Wasserreste ist, einen ausreichend hohen Brechungsexponenten für die physikalische Auf-

hellung (Messwert beim Chromaprodukt 1,4834) besitzt und nur langsam verdunstet. Schließlich kann über Xylol in übliche Einschlussmittel übertragen werden. Selbstverständlich dient es der optischen Verbesserung der Ergebnisse, wenn bei den Intermedien Mischstufen eingeschaltet werden. Zwingend notwendig ist dies bei *Tradescantia* für Chromosomenuntersuchungen allerdings nicht. Mit Spuren von Eisen(III)-chlorid lässt sich die Färbekraft von KES erhöhen, der Farbton fällt dabei etwas unschön schmutzig bräunlich bis fast schwarz aus. Anstelle von KES lassen sich auch Orcein-Essigsäure und alle anderen nachstehend genannten Färbeverfahren einsetzen.

Bereits in der frühen Prophase (Abb. 2) der ersten Reifungsteilung lagern sich die homologen Chromosomen zusammen. Der Kern lockert sich dabei auf (Abb. 3). Eine Auftrennung der beiden Chromatiden wie bei der Mitose wird jedoch zurückgestellt. Die Bilder vom Leptotän und Zygotän reichen zwar wegen der geringeren Zellgröße nicht an die Ergebnisse bei *Lilium* heran, zeigen aber das Wesentliche immer noch gut interpretierbar (Abb. 4 und 5). Die Chromosomenfäden sind in dieser Phase außerordentlich dünn. Lichtmikroskopisch wirklich beobachtet werden nur lokale Spiralisierungen des Fadens; im Zygotän sind Doppelfäden durch das Aneinanderlegen der homologen Chromosomen erkennbar. Eine Dickenangabe des Chromatinfadens ist zu diesem Zeitpunkt wegen der Grenzen des lichtmikroskopischen Auflösungsvermögens nicht möglich. Bei dieser Paarung der Chromosomen liegen vier Chromatiden im synaptonemalen Komplex nebeneinander. Aufgabe der Meiose ist es, nach dem Genaustausch zwischen den gepaarten Chromosomen im Zuge der beiden Reifungsteilungen die vier Sätze auf vier Zellkerne in vier Zellen zu verteilen. Diese Zellen sind dann haploid gegenüber den diploiden Pollenmutterzellen. Diploidie wird erst wieder auftreten, wenn sich der generative Zellkern des Pollenkorns mit der ebenfalls haploiden Eizelle vereinigt. Weismann (1892) hatte das Prinzip der Meiose auf Grund der Beobachtung der sexuellen Kernverschmelzung vorausgesagt, bevor der lichtmikroskopische Nachweis gelang.

Für das Verständnis beachtenswert ist, dass alle Chromatinfäden an einer gemeinsamen Insertionsstelle an der Kernmembran angeheftet scheinen. Diese Feststellung erfordert allerdings einige Beobachtungsmühe. Es ist dabei unklar, an welchem Punkt die Chromosomen anbinden. Angenommen, dass beide Chromosomenenden am selben Punkt festgeheftet sind, würden sich aus dieser Ringbildung manche weitere Auffälligkeiten einfach erklären.

Lebendbeobachtung bis zur Metaphasenplatte

Es gelingt bei *Tradescantia* ohne Schwierigkeiten, die Stadien der Meiose an ungefärbten Präparaten im Durchlicht oder Differentialinterferenzkontrast zu untersuchen. Allerdings gelingt es bei Ausstrichen nicht, den Fortgang der Meiose zu beobachten, da diese Abläufe durch das Tapetum beeinflusst und gesteuert werden. Die bei den frühen Stadien zu beobachtende strenge Synchronisierung zeigt, dass das Tapetum nicht nur Nährgewebe ist, sondern auch sehr direkt auf die genetischen Prozesse einwirkt. Eigene Versuche mit Nährlösungen zeigten nur geringe Erfolge. Vielversprechend scheinen dazu ganz andere Untersuchungsmethoden, die bisher nur im Ansatz begonnen wurden und bei Erfolg Gegenstand eines gesonderten Berichtes wären.

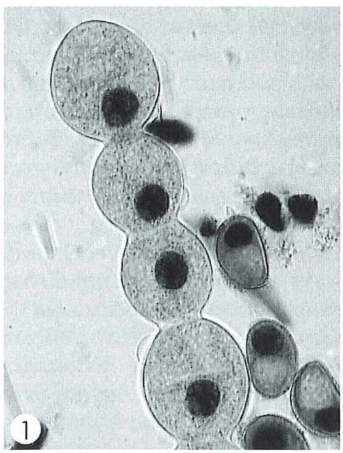
Aus der Kombination der Beobachtungen an gefärbten Präparaten und den bedingt als Lebendbeobachtungen zu bezeichnenden Untersuchungen werden nachfolgend die vermutlichen Abläufe beschrieben:

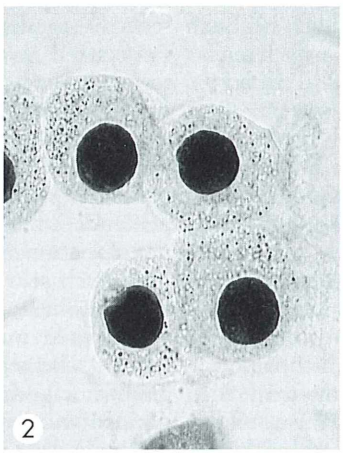
Nach dem Zygotän beginnen sich die Chromosomen bei *Tradescantia* wieder stark unter spiraliger Kontraktion zu verkürzen und liegen schließlich klumpenförmig der Kernmembran im Bereich der Insertionsstelle an. Der Kern erscheint im übrigen Bereich wie eine große Vakuole. Die nächsten Schritte lassen sich anhand der Beobachtung nur vermuten. Die Insertionsstelle scheint sich zu zerlegen. Dabei bleibt der Zusammenhang zwischen einzelnen Chromosomen als Verkettung erhalten, zum Teil auch die Ringbildung des Einzelchromosoms. Die Verkürzung der Chromosomen wird zum Teil rückgängig gemacht. Eine Spiralstruktur wird auch mit dem Trockenobjektiv gut erkennbar. Abbildung 6 zeigt auch, dass dabei erstaunlich symmetrische Anordnungen entstehen. Verkettungen der Chromosomen sind auch bei den Nachtkerzengewächsen und bei einer nah mit *Tradescantia* verwandten Art, *Rhoeo discolor*, bekannt geworden. Im Extremfall lassen sich bei diesen Arten alle Chromosomen zum ge-

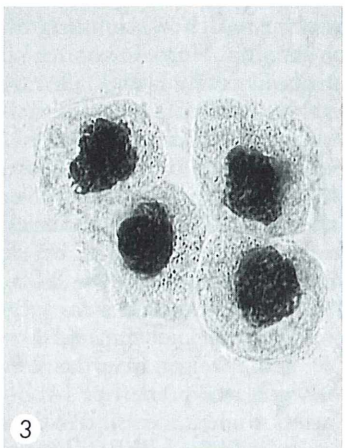
© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

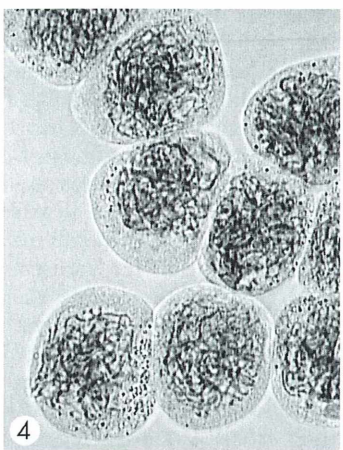
schlossenen Ring verkettet präparativ darstellen. Genauere Untersuchungen haben Hinweise ergeben, dass dabei ein Stückaustausch der Chromosomen in Form eines Translokalisationsprozesses stattfindet. Dies wäre eine Alternative zum chiasmatischen Genaustausch zwischen den Chromatiden. Bei *Tradescantia* war bei diesen Untersuchungen bestenfalls eine zickzackförmig gestaltete Kette beobachtbar. Häufiger erschienen vereinzelte Chromosomen verkettet. Die Schwierigkeit bei diesen Untersuchungen ist, dass die zeitliche Abfolge anders als vom Beobachter angenommen sein kann, und dass im weiteren Verlauf erneute Ringbildungen als Ergebnis terminaler Chiasmen aus dem geläufigen Crossing-over entstehen.

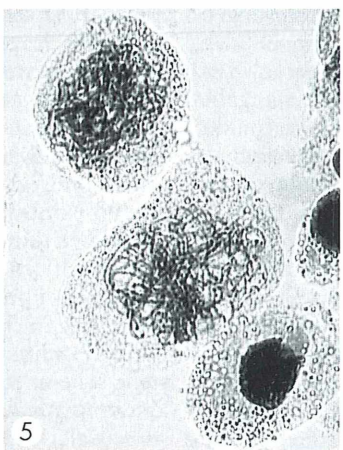
Bei diesen Beobachtungen tritt im Regelfalle die Doppelchromatide als Schraubenfaden auf. Die

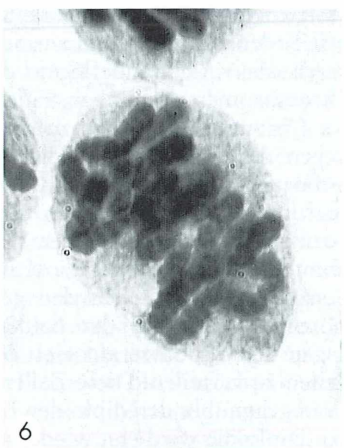


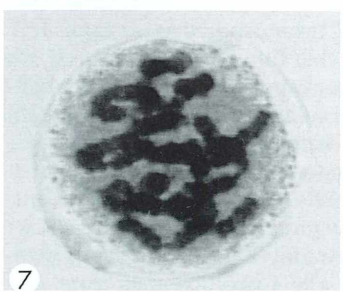


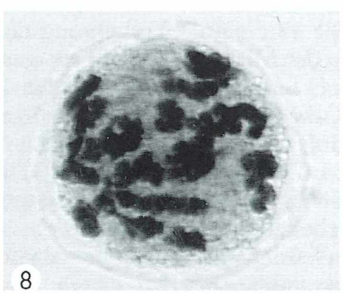


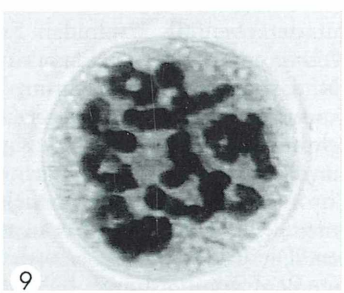












© Elsevier Gr

Breite des Fadens beträgt 800 nm. Die Aufschraubung zeigt dabei unregelmäßige Abknickungen, gelegentlich sind die Fäden auch zopfartig ineinander verflochten, zum Teil spleißen sie in die Chromatiden auf. Bei Senkrechtbeobachtung zeigt sich, dass das Chromosom etwa 1.600 nm Durchmesser hat und einen zentralen Hof von etwa 400 nm freigibt. Aus dieser Existenz eines Lumens folgt, dass der Schraubenfaden eher ellipsoid als kreisförmig sein muss, mit etwa 600 nm für die kleinere, ins Zentrum weisende Halbachse. Die Werte beziehen sich auf das mikroskopische Bild des gefärbten Präparates. Da das Auflösungsvermögen des Lichtmikroskops erreicht wird, ist mit Abweichungen zwischen Bild und Realität zu rechnen. Die Steigungshöhe des Schraubenganges liegt bei 1.000 nm. Das Chromosom kann in dieser Phase mechanisch analog einer Schraubenfeder betrachtet werden. Dementsprechend kann möglicherweise die Verkürzung der Chromosomen sowohl durch Längskrafteinleitung als auch durch Änderung der Torsionsspannung der Windung verursacht sein.

Metaphase bis Telophase der ersten Reifungsteilung

Im weiteren Verlauf vesikuliert die Kernmembran, und die Chromosomen ordnen sich dabei in die Metaphasenplatte ein. In dieser Phase herrscht die eingeebnete Lage vor, das heißt im Gegensatz zur Anaphase liegt die Längsachse des Chromosoms in der Plattenebene. Die Metaphasenplatte selbst ist eine geordnete Struktur; oft liegen die homologen Chromosomen benachbart. Sie zeigen dabei zum Teil dünne Verbindungen an den Enden, spekulativ als Rudiment der oben geschilderten Insertionsstelle zu deuten. In dieser Phase lassen sich in günstigen Fällen 24 Chromosomen zählen. Die Individualität der Chromosomen ist also wieder hergestellt (Abb. 7). Es macht gedanklich große Schwierigkeit von der Spiegelsymmetrie der Abbildung 6 zur Lateralsymmetrie der Abbildung 7 zu gelangen. Den Beobachtungen nach sind die Abläufe bei *Tradescantia* variabel. Die Abbildungen 8 und 9 ähneln bekannten Bildern mit Chiasmen.

Die folgenden Abbildungen (Abb. 10–15) aus einem mit KES gefärbten Präparat zeigen zum Teil bereits den Übergang in die Anaphase mit Drehung der Chromosomenachse in der Metaphasenplatte zu den Polen. In dem Präparat herrschten Ringbildungen durch terminale Chiasmen zwischen den homologen Chromosomen vor. Bei dieser Gartenrasse von *Tradescantia* sind haploid bei guter Zählbarkeit 12 Chromosomenbivalente festzustellen. Nicht selten liegen aber auch verkettete Bivalente vor. Die Zählung ist nicht ganz einfach, da die Zellen sich bei *Tradescantia* nicht beliebig spreiten lassen.

In diesen Stadien verstärkt sich bei den Pollenmutterzellen die cellulosehaltige Zellwand, das Ausstreichen wird schwerer, die Klebekraft des Ausstriches lässt nach. Daher ist die Fixierung im Stück vorzuziehen. Für Dauerpräparate empfiehlt es sich, die Objektträger mit Eiweißglyzerin vorzubehandeln. Bei KES und Orceinessigsäure werden die fixierten Antheren wie beschrieben ausgestrichen und gequetscht. Lohnend ist auch die Färbung mit nicht überreifer Hämalaunlösung nach Mayer. Sie ist bei

◄ Abb. 1–9: Pollenentwicklung bei *Tradescantia*. Abb. 1: Staubfadenhaar KES-Färbung. Neben dem Haar Pollenkörner in Einkernphase. – Abb. 2: Sporenmutterzelle zu Beginn der Prophase, Chromatin geballt. – Abb. 3: Sporenmutterzelle mit beginnender Chromatinauflockerung. – Abb. 4: Maximale Chromatinentwindung im Leptotän, Zusammenlagerung der homologen Chromosomen zum synaptischen Komplex im Zygotän. – Abb. 5: Die Chromosomen sind an einem gemeinsamen Insertionspunkt an der Kernbegrenzung angeheftet. Deutlich wird dies beim Arbeiten mit der Mikrometerschraube. Die Bilder lassen vermuten, dass beide Enden des jeweiligen Chromosoms am Insertionspunkt anbinden und das Chromosom in dieser Phase als Ring vorliegt. – Abb. 6: Schraubige Chromosomenkontraktion mit geordnet-symmetrischer Lage des Chromatins. Die Verknüpfung der Chromosomen lässt sich aus der noch nicht abgeschlossenen Auflösung des Insertionspunktes erklären. – Abb. 7–9: Bei Auflösung des Komplexes werden andersartige Symmetrien der Anordnung und teilweise getrennte, teilweise verknüpfte Homologe und Chiasmen beobachtet, die auf unterschiedliche Individualabläufe bei den einzelnen Chromosomen hinweisen. Vergr.: Abb. 1: 125fach, Abb. 2–4: 250fach, Abb. 5 : 400fach, Abb. 6–9: 600fach

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

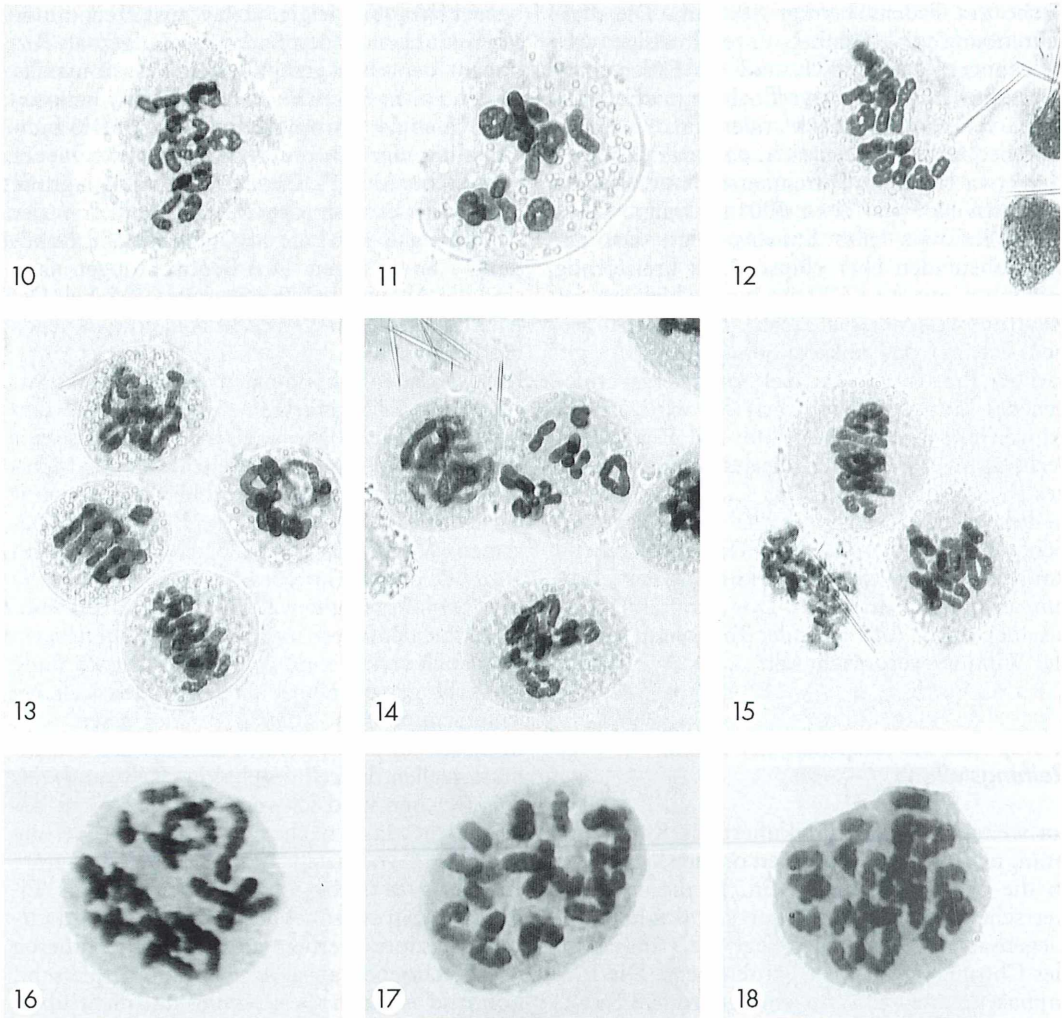


Abb. 10–18: Pollenentwicklung bei *Tradescantia*. Abb. 10–15: Färbung KES; zum Teil sind die stark verkürzten Chromosomen durch terminale Chiasmen zirkulär verknüpft, zum Teil sind auch atypische Verkettungen zu beobachten, die möglicherweise Neubildungen bei Einleitung der Anaphase sind. – Abb. 16–18: Stückfärbung mit Hämalaun, Chiasmen als Kreuz oder Bukett zu erkennen. – Abb. 18 und 7 zeigen übereinstimmende Individualausbildungen von Chromosomen. Die zeitliche Abfolge von Abb. 7–18 nebst Deutung ist unsicher. Vergr.: Abb. 10–15: 400 fach, Abb. 16–18: 500 fach

Überfärbungsgefahr zu verdünnen. Restmengen von Carnoy'schem Gemisch scheinen nicht zu stören. Sehr erfolgreich gelingt mit Hämalaun auch die Stückfärbung. Auch die Bläuungsstufen mit Leitungswasser oder schwach alkalisiertem aqua dest. erfolgen dann am Stück. Der Fortschritt der Färbung und Bläuung kann durchlichtmikroskopisch verfolgt werden. Bei Stückfärbung ist mit Stunden für die Färbe- und Bläuezeit zu rechnen. Im Schulunterricht müssen diese Schritte also vorbereitet werden. Ansonsten ist die Stückfärbung die eleganteste Lösung. Beim Ausstreichen kann als Aufhellungsmittel eine passend eingestellte Chloralhydratlösung in Wasser mit Glycerinzusatz zur Verhinderung des Auskristallisierens zugesetzt werden. Erforderlich ist dies jedoch nicht. Bei Hämalaunfärbung muss Chloralhy-

© Elsevier GmbH

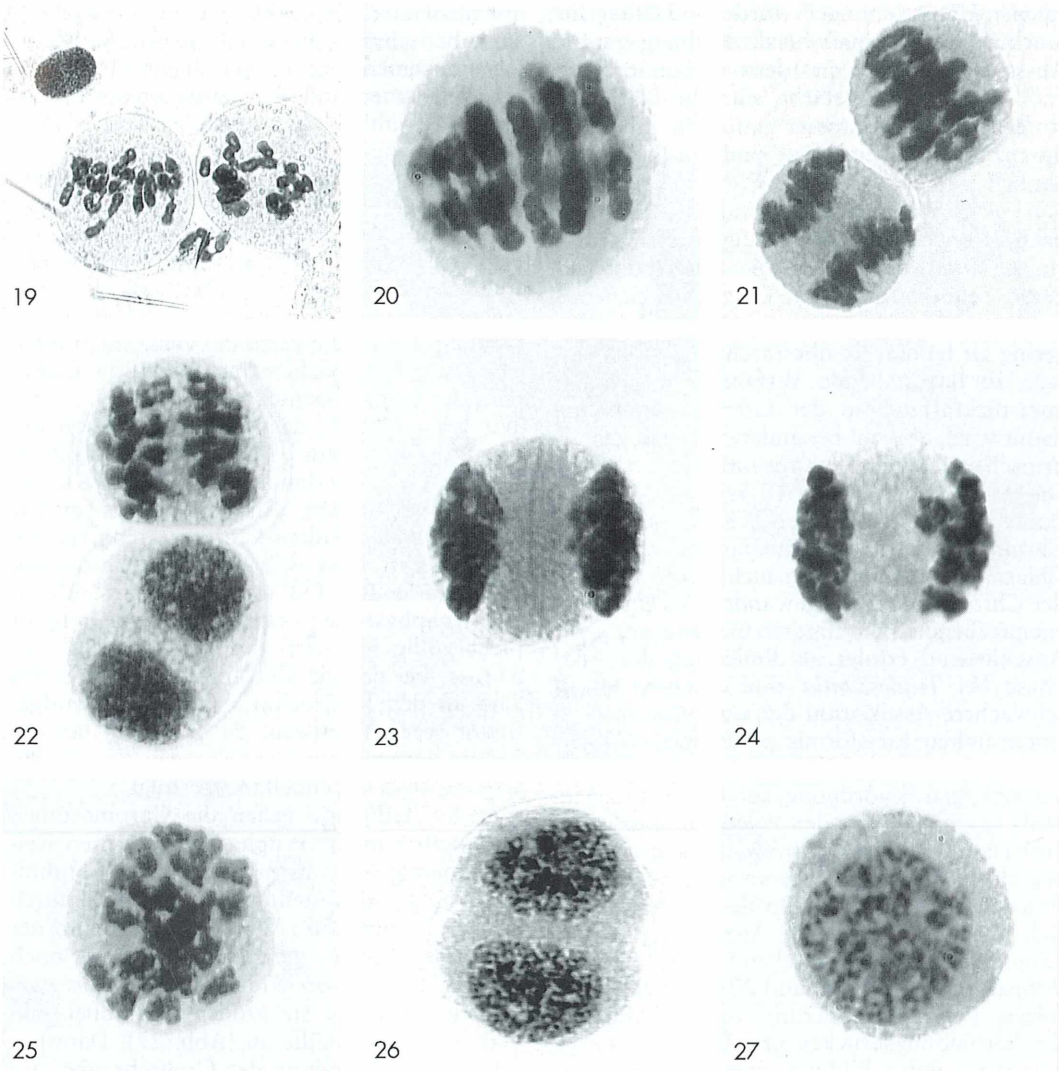


Abb. 19–27: Pollenentwicklung bei *Tradescantia*. Abb. 19–21: Beginnende und fortschreitende Anaphase, Abb. 21 auch mit Telophase. In dieser Phase lässt die äußere Steuerung durch das Tapetum und damit die Synchronisation der Abläufe nach. – Abb. 22: In der Telophase sind die Chromosomen deutlich vereinzelt und gut zählbar. – Abb. 23: Mit fortschreitender Telophase wird das trennende Diaphragma bisweilen gut erkennbar. – Abb. 24: Wie Abbildung 23, jedoch ohne sichtbares Diaphragma. – Abb. 25: Bei Polansicht überlappen sich die Bilder der Chromosomen. Auch dieses Bild zeigt, dass die Chromosomen geordnet verteilt werden. Hinter dieser Ordnung sind steuernde Strukturen in der Metaphasenplatte und im Anaphasenapparat zu vermuten, die nicht zum Chromatin gehören. – Abb. 26: Frühe Prophase der zweiten Reifungsteilung. – Abb. 27: Späte Prophase nach Neuaufwindung des Chromatins zum dünneren Univalent. Vergr.: Abb. 19, 21: 400 fach, Abb. 22–26: 500 fach, Abb. 20, 27: 600 fach

drat über Kaliumcarbonat oder andere Alkali- oder Erdalkalicarbonate von Säure befreit werden, da dieses Aldehyd durch Oxidation sehr leicht in die korrespondierende Säure übergeht. Feinheiten des Chromosomenaufbaus sind eher bei unterfärbten als bei überfärbten Präparaten erkennbar. Da die Färbekraft des Hämalauns variiert, sind Testfärbungen notwendig. Bei den

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

eigenen Untersuchungen wurde die Lösung für Stückfärbung wie auch für die Färbung erst am Ausstrich 1:5 mit aqua dest. verdünnt. Wird erst der Ausstrich gefärbt, sind die Bläuungsstufen in Leitungswasser natürlich schwierig durchzuführen. Ungebläut sind die Ergebnisse ähnlich wie bei KES mit Eisenchloridzusatz. Gut gelungene Hämalaunpräparate ergeben nach ausreichender Quetschung überaus deutliche Chromosomenbilder. Die Mitfärbung anderer Zellbestandteile ist durch ausreichende Verdünnung der eingesetzten Hämalaunlösung gering zu halten. Es überrascht, dass das einfach zu handhabende Verfahren der Hämalaunstückfärbung in der Literatur kaum genannt wird, obwohl bei anderen Färbungen als kritisch angesehene Schritte entfallen.

Die Abbildungen 16 bis 18 zeigen Chiasmenstadien bei fortgeschrittener Kontraktion der Chromosomen nach Hämalaunfärbung. Die Chiasmen sind hier noch nicht bis zum Ende der Chromosomen vorgewandert. Es entstehen entsprechende Bukettfiguren und Kreuze.

Anschließend erfolgt als Einleitung der Anaphase bei *Tradescantia* eine erneute, jedoch schwächere Assoziation der Chromosomen zu einem unklar kreisförmig geschlossenen Zickzackband, dem möglicherweise die Funktion einer richtigen Einordnung der Bivalente zu jeweils gegenüberliegenden Polen zukommt. Mit Fortsetzung der Anaphase weisen auch die Kinetochoren der Chromosomen polwärts, die Brücken zwischen den Bivalenten reduzieren sich oder reißen auf, die Anaphase zeigt bei Längsansicht dementsprechend zu Beginn einen diffusen Spalt (Abb. 19 und 20). Schließlich erfolgen Polwärtswanderung unter Auflösung der Verbindungsbrücken und Übergang in die Telophase unter Bildung eines Diaphragmas, das auch die Zellteilung einleitet (Abb. 21 bis 24). Die Chromosomen verkürzen sich dabei noch stärker und zeigen entsprechend dem Zug am medianen Kinetochor eine V-förmige Gestalt. Bei schräger Polansicht liegen die beiden Chromosomensätze in verschiedenen Tiefenschärfenebenen und sind dabei wieder gut als jeweils 12-zählige Paare bei hoher Kondensorapertur zu zählen (Abb. 25). Das Zählen von Chromosomen ist nicht einfach. Viele Einzelbeobachtungen müssen analysiert und zusammengefasst werden. Immerhin hatte man sich bei der Bestimmung der Zahl der menschlichen Chromosomen trotz bester Methodik jahrzehntelang um zwei Chromosomen wegen der Überlappung der Bilder verzählt. Vielleicht trauten sich spätere Beobachter auch nicht, die Ergebnisse der Erstbeobachter anzuzweifeln.

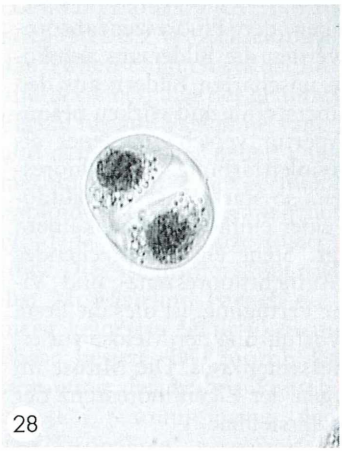
Wir wissen heute, dass die Spindelfasern der Chromosomen aus Mikrotubuli aufgebaut sind, in die ein verbindendes Teil vom Kinetochor andockt. Die Annahme eines primär durchgehenden Fadens kann erklären, dass ein Fehler derart, dass zwei homologe Chromosomen zum selben Pol wandern, nicht auftritt. Die Anaphase der ersten Reifungsteilung ist nicht völlig identisch mit der Anaphase der Mitose, bei der die Chromosomen durch den Zug an den Kinetochoren noch längs aufgetrennt werden müssen. Es existieren bei der Mitose verschiedene Vorstellungen, wie die Bewegung an den Spindelfasern erfolgt.

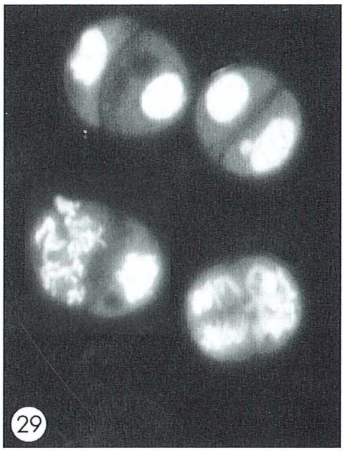
Aus der Telophase gehen die Chromosomen unmittelbar in die Prophase der zweiten Reifungsteilung über. Es erfolgen dabei Kernhüllenbildung und Aufteilung in zwei Zellen durch eine Zelltrennwand (Abb. 26). Zu Beginn der Prophase liegen die Chromosomen noch schraubig mit einem Windungskörper aus zwei Chromatiden vor. Sie ordnen sich dabei zum Teil an der Kernhülle an (Abb. 27). Dann erfolgt eine Entwindung der Großschraube, der Chromatinfaden ist nur an den Chromomeren erkennbar. Anschließend verkürzen sich die separierten Chromatiden wieder und bilden auch

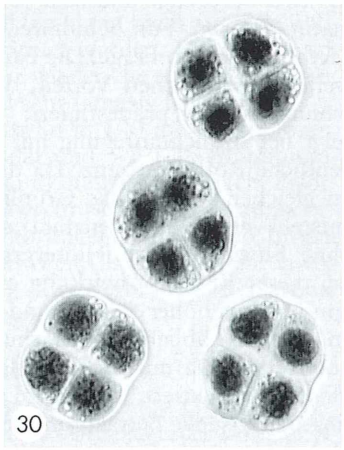
Abb. 28–36: Pollenentwicklung bei *Tradescantia*. Abb. 28: Zweigeteilte Pollenmutterzelle vor Beginn der zweiten Reifungsteilung, Färbung KES. – Abb. 29: Fluoreszenzmikroskopisches Bild der zweiten Reifungsteilung nach Anfärbung mit Acridinorange. – Abb. 30: Tetrade als Ergebnis der zweiten Reifungsteilung mit ausgebildeten Zellwänden aus Zellulose. – Abb. 31: Trennung der Tetrade zu den Pollenzellen. Die Zelle vergrößert dabei die Zellwand und ihr Volumen. – Abb. 32: Metaphase der Pollenreifungsteilung. – Abb. 33: Anaphase der Pollenreifungsteilung. Die Chromosomen sind naturgemäß auffallend dünner als in der Meiose. – Abb. 34: Anaphase und Telophase der Pollenreifungsteilung. – Abb. 35: Dimorphe Entwicklung der Zellkerne zum vegetativen und generativen Zellkern. – Abb. 36: Reifes Pollenkorn mit spindelförmigem generativen Zellkern in der generativen Zelle. Vergr.: Abb. 28–35: 250 fach, Abb. 36: 125 fach ▶

© Elsevier Gr

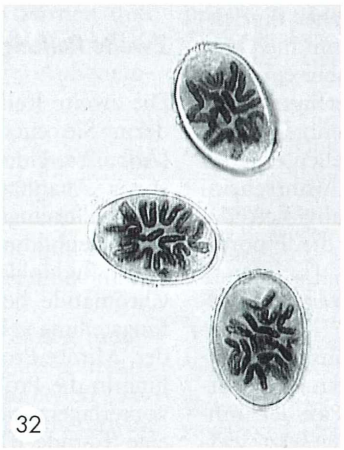
erneut Schrauben aus. Dies ist allerdings lichtmikroskopisch nur noch unsicher erkennbar, da der Windungskörper entsprechend seiner Zusammensetzung nur noch eine Breite von etwa 400 nm besitzt. Zum Schluss der ersten Reifungsteilung liegen zwei getrennte Zellen innerhalb der Zellwand der Mutterzelle (Abb. 28).

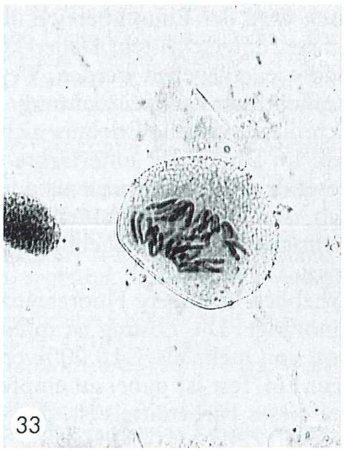

28

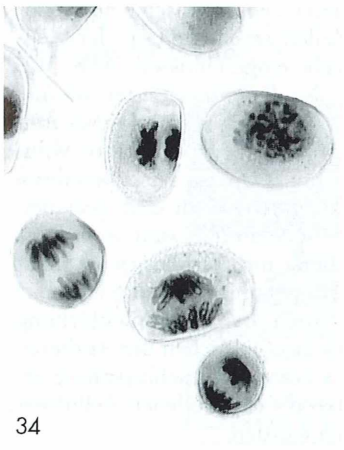

29


30

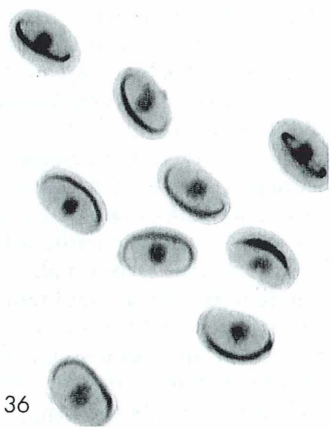
31


32


33


34

35


36

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

Fluoreszenzmikroskopie

Sehr gute Ergebnisse sind für Dauerpräparate mit Gentianaviolett zu erzielen. Allerdings ist die Differenzierung mit Isopropanol kritisch. Es wird bevorzugt und sehr scharf das Chromatin gefärbt. Für Schulzwecke kommt die Methode nicht in Frage. Die Färbung hat einen weiteren erheblichen Vorteil, der sie für Forschungszwecke prädestiniert. Der Farbstoff zeigt bei Auflichtanregung mit Grünlicht eine deutliche Rotfluoreszenz. Da die Kernfärbung im gleichen Bereich das Grünlicht absorbiert, entsteht ein Fluoreszenzbild der Oberfläche ohne Störung durch Hintergrundfluoreszenz. Bei dieser Reflexionswirkung entstehen Bilder von überaus hoher Schärfe und Auflösung, die an Brillanz übliche Kernfärbungsbilder weit übertreffen. Da nur die Oberfläche des Chromosoms reflektiert, sind die Lichtstärken gering. Für visuelle Betrachtung reichen 50-Watt-Halogenlampen als Lichtquellen aus. Fotografisch wird der Rauschbereich üblicher Einrichtungen unterschritten. Daher konnte hier kein Bild wiedergegeben werden. Wer über eine gute Auflichtfluoreszenzeinrichtung verfügt, sollte sich dieses visuelle Erlebnis nicht entgehen lassen. Im Durchlicht unterfärbte Stellen ergeben besonders gute Fluoreszenzbilder. Wahrscheinlich ist der Farbstoffanteil Kristallviolett des Gentianavioletts maßgeblich für die Fluoreszenz.

Erheblich kräftigere Fluoreszenzen liefert Acridinorange. Die Lösung ist in einer Konzentration von mehr als 1:10.000 verdünnt anzusetzen. Ein Test ist dabei zu empfehlen. Der Vorteil dieses Färbemittels ist, dass es an der unfixierten Zelle als Vitalfärbung eingesetzt werden kann. Daher werden die Antheren unmittelbar nach Ausstrich mit der Farblösung überschichtet und im Auflichtmikroskop bei Blauanregung beobachtet. Nach einigen Autoren ist Acridinorange in diesen Verdünnungen ungiftig, giftig seien jedoch die herstellungsbedingten Farbstoffverunreinigungen. Eigene Untersuchungen an niederen Wasserorganismen wie Einzellern, Nematoden und Rotatorien zeigten, dass diese bei hoher Farbstoffverdünnung uneingeschränkt ihre Normalfunktionen wie Bewegung und Nahrungsaufnahme über Stunden fortsetzen. Es gehört zu den eindrucksvollen Erlebnissen am Mikroskop, wenn mit Acridinorange gefärbte Ciliaten und Rotatorien mit hell leuchtenden Zellkernen das bei Auflichtfluoreszenz dunkle Bildfeld durchschwimmen und dabei alle Körpereinzelheiten in größter Deutlichkeit zeigen. Bei den Pollenmutterzellen von *Tradescantia* sind die Bilder ebenfalls sehr beeindruckend. Allerdings sind die Zellkerne viel chromatinreicher. Da keine Absorption des Anregungslichtes neben der Fluoreszenzabsorption stattfindet, werden die Bilder aus der Fokusebene von den unscharfen Bildern aus den anderen Ebenen überstrahlt und wirken besonders bei hoher Apertur verschwommener als bei der Gentianaviolettfärbung. Die Fluoreszenz ist andererseits so stark, dass die Bilddokumentation mit einer einfachen Videokamera problemlos gelingt. Steht ein entsprechendes Mikroskop mit Auflichtfluoreszenz- und Videoeinrichtung zur Verfügung, ist dies die beste Methode für die Vorführung der Meiose vor einem kleinen Interessentenkreis. Die Mitose im Pollenkorn ist wegen der Eigenfluoreszenz der Exine weniger gut darstellbar.

Zweite Reifungsteilung

Die zweite Reifungsteilung ist schnell zu schildern. Sie entspricht weitgehend der Mitose (Abb. 29, Fluoreszenzbild mit Metaphase und später Anaphase). Auf molekularer Ebene besteht allerdings ein prinzipieller Unterschied. Eine Neubildung von Chromatin unter identischer Reduplikation fällt weg, da die zweite Chromatide bereits zu Beginn der ersten Reifungsteilung gebildet wurde. Insofern ist ein Teil der Mitose-Prophase der zweiten Reifungsteilung in die Prophase der ersten Reifungsteilung vorverlagert worden. Aus der Dyade entsteht eine Tetrade. Der Kernteilung folgt die Zellteilung. Die Zellen bilden zwischen sich eine Trennwand aus. Vier Zellen sind damit in der Zellwand der Mutterzelle eingeschlossen (Abb. 30). Mit der Reifung des Pollenkorns zerfällt die äußere Zellwand, wodurch die Pollenkörner freigegeben wrden, die dabei noch kräftig an Volumen zunehmen (Abb. 31). Als Färbeverfahren sind alle oben genannten Methoden geeignet. Ausstriche von Frischmaterial sind allerdings außer bei Vitalfärbung mit Acridinorange nicht zweckmäßig. Bei Hämalaun muss eine Überfärbung vermieden werden. Bei einer Stückfärbung muss in diesem Fall das Quetschen der Antheren für Fertigpräparate vor der Einschlussphase erfolgen, da ansonsten die entquollenen Zellulosezellwände aufreißen würden.

Die generative Entwicklung des Pollenkorns

Nach der Meiose beginnt die Generation der haploiden Phase. Allzu groß ist die Vitalität der männlichen haploiden Phase bei den höheren Pflanzen nicht. Normalerweise treten noch ein bis zwei Zellteilungen auf, dann tritt das Pollenschlauchwachstum auf der Narbe und der Übergang der generativen Zelle in die Eizelle bis zur Verschmelzung mit dem Eikern und dem Start der neuen Diplophase ein. Immerhin gelingt es experimentell, aus Pollen haploide Pflanzen heranzuzüchten, die der diploiden Stammpflanze überraschend ähnlich sind. Dies ist insofern überraschend, weil bei den Moosen und Farnen die haploide Phase meist keinerlei Ähnlichkeit mit der diploiden Phase besitzt. Die morphologische Übereinstimmung der beiden Phasen ist erst wieder bei den Stammpflanzen der Landpflanzen, den Grünalgen, vereinzelt anzutreffen. Wir müssen die Verhältnisse bei den Farnen und Moosen als abgeleitete Anpassungserscheinungen auf zyklisch wechselnde Außeneinflüsse deuten.

Bei *Tradescantia* findet im Pollenkorn noch eine Zellteilung statt. Sie eignet sich gut für die Darstellung der Mitose (Abb. 32–34). Die Abbildungen 32 und 34 wurden dabei aus je zwei Aufnahmen zusammengesetzt. Eine Einebnung durch Quetschen ist nur noch begrenzt möglich.

Die Kerne bekommen nach der Teilung unterschiedliche Gestalt und Bedeutung als generativer und vegetativer Kern des männlichen Prothalliums (Abb. 35). Der Kern der generativen Zelle wächst zu extremer Spindelgestalt aus. Aus Platzgründen nimmt er schließlich eine offene Ringform an (Abb. 36).

Reagenzien

Bezüglich der Zusammensetzung der Reagenzien wird auf die Fachliteratur verwiesen. Für den souveränen Umgang mit den Farblösungen und eigenen Modifikationen empfiehlt sich der Eigenansatz. Bei Hämalaun kann auf viele übliche Zusätze verzichtet werden. Daher gebe ich hier eine Rezeptur wieder, die sofort verwendet werden kann und sehr intensiv färbt:

150 mg Hämatoxylin in 100 ml Wasser lösen, 0,3 g Natriumjodat und 5 g Kali-Aluminiumsulfathydrat (Alaun) hinzufügen, nach Erfordernis vor Gebrauch filtrieren und verdünnen.

Nach meinen Erfahrungen sind die bei Chroma und Merck erhältlichen Chemikalien durchweg geeignet. Für den Kleinverbrauch ist Chroma besonders gut eingerichtet.

Literaturverzeichnis

Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J. D.: Molekularbiologie der Zelle. VCH-Verlag, Weinheim 1994.

Braune, W., Leman, A., Taubert, H.: Praktikum zur Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Pflanzen. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1976.

Darlington, C. D., LaCour, L. F.: Methoden der Chromosomenuntersuchung. Kosmos Verlag, Stuttgart 1963.

Hauck, A., Quick, P.: Strukturen des Lebens. Metzler Verlag, Stuttgart 1986.

Kremer, B. P.: Das große Kosmos-Buch der Mikroskopie. Kosmos Verlag, Stuttgart 2002.

Sitte, P., Weiler, E. W., Kadereit, J. W., Bresinsky, A., Körner, C.: Strasburger – Lehrbuch der Botanik für Hochschulen. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2002.

Streble, H.: Reduktionsteilung bei der Madonnen-Lilie. Mikrokosmos *55*, 161–173 (1966).

Voet, D., Voet, J. G.: Biochemie. VCH-Verlag, Weinheim 1992.

Weismann, A.: Aufsätze über Vererbung und verwandte biologische Fragen. Gustav Fischer Verlag, Jena 1892.

Verfasser: Dr. Rainer Roeser, Marienstr. 4, D-52388 Nörvenich

Gesundheit ist ein Menschenrecht

Deshalb hilft Ärzte ohne Grenzen in mehr als 80 Ländern Menschen in Not – ungeachtet ihrer Hautfarbe, Religion oder politischen Überzeugung.

Helfen Sie mit!

MEDECINS SANS FRONTIERES
ÄRZTE OHNE GRENZEN e.V.

Ärzte ohne Grenzen e.V.
Am Köllnischen Park 1 • 10179 Berlin
www.aerzte-ohne-grenzen.de

Spendenkonto 97 0 97
Landesbank Berlin • BLZ 100 500 00

Bitte schicken Sie mir unverbindlich

☐ allgemeine Informationen über Ärzte ohne Grenzen
☐ Informationen für einen Projekteinsatz
☐ Informationen zur Fördermitgliedschaft
☐ die Broschüre „Ein Vermächtnis für das Leben"

11103404

Name
Geb.-Datum
Straße
PLZ/Ort

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

Kurze Mitteilung

Centriole und ε-Tubulin

Für den geordneten Ablauf der Cytokinese (Zellteilung) spielen die Centriolen eine entscheidende Rolle. Centriolen finden sich in den meisten eukaryotischen Zellen, mit Ausnahme der Angiospermen (bedecksamigen Pflanzen). Es handelt sich bei den Centriolen um hoch organisierte, komplexe Strukturen, die aus neun Sätzen von Mikrotubuli-Tripletts bestehen und in einer Art Turbinenstruktur angeordnet sind. Die bei den Eukaryoten auftretenden Basalkörper ähneln strukturell den Centriolen. Sie dienen der Verankerung und dem Aufbau der Flagellen (Geißeln) in den Zellen. So sind dann auch einzellige, begeißelte Grünalgen wie zum Beispiel *Chlamydomonas* ein ideales System, um den Aufbau und die Funktion der Centriolen zu studieren. Das Auffinden einer Mutante mit gestörter Flagellenbildung und einem damit verbundenen abnormalen Centriolenaufbau (Abb. 1) hat die Forschung beflügelt. Diese Mutante bld2^{-1} hat keine Geißel, ist durch eine vorzeitige Einleitung der Cytokinese und eine weitgehende Störung der Meiose charakterisiert.

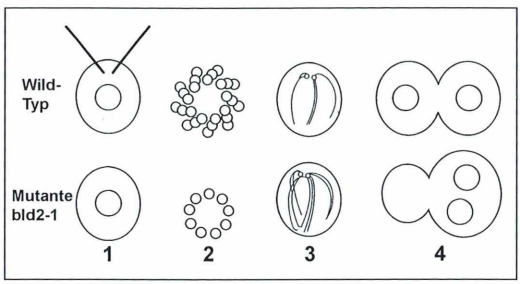


Abb. 1: Unterschiede der Phänotypen von *Chlamydomonas*-Zellen, jeweils oben der Wild-Typ BLD2, unten die Mutante bld2^{-1}. 1 Der Mutante fehlen die Flagellen; 2 die Centriolen der Mutante sind verkürzt und bestehen aus einzelnen Mikrotubuli, während der Wildtyp Tripletts hat; 3 die Mikrotubuli der Mutante sind desorganisiert; 4 die Teilungsfurche der Zelle ist anomal (aus: Dutcher et al., 2002).

Es zeigte sich, dass die veränderte Struktur der Centriolen und die gestörte Flagellenbildung bei der Mutante bld2^{-1} durch einen Defekt des ε-Tubulins zustande kommt. Die Wandung der röhrenförmigen Mikrotubuli wird im Wesentlichen aus Doppelmolekülen von α- und β-Tubulinen aufgebaut.

Mit Hilfe von Antikörpern gegen ε-Tubulin konnte man nachweisen, dass ε-Tubulin in den Centriolen lokalisiert ist und bei der Reifung der Centriolen eine Rolle spielt. Bei den *Chlamydomonas*-Zellen bildet das ε-Tubulin eine Art Käfig, der die reifen Basalkörper umgibt und sich mit fädigen Strukturen entlang der Mikrotubuli erstreckt.

ε-Tubulin wird vom so genannten Gen BLD2 kodiert; es wird benötigt für die Montage und/oder die Erhaltung der Mikrotubuli-Tripletts in den Basalkörpern oder Centriolen. Den Mutanten bld2^{-1} fehlt dieses Gen, so dass nur einzelne Mikrotubuli entstehen können (Abb. 1) und die Basalkörper eine verringerte Länge gegenüber dem Wildtyp mit 250 nm Länge haben.

Das ε-Tubulin ist also von entscheidender Bedeutung für den Aufbau und die Funktion der Centriolen.

Literaturhinweis

Dutcher, S. K., Marrissette, N. S., Prebles, A. M., Rackley, C., Stanga, J.: ε-tubulin is an essential component of the centriole. Molecular Biology of the Cell *13*, 3859–3869 (2002).

H. F. Linskens, Nijmegen

Gemeinsam können wir dazu beitragen, dass ausbeuterische Kinderarbeit – bis hin zur Schuldknechtschaft – abgeschafft wird. *Postbank Köln 500 500-500 BLZ 370 100 50*

Brot für die Welt

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

Mikro-Galerie

Hautgeschichten – Skin Stories

Klaus Hausmann

So genau weiß ich es nicht mehr, wann es war, als die attraktive junge Frau Zane Bérziña, die auf Grund ihrer Erscheinung und ihres Auftretens ganz bestimmt keine Biologin und erst recht keine Mikroskopikerin war, zum ersten Mal bei mir im Labor erschien. Es müssen seitdem einige Jahre vergangen sein. Was wollte diese Frau in der ihr offenbar ungewohnten Umgebung?

Schnell stellte sich heraus, dass Frau Bérziña von der Berliner Hochschule der Künste (HDK) – jetzt U(niversität) DK – kam. Sie war auf der Suche nach Mikroskopiermöglichkeiten. Ihr besonderes Anliegen war es, einen Zugang zur mikroskopischen Dimension zu bekommen und irgendjemand hatte ihr gesagt, dass dieses wohl bei mir gegeben sein könnte. Es war gegeben.

Die Textildesignerin

Zane stammt aus Lettland, ist in Riga geboren. Der Lebenslauf belegt, dass sie sich bereits in jungen Jahren der Kunst verschrieben hat. Textilkunst war – und ist – ihr besonderes Interessensgebiet. In der lettischen Kunstakademie zu Riga schloss sie ihr Studium mit dem Diplom ab. Danach führte sie ihr Weg über Helsinki nach Berlin, eben zur HDK (jetzt UDK), zum Institut für experimentelles Bekleidungs- und Textildesign. Als ihre Mentorin fand sie dort Frau Prof. Barbara Ehring, die das künstlerische Potenzial von Zane schnell erkannte und förderte.

Bionikobjekt Haut

Die mikroskopische Anatomie der menschliche Haut war es, welche sie genauer kennen lernen wollte, um in Zukunft möglicherweise Grundprinzipien ableiten zu können, die eventuell in der Textilindustrie angewandt werden können, also ein weiteres Fallbeispiel aus dem Bereich der Bionik.

Nach einer sehr intensiven Einweisung in die Mikroskopiertechnik war Frau Bérziña bald dazu in der Lage, sich selbständig mit Präparaten der menschlichen Haut, die aus verschiedensten Quellen beschafft werden konnten, auseinanderzusetzen (Abb. 1).

Was war das Resultat all dieser Bemühungen? Für mich sichtbar waren es Ausstellungen, in denen zum einen großformatige, farbintensive Fotos zu einem beeindruckenden Mosaik zusammengefügt (Abb. 2) und zum anderen die Bildinhalte sozusagen zu Diagrammen reduziert und abstrahiert wurden (Abb. 3).

Kommentare zu den Exponaten

Lesen wir dazu auszugsweise die Texte, die Zane zu diesen Mikrofotografien verfasst hat.

Projekt Hautgeschichten: Topographie der Haut

Die Wissenschaft der Biologie erreicht unser tägliches Leben. Sie zwingt uns zur Bewertung

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

Abb. 1: Zane Bérziņa bei der Arbeit an einen Forschungsmikroskop.

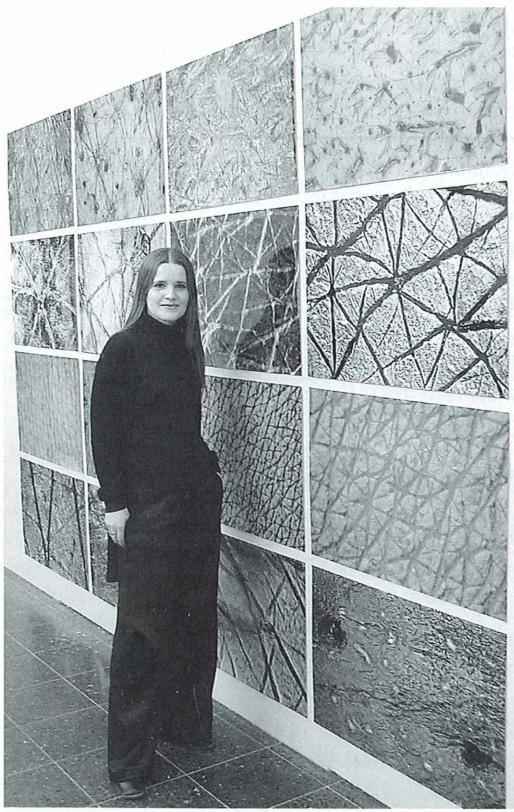


Abb. 2: Zane vor dem beeindruckenden Großmosaik von Hautansichten.

aller jener Bezeichnungen, die für unserer Leben und Selbstvertrauen wesentlich sind: Beschaffenheit, Persönlichkeit, Identität, Gesundheit, Körper, Natur, Schicksal, Schuld. Selbstverständlich ändert sich im Zeitalter der künstlichen Zellen und der optimierten Organismen die Art, das Leben zu betrachten. Traditionelle Grenzen verschwinden. Gene und Organe werden transferiert und ausgetauscht.

Hinsichtlich dieses kulturellen Kontextes und nachdem ich die Haut als Oberfläche während meines Projektes „Tattoos" studiert hatte, sah ich eine Notwendigkeit, den folgenden Schritt in die „Tiefe" der Haut zu unternehmen. Durch die Nutzung von medizinischen Untersuchungsmethoden habe ich die Schichten und die Funktionen der Epidermis mit dem Ziel erforscht, diese Phänomene für meine künstlerische Praxis zu analysieren. Ich habe die anatomischen Strukturen und die Beschaffenheit des menschlichen Hautgewebes mit Hilfe moderner mikroskopischer Technologien dargestellt. Die Resultate habe ich in Form von wissenschaftlichen Bildern, Fotos, Dias und Video-Filmen dokumentiert. Die Auswahl der erfassten visuellen Materialien bilden die Grundlage und die Bezüge für meine kreative Arbeit.

In Zusammenarbeit mit Biologen und Werkstoffwissenschaftlern sowie mit Hilfe neuer Technologien und der Nutzung innovativen Materialien in meiner praxisorientierten Forschung wurde das Projekt ins Leben gerufen. Diese Forschung analysiert, wie wissenschaftliche Gedanken zeitgenössische Kunst und Design beeinflussen und umgekehrt, wie Kunst- und Designpraktiker das Potenzial haben, wissenschaftliche Prozesse zu beeinflussen.

Für das Projekt Hautgeschichten: Topographie der Haut habe ich die wissenschaftliche Fotographie absichtlich als Medium genutzt, um jene Objektivität oder – im Gegenteil – jene Subjektivität eines so persönlichen und intimen Organs wie der menschlichen Haut zu analysieren.

Hautdiagramme

Wissenschaftliche Abbildungen: kann ich meinen eigenen Augen trauen?

Die zunehmend genauere Erfassung der biologischen Daten des Menschen mit Hilfe moderner Untersuchungstechniken erlaubt uns, eine neue Welt zu betreten, und zwar den Mikro-

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

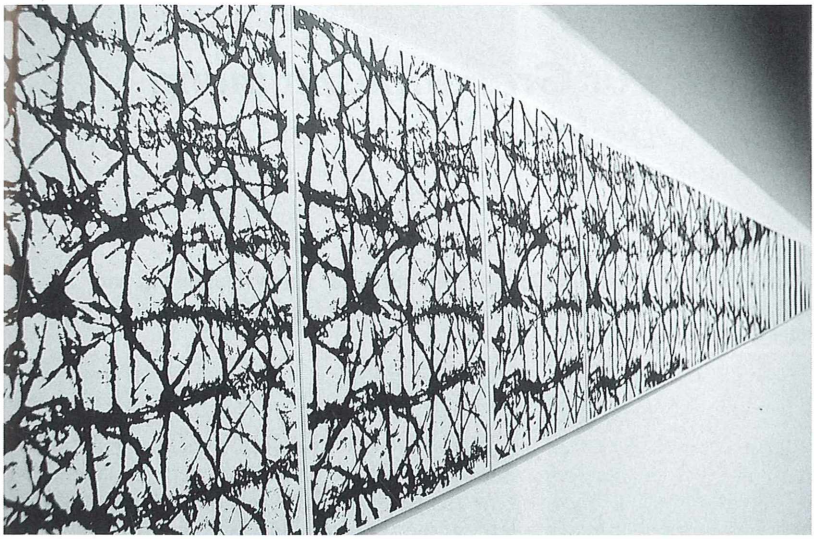


Abb. 3: Diagrammatische Reduktion und Abstraktion der menschlichen Haut.

kosmos des menschlichen Körpers. Unter Zuhilfenahme von wissenschaftlichen Methoden zur Analyse von biologischen Daten der Haut, ihre Struktur und ihrer Funktionen, entstand die Fotoreihe Hautdiagramme.
Diese Arbeit spiegelt die verschiedenen Hautbeschaffenheiten von Menschen diverser Nationalitäten, diversen Alters und Geschlechtes wider. Zu diesem Zweck wurden Hautabdrücke, sogenannte Repliken der hornigen Schicht der Epidermis genommen und mit einem Lichtmikroskop fotografisch erfasst und analysiert.
Das Mikroskop ist ein Instrument zur Erstellung eindrucksvoller Illusionen. Es hat relativ wenig mit sogenannter Objektivität zu tun. Es vergrößert Strukturen innerhalb des Gegenstandes, aber die Wahrheit zeigt es nicht, insbesondere, wenn spezielle Bildwiedergabeverfahren eingesetzt werdent.
Für meine Arbeit habe ich natürlich auch Hautabdrücke benutzt, die von meiner eigenen Epidermis entnommen worden sind. Das histologische Muster wurde mit einem Lichtmikroskop untersucht, fotografiert, und digital in ein schwarz-weiß Bild übersetzt, das dann mehr und mehr vergrößert wurde, bis keine Strukturen mehr von der Hautoberfläche sichtbar waren. Die nacheinander aufgenommenen Sequenzen zeigen den verblassenden Weg bis hin zum abschließenden Bild, das ein vollständig leeres Blatt weißen Papiers ist (Abb. 3).
Topographie der Haut ist auch eine poetische Arbeit über Privatsphäre, Intimität und Nähe.

Neue Horizonte und Zukunftsperspektiven

Als primär nüchtern analysierende Naturwissenschaftler mögen uns Mikroskopikern derartige Texte zu mikroskopischen Bildern zunächst nicht viel sagen, vielleicht sogar eher etwas verwirren. Aber wir sollten uns dieser Interpretationsdimension nicht verschließen und so vielleicht für uns selbst neue Erfahrungshorizonte öffnen.
Was aus diesen mikroskopischen Dokumentationen, Analysen und Interpretationen in der Textilindustrie letztendlich umgesetzt werden kann, vermag derzeitig kaum jemand zu sagen. Fest steht, dass Frau Bérziña bislang viel Energie und Inspiration in ihren Werdegang investiert hat, der geprägt ist durch diverse Praktika und künstlerisch orientierte Forschungsaufenthalte an verschiedenen europäischen Institutionen sowie durch eine Vielzahl kleinerer und größerer Ausstellungen dokumentiert und durch eine beachtenswerte Anzahl von Auszeichnungen gewürdigt wurde. Es würde den Rahmen dieses Berichtes sprengen, alle ihre zahlreichen Aktivitäten und Anerkennungen aufzulisten und zu kommentieren.
Ohne ein großer Prophet zu sein, möchte ich sagen dürfen, dass Zane ihr seit dem Jahr 2000 am Londoner College of Fashion, England, laufendes Promotionsprojekt, in dem die mikroskopische Dimension der menschlichen Haut eine wesentliche Rolle spielt, erfolgreich abschließen wird.

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

Leuchtfeldmikrometer – Ein Messverfahren zur Größenbestimmung mikroskopischer Objekte

Peter Hippe

Die Kenntnis der Größen mikroskopischer Objekte dient nicht nur deren Beurteilung und dem allgemeinen Verständnis mikroskopischer Bilder, sondern ist häufig auch ein wichtiges Indiz bei der Artbestimmung.

Man verwendet dafür Messokulare, bei denen zunächst in Blendenebene – gleich der Ebene des reellen Zwischenbildes – vorhandene Messmarken mit der Teilung eines Objektmikrometers abgeglichen werden müssen. Die verschiedenen Verfahren werden ausführlich in der Literatur beschrieben.
Wie allgemein bekannt ist, gibt es bei eingestellter Beleuchtung nach Köhler eine weitere mit dem Präparat konjugierte Ebene: Die der Leuchtfeldblende. Auch ein hier platzierter Maßstab kann mittels eines Objektmikrometers – einem Objektträger mit 0,01-mm-Teilung – geeicht und wie bei den Messokularen zur Objektmessung verwendet werden. Allerdings ist diese Messmethode nur eingeschränkt anwendbar. Das mag auch der Grund dafür sein, dass sie in der Literatur nicht erwähnt wird. Da das Verfahren andererseits aber sehr praktikabel ist und sogar einige Vorteile bietet, soll es hier behandelt werden.
Bei mir bewährt hat sich dafür eine preisgünstige LOMO-Messplatte mit 0,1-mm-Teilung und 23 mm Durchmesser, Katalog-Nr. 12, der Firma BW-Optik Langner-Voss, D-48683 Ahaus.
Bei einer Kondensorapertur von 1,4 decken sich zum Beispiel fünf Teilstriche des Objektmikrometers mit 8½ Teilungen der Leuchtfeld-Messplatte (Abb. 1), daraus ergibt sich:

0,05 : 8,5 = 0,00588 mm.

Gerundet entspricht ein Teilstrich der Messplatte somit 5,9 µm im Objekt. Bei geschätzter halber Teilung lassen sich mit ausreichender Genauigkeit Objektgrößen von 3 µm bestimmen. Diese Werte sind nicht allgemeingültig, sondern gerätebezogen.
Infolge der Auflagendifferenz der Messplatte muss der Kondensor etwas umfokussiert werden, was die Qualität der Beleuchtung aber nicht mindert. Zur Verringerung der Auflagendifferenz ist die Messplatte mit der Schicht nach unten auf die Frontscheibe des Lichtaustrittes zu legen.

Nachteile des Verfahrens

Mit einem 0,1-mm-Maßstab ist es nur im Hellfeld anwendbar. Die Maßstriche erscheinen im mikroskopischen Bild relativ kontrastarm. Im Phasenkontrast sind die Maßstriche kaum erkennbar. Allerdings gibt es dafür noch eine andere Möglichkeit.

Vorteile des Verfahrens

Für alle Objektiv-Vergrößerungen gilt ein und dasselbe Maßstabverhältnis, lediglich die Kondensorapertur ist maßgebend. Diese wird aber

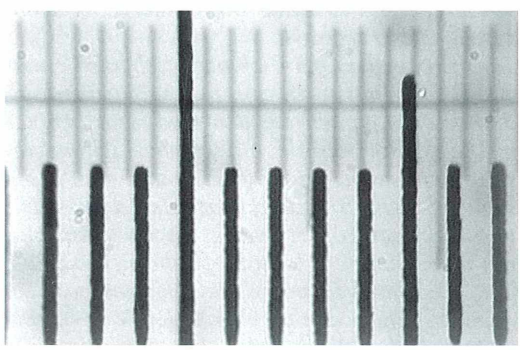
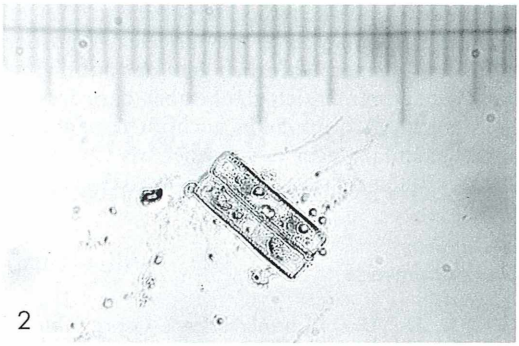


Abb. 1: Objektmikrometer in Deckung mit dem Leuchtfeldmikrometer. 0,05 mm entsprechen 8½ Teilungen von je 5,9 µm.

© Elsevier GmbH. Alle Rechte



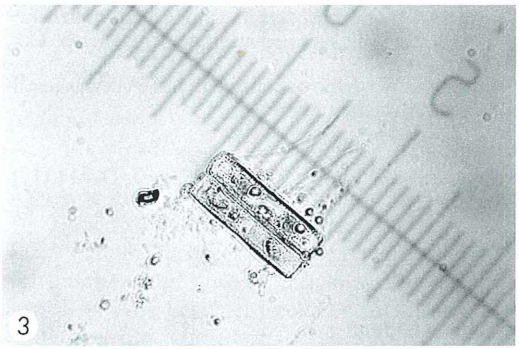


Abb. 2: Hellfeldaufnahme von Kieselalgen mit Maßstab am Bildrand zur bleibenden Vermessung der Aufnahme. – Abb. 3: Hellfeldaufnahme von Kieselalgen, Maßstab am Objekt ausgerichtet, Objektlänge 9½ Teilstriche, entsprechen 56 µm.

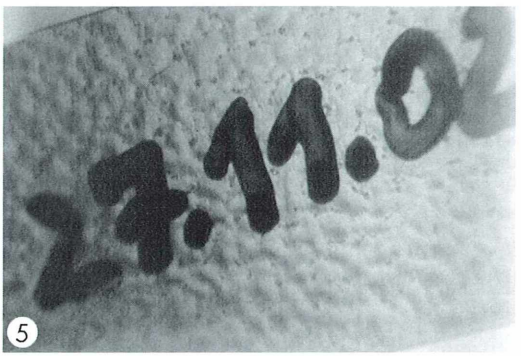


Abb. 4: Phasenkontrastaufnahme einer Schalenamöbe mit Balkenraster, Breite der Balken und Zwischenräume je circa 12 µm am Präparat, Objektlänge circa 54 µm. – Abb. 5: Wiedergabe des Aufnahmedatums zur internen Kennzeichnung einer Aufnahmenserie, Schrifthöhe auf Original (Folie) 2 mm.

erfahrungsgemäß wesentlich seltener als die Objektive – oft auch gar nicht – gewechselt. Die Messplatte kann frei und leicht in der Auflage verschoben werden, sofern ihr Durchmesser kleiner als die Auflagefassung (meist 33 mm) gewählt wurde. Damit kann der Maßstab an jede beliebige Stelle des Präparates platziert und gegebenenfalls so auch leicht dokumentiert werden. An den Rand einer Aufnahme gesetzt, kann der Maßstab bei einer Reproduktion auch weggelassen werden, das Original ist aber dauerhaft bemessen (Abb. 2). Direkt neben einem Objekt erlaubt der Maßstab eine genaue Größenbestimmung desselben (Abb. 3). Die Maßstriche stören dabei infolge ihres relativ schwachen Kontrastes die Aufnahme kaum – also auch ein Vorteil.
Zum Messen muss kein Okular gewechselt werden. Die Messplatte kann eventuell sogar im Leuchtfeld verbleiben; durch leichtes Umfokussieren des Kondensors wird sie unsichtbar. Jede Messplatte, insbesondere aber die oben erwähnte, ist wesentlich preisgünstiger als ein zusätzliches Messokular.

Weitere Möglichkeiten des Verfahrens

Messungen im Phasenkontrast werden mit Balkenrastern möglich, allerdings bei geringerer Auflösung und Objektvergrößerungen bis 40-fach. Diese Raster gibt es mit verschiedenen Balkenfrequenzen. Sie werden zum Testen optischer Systeme verwendet. Hersteller solcher Rasterplatten und -folien ist die Firma Dr. Johannes Heidenhain in D-83301 Traunreut. Abbildung 4 zeigt ein Beispiel im Phasenkontrast mit einer Rasterfolie, Balkenteilung 0,4 mm. Balkenbreiten und Zwischenräume entsprechen je etwa

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

12 µm im Präparat. Bei geschätzten halben Breiten sind immerhin circa 6 µm messbar.
Außer Messplatten projiziert der Kondensor auch alles andere in die Präparateebene. Leidvolle Erfahrungen hat jeder Mikroskopiker da sicher schon mit Staubpartikeln gemacht. Auf Klarfolie geschriebene Registrierdaten, wie beispielsweise das Aufnahmedatum, können so zur internen Kennzeichnung von Video-Sequenzen oder Foto-Filmen dienen (Abb. 5).
Das Kleinbildformat von 24 mm × 36 mm zeichnet mit einem 10fach-Projektiv in der Nähe der Leuchtfeldblende etwa folgende Bildbreiten auf:

- Kondensorapertur 1,4
  20fach-Objektiv = 6,8 mm Breite
  40fach-Objektiv = 3,4 mm Breite
- Kondensorapertur 0,9
  10fach-Objektiv = 8,3 mm Breite
  20fach-Objektiv = 4,1 mm Breite

Mit Feinstrich-Folienschreibern lässt sich leicht eine Schrifthöhe von 2 mm erzielen, Künstler können es kleiner. Natürlich geht das auf digitalem Wege eleganter; ich glaube aber, dass das optisch-mechanisch durchaus auch interessant sein kann. Jedenfalls geht es schneller, als Computer hochfahren und Programm aktivieren.

Literaturhinweise

Gerlach, D.: Das Lichtmikroskop. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1985.
Göke, G.: Moderne Methoden der Lichtmikroskopie. Frank'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1988.
Nachtigall, W.: Mikroskopieren. BLV Verlagsgesellschaft, München 1994.

Verfasser: Peter Hippe, Zur alten Säge 7, D-94431 Pilsting

Brasilien :
Zukunft durch ökologischen Landbau

Foto: Ulrich Ide

Zum Wohl der Erde

Die Männer und Frauen im Zentrum für alternative Landwirtschaft (CAA) staunen: So also verändert sich der Boden, wenn er ökologisch bearbeitet wird: In der Tiefe noch hart und lehmig, ist er oben jetzt locker und fruchtbar. Lernen, was der Erde und dem Wohl der Menschen dient: Das Zentrum in Minas Gerais im Norden Brasiliens bringt Bäuerinnen bei, wie man ökologisch Hausgärten anlegt und Vieh hält. Und ihre Männer lernen, Felder zu bestellen, ohne den Boden auszulaugen.

„Brot für die Welt" setzt sich für die Arbeit des Zentrums ein.
Ihre Spende hilft!

Brot für die Welt
Ein Stück Gerechtigkeit

Postbank Köln
Konto 500 500-500
BLZ 370 100 50
Postfach 10 11 42
70010 Stuttgart

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

Mikro-Einsteiger

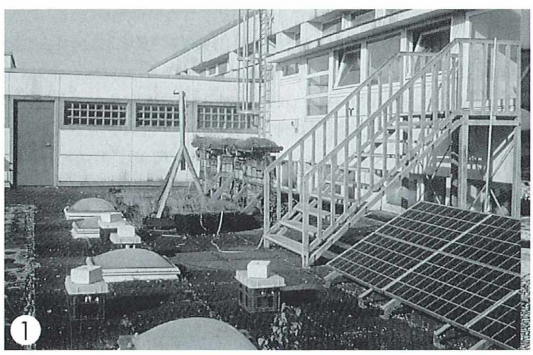
Safari durch die Punica-Oase

Modellversuche zur Gewässerökologie *

Erich Lüthje

Haben Sie Lust auf eine mikroskopische Safari? Dann durchstreifen Sie – das Einvernehmen einer bekannten Fruchtsaftfirma stillschweigend vorausgesetzt – mit mir die „Punica-Oase" der Werbung, welche wir für diesen Pirschgang kurzerhand unter Wasser verlegen.

Die erforderliche Ausrüstung (Abb. 1–3): Jeder Safari-Teilnehmer beschafft sich einen Sechserkasten mit leeren 1-Liter-Saftflaschen und nummeriert diese mit den Ziffern 1–6. Aus beschichtetem Draht lassen sich Einhänge für Kunststoffwäscheklammern biegen. Eine Klammer hält pro Flasche ein Paar Objektträger mit Schriftfeld (z.B. Menzel SuperFrost Color), die den sechs Flaschen entsprechend mit 1A/1B bis 6A/6B gekennzeichnet sind. Mit der Aufschrift nach innen hängen sie an der Klammer möglichst senkrecht und zentral in der Flasche. In jedes Gefäß kommt ein Liter Wasser aus einem See (oder einem anderen Gewässer). Unser experimenteller Ansatz: Wir ahmen mittels geeigneter Zusätze umweltrelevante Einflüsse auf ein natürliches Gewässer nach. Für unser Experiment können wir zwar die Umwelt nicht naturbelassen auf Flaschen ziehen. Aber wir erreichen eine modellhafte Annäherung, indem wir die Saftflaschen aus der oberen ufernahen Wasserschicht des Sees befüllen – dem relativ stark durchlichteten Epilimnion, wo eine positive Photosynthesebilanz Algen wachsen und Nahrung für die Konsumenten produzieren lässt (trophogene Schicht). Auf den Objektträgern entwickeln sich wie am natürlichen Standort Aufwuchsorganismen, die in ihrer Gesamtheit Epiholon genannt werden. Je nach Substrat handelt es sich im Gewässer



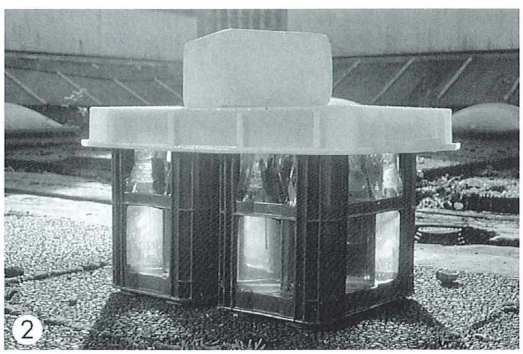


Abb. 1: Im Atriumhof des Schuldaches läuft der ökologische Modellversuch Punica II: Jeweils zwei Punica-Kästen mit 2×6 offenen Flaschen stehen hier circa zwei Wochen unter einer Abdeckung. – Abb. 2: Die beprobten Flaschen müssen im Tageslicht stehen. Ein Versuch Punica I im Schullabor scheiterte an Lichtmangel (zu geringer Aufwuchs).

* Erweiterte Fassung eines Vortrages vor der Berliner Mikroskopischen Gesellschaft (BMG) am 1.11.2002.

© Urban & Fischer Verlag

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

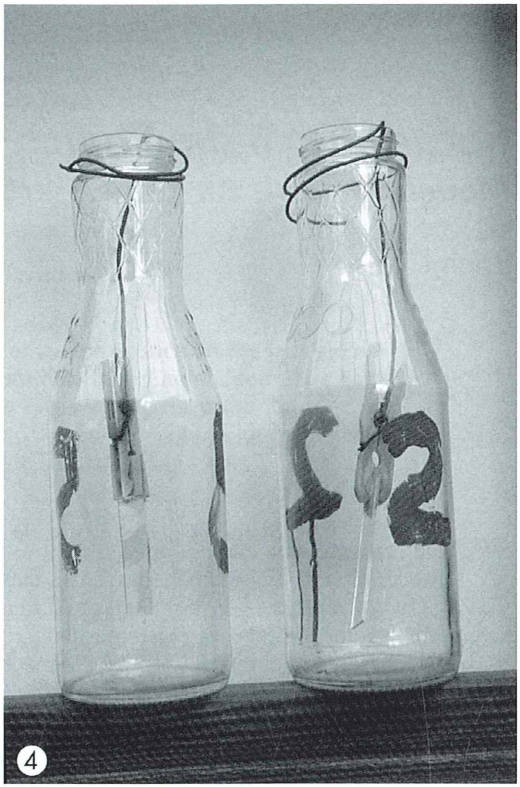


Abb. 3: Eine Schülerin bestückt eine ihrer Flaschen mit dem Testzusatz (Kochsalzlösung). Drahteinhänge mit Wäscheklammern und Objektträgerpaaren liegen für weitere Flaschen bereit. – Abb. 4: Zwei nummerierte Flaschen mit eingehängten Objektträgern. Die mehr oder minder starke Schräglage des Trägerpaares ist ein wichtiger Faktor für den künftigen Aufwuchs.

um Epiphyten (auf Pflanzen lebende Organismen), Epizoen (auf Tierkörpern lebende Organismen) oder Epilithen (auf Steinen lebende Organismen) (Rudzinski, 1987). Unsere Objektträger ersetzen am ersten wohl die Steine des flachen Seeufers, aber wir dürfen ihren Besatz zum großen Teil auch auf Pflanzen (z.B. Schilfhalmen) und Tieren (z.B. Schnecken und Muscheln) erwarten. Außer festsitzenden Organismen werden sich im Miniwald der Algen, Glockentierchen und Co. auch etliche Freigänger finden – mobile Ciliaten etwa.

Anders als am natürlichen Standort gibt es in der Punica-Oase keine Strömung, keinen Wellenschlag, keine größeren Tiere und Pflanzen. Der Sauerstoff- und Kohlendioxidgehalt weicht – mangels Austausches mit dem übrigen See – sicherlich erheblich von den Standortwerten ab. Auch die Temperatur wechselt in den Flaschen stärker als im größeren Wasservolumen nahe dem Seeufer. Neue Nährstoffe – etwa als Kot von Vögeln, Fischen und Wasserflöhen oder aus dem Sediment – kommen während der Versuchsdauer nicht hinzu. Am ehesten dürfte die Lichtzufuhr mit den Verhältnissen im Flachwasser übereinstimmen. Aber ein Modell bleibt unser Gewässer in der Saftflasche allemal.

Man nehme was?

Folgende Substanzen kommen beispielsweise für unsere Versuche als Zusätze infrage, um bestimmte anthropogene Störungen nachzustellen:
- Flüssiger Blumendünger (für Düngeeinträge aus der Landwirtschaft),
- Kochsalz (für Streusalzeintrag im Winter),
- Rohrzucker und
- Milch (für organische Verunreinigungen durch ungeklärte Abwässer),

© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://w

– Salpeter- und Schwefelsäure (für Einwirkungen des Sauren Regens),
– Waschmittel (für Belastungen durch häusliche Abwässer).

Für die Bestückung unserer sechs Punica-Flaschen stehen zwei Wege offen: I) Wir geben zu jeder Flasche einen *anderen* Zusatz (die Kontrollflasche ausgenommen), oder II) wir testen einen *einzelnen* Zusatz in *verschiedenen Konzentrationen*.

Für den Einstieg empfehle ich den ersten Ansatz – er führt in der Regel zu klaren Unterschieden auf den Objektträgern und erleichtert die ökologische Deutung. Das zweite Verfahren ist anspruchsvoller und erfordert eine genaue Untersuchung der einzelnen Träger.

In beiden Fällen nehmen wir nach etwa zweiwöchiger Versuchsdauer die Träger aus den Flaschen. Wollten wir sie sogleich mikroskopieren, wären wir vom Aufwuchs – zumindest auf den Kontrollträgern – vermutlich begeistert. Zwei Probleme stehen indes einer eingehenden Versuchsauswertung im Wege: Mangelnde Artenkenntnis sowie die schnelle Vergänglichkeit des Probenmaterials. Wir wenden daher eine Radikalkur an, lassen die Träger kurz abtropfen und überschichten sie mit einer Farblösung. Sehr gut bewährt sich, wiewohl hier eher unkonventionell eingesetzt, Etzold's Farbgemisch (ASF; beziehbar z.B. bei Chroma). Auch Astrablau-Safranin und Giemsalösung führen zum Ziel. Diese Tinkturen bestehen aus blauen und roten Komponenten, welche sich im Kontakt mit dem Aufwuchs entmischen. Ist die Farblösung angetrocknet, wird sie abgespült. Die Träger müssen erneut trocknen; dann decken wir sie mit Euparal und 24×60 mm-Deckgläsern ab. Von Vorteil ist es, wenn Randbereiche ungefärbt bleiben – so haben wir später auch die natürlichen Farben der aufgetrockneten Organismen vor Augen, beispielsweise grüne, chlorophyllhaltige Organismen. Im Trockenschrank bei 40 °C werden die Träger binnen 24 Stunden gebrauchsfertig; andernfalls dauert der Vorgang je nach Wetter und Wärme einige bis etliche Tage.

Im Mikroskop sehen wir jetzt ein regloses Stillleben farblich verfremdeter Organismen. Diese Dauerpräparate können wir in aller Ruhe auswerten und mit anderen vergleichen. In der

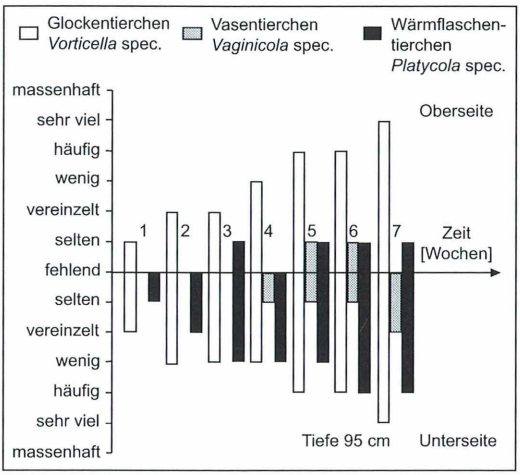
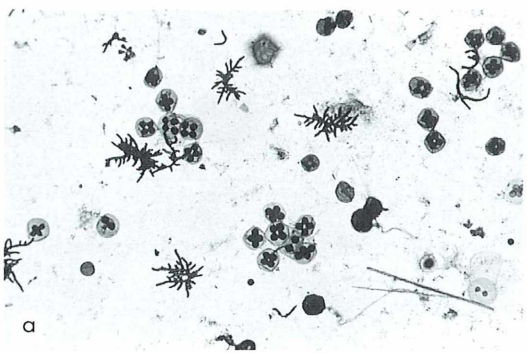


Abb. 5: Auf exakt waagerecht exponierten Objektträgern besiedeln Glockentierchen (*Vorticella* spec.) die Ober- und Unterseite nahezu gleich stark, während Vasentierchen (*Vaginicola* spec.) und Wärmflaschentierchen (*Platycola* spec.) die Unterseite bevorzugen (aus Rudzinski, 1987).



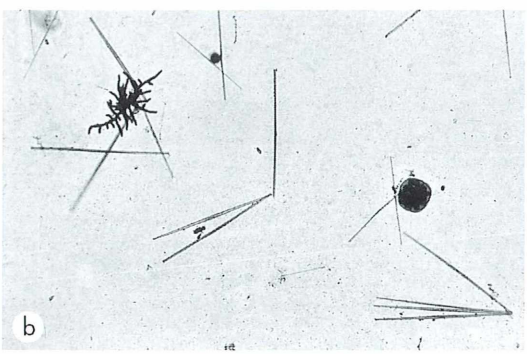
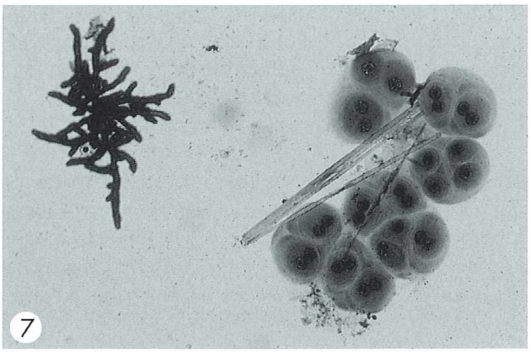


Abb. 6a und b: Ein Trägerpaar ist auf beiden Seiten unterschiedlich stark bewachsen. Giemsa-Färbung (auch auf den folgenden Mikroaufnahmen). Vergr.: 120×.

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



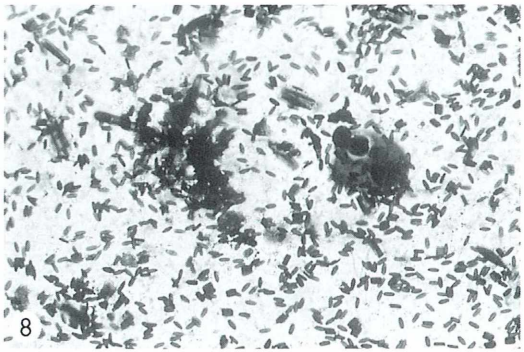


Abb. 7: Diese drei markanten Aufwuchsorganismen waren auf allen Kontrollträgern der Punica II-Serie regelmäßig vertreten. In den Protokollen der Schüler liefen sie unter den Bezeichnungen Tannenzweige, Stäbchen und Spiegeleier als Referenzobjekte. Vergr.: 240×. – Abb. 8: Der Zusatz von flüssigem Blumendünger brachte bereits in schwächster Dosierung einen enorm verdichteten Aufwuchs hervor. Hier überwuchern (auf dem Kontrollträger nicht bemerkte) Kieselalgen einen kleinen Tannenzweig und ein Spiegelei (Referenzorganismen): Drastische Biomassenzunahme sowie Veränderung des Artenspektrums als Eutrophierungseffekte. Vergr.: 240×.

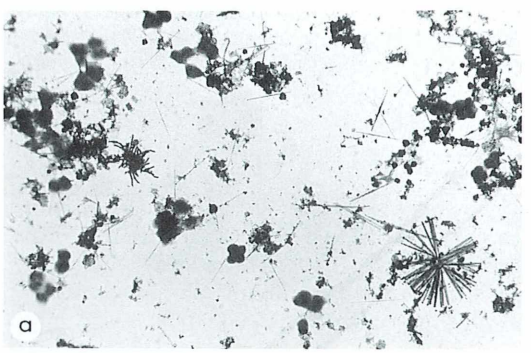
Schulpraxis habe ich gute Erfahrungen mit diesem Verfahren gemacht.

Wie sollst du sie befragen?

Nach welchen Regeln können wir die jeweils 12 gefärbten Dauerpräparate eines Ansatzes auswerten?

1) Die Frage *Was ist das?*, häufig bereits ein Stolperstein, ist verboten. Ich habe vordergründige Schülerneugierde zum Beispiel mit folgender Antwort befriedigt: Das ist *Semicurvum rostratum, eine Cypsacacee*. Beeindruckt Schweigen. *Und was nützt Ihnen diese Auskunft? Was wissen Sie jetzt mehr als eben?* Nichts – umso weniger, als ich fiktive Namen benutzte. Ohne Frage ist eine Artbestimmung beispielsweise nach dem *Leben im Wassertropfen* (Streble und Krauter, 2002) erstrebenswert. Für die Auswertung der Träger ist sie aber nicht erforderlich.

2) Nun suchen wir auf den Kontrollträgern nach auffälligen Objekten, die wir eindeutig von anderen unterscheiden können. Sie erhalten (nötigenfalls) anstelle von Artnamen beschreibende Bezeichnungen – Tannenzweige, Spiegeleier, Kugeln, Stäbchen, Armbänder und so weiter. Die seriöseren Glockentierchen, Wärmflaschentierchen und Vasentierchen se-



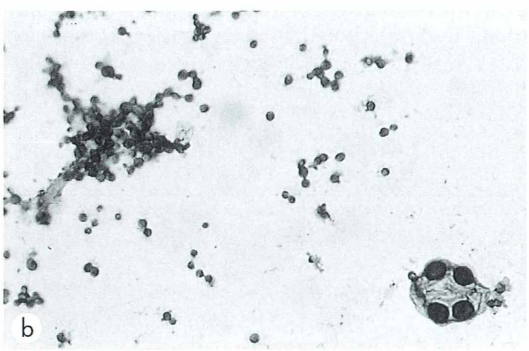


Abb. 9a und b: Während auf dem Kontrollträger (9a; pH 7) Tannenzweige, Stäbchen und Spiegeleier vorherrschen, erweisen sich bei pH 5 (9b) Punkte (coccale Algen) als relativ resistenter. Vergr.: Abb. 9a 60×, Abb. 9b ca. 240×.

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

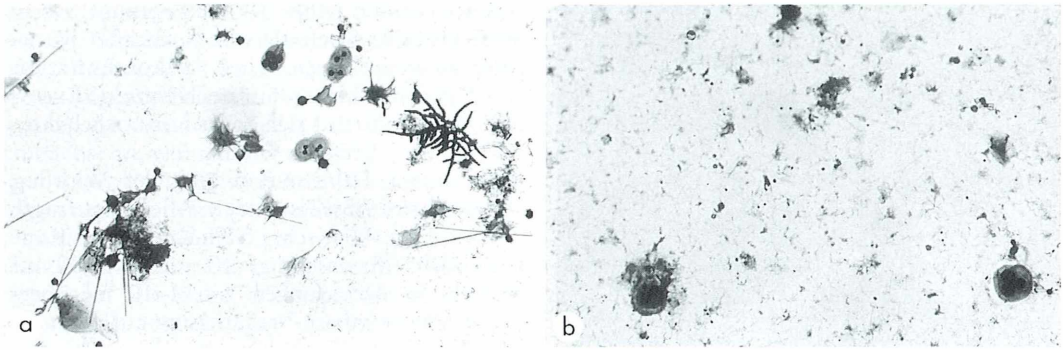


Abb. 10a und b: Eine komplexe Gewässerverschmutzung mit Eiweißen, Kohlehydraten und Fetten fördert die abbauenden Bakterien (Destruenten) und drängt höhere Organismen zurück. Kontrollträger (10a) mit den drei Referenzorganismen sowie einigen Punkten; Testträger (10b) nach Zusatz von 0,5 ml Kondensmilch nur noch mit einigen Punkten und Spiegeleiern. Vergr.: 120×.

geln unter ähnlicher Flagge. Außerdem hat sich dieses Verfahren in der Schulpraxis auch bei der Freilandbotanik bewährt.

3) Aus diesen Krustenalgen, capsalen, coccalen Grünalgen sowie stab- beziehungsweise kreisförmigen Kieselalgen und so weiter wählen wir drei bis vier als Referenzorganismen, skizzieren und beschreiben sie (Abb. 7).

4) Nun vergleichen wir die Träger 1–5 mit dem Kontrollträger: Ist der Aufwuchs insgesamt dichter oder spärlicher? Kommen die Referenzorganismen zahlreicher, seltener oder gar nicht mehr vor? Sind sie größer oder kleiner als auf dem Kontrollträger? Treten neue Formen hinzu? Wie verhält es sich mit der bakteriellen Besiedlung?

Erlebnisse und Ergebnisse

Die erste Umschau in der Punica-Oase bringt eine Überraschung: Meistens unterscheidet sich der Bewuchs auf Träger A erheblich von Träger B (Abb. 5 und 6). Ursache ist ein offenbar recht wesentlicher Ökofaktor: Die Exposition der Unterlage. Bedingt durch den starren Draht, hängt das Trägerpaar mehr oder minder schräg in der Flasche. Dabei wird die eine Seite leichter besiedelt als die andere (Rudzinski, 1987). Wir wählen aus praktischen Gründen stets den dichter bewachsenen Träger für die weitere Analyse. Hier liegt allerdings ein Knackpunkt des Verfahrens: In der Mehrzahl der Fälle erwies sich die Besiedlung des anderen Trägers als vernachlässigbar dünn. Bisweilen fanden sich hier aber Arten in größerer Menge, die auf dem Referenzträger fehlten oder nicht auffielen. Dann muss man bei der Auswertung beide Träger im Auge haben. Bei künftigen Versuchen werde ich die Klammern an einen Faden hängen, um eine senkrechte Ausrichtung der Träger herbeizuführen.

Bunte Mischung

Meine ersten Punica-Safaris führte ich im Sommer 2001 durch. Zu jeder Flasche (1–5) gab ich nach Methode I einen anderen Zusatz: Flasche 1: Flüssigdünger Algoflash (3 ml), Flasche 2: Flüssigdünger floraplus (3 ml), Flasche 3: Kochsalz (3 g), Flasche 4: Zucker (3 g), Flasche 5: Milch (3 ml); Flasche 6: Kontrolle. Die fünf Objektträger zeigten gegenüber der Kontrolle signifikante Veränderungen (Auswahl): So hatte der Düngerzusatz einen dichteren Besatz und auch größere Einzelexemplare der Grünalge *Coloechaete* spec. zur Folge. Unter den Kieselalgen traten zwei Arten massenhaft in Erscheinung. Bei Kochsalzzugabe verschob sich das Artenspektrum (offenbar zugunsten salzverträglicher Formen): Bei 3 Promille überwog eine stabförmige Kieselalge, bei 6 Promille eine coccale Grünalge. Zucker und Milch ließen Bakterien üppigst gedeihen, während alle anderen Aufwuchsorganismen stark zurücktraten (Lüthje, 2002).

Im Laufe des Sommers war überdies zu beobachten, dass sich der Aufwuchs des selben Gewässers änderte. Zeitgleiche Proben aus ver-

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

Abb. 11: Unerlässlich für die Auswertung der Objektträger ist ein Kreuztisch. Ein Kurssatz neuer Mikroskope mit Semiplanoptik hatte beim Projekt Punica II Premiere.

schiedenen Gewässern ergaben unterschiedliche Epiholongramme auf den Trägern. Hier tut sich ein weites Experimentierfeld auf. Man könnte die Flaschen beispielsweise mit Fundortwasser befüllen und dann unterschiedlichen Temperaturen oder Lichtverhältnissen aussetzen. Die Skala experimenteller Variationen ist nach oben offen.

Steigende Belastung

Im Sommer 2002 startete ich mit meinem Ökologie-Leistungskurs (13. Jahrgang) das Projekt Punica II. Nach Methode II ließ ich Substanzen in steigender Konzentration zu den Flaschen geben. Eine Schülerin wollte eine toxische Substanz testen und wählte das Kochsalz: Wieviel Promille vertrug der Aufwuchs? Würden sich die Referenzorganismen als unterschiedlich resistent erweisen (Abb. 3)? Ihr Ergebnis: Schon bei 2 Promille Kochsalz war ein starker Rückgang zu verzeichnen. Eine Salzkonzentration von 5 Promille hielten nur noch einzelne Exemplare aus, während sich sonst nur noch Bakterien auf dem Träger befanden.

Eine andere Teilnehmerin ging der Wirkung ungereinigter Abwässer nach. Allerdings fragte sie sich recht skeptisch, ob ein Zusatz von Kondensmilch (Verdünnung: 10 ml auf 200 ml Wasser) in Abstufungen von 1–10 ml überhaupt eine sichtbare Veränderung auf den Objektträgern hervorrufen werde. Davon konnte sie sich überzeugen (Abb. 10a und 10b): Träger 5 (10 ml Kondensmilch) zeigte außer Punkten und einigen Spiegeleiern nur noch einen dichten Bakterienbelag – ein Hinweis auf den erfolgten Abbau des organischen Zusatzes. Bei geringer Konzentration (Träger 1) stellte sie unter anderem eine leichte Zunahme der Tannenzweige fest und sah darin die Düngewirkung der bakteriell freigesetzten Abbaustoffe. Flüssiger Blumendünger (als Auslöser des Eutrophierungseffekts) verstärkte erwartungsgemäß den Aufwuchs (Abb. 8). Gegenüber dem Kontrollträger verzeichnete der Schüler bereits bei geringster Zugabe (Lösung: 5 ml Dünger auf 50 ml Wasser; davon 5 ml zu Flasche 1) einen enorm verdichteten Aufwuchs. Dabei traten neue Besiedler (kleine Kieselalgen) in spektakulären Massen auf. Mit Salpetersäure imitierte ein weiterer Schüler einen Aspekt des Sauren Regens (Abb. 9a und 9b). Er stellte die Flaschen 1–5 auf pH 6–2 ein (Kontrolle: pH 7). Bei pH 3 fand er seine Referenzorganismen Spiegeleier und Stäbchen nur noch vereinzelt vor, bei pH 2 verzeichnete er nurmehr Bakterien. Ähnlich wirkt der Saure Regen zum Beispiel auf skandinavische Seen, die zwar klar und sauber erscheinen, aber fast ohne höheres Leben sind.

Aus der Schule geplaudert

Bei ihren Experimenten mit den Punica-Flaschen waren die Kursteilnehmer mit Interesse bei der Sache (was in Sichtweite des Schulabschlusses nicht selbstverständlich ist). Die zeitgleiche Anschaffung neuer Mikroskope mit Kreuztisch (Abb. 11) und Semiplanoptik beflügelte ihren Eifer merklich. Nicht immer konnten sie bei der mikroskopischen Arbeit Übereinstimmung mit ihren Hypothesen protokol-

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

lieren (*Je mehr Dünger, desto dichter der Bewuchs* oder *Je mehr Säure, desto artenärmer der Aufwuchs*). Kopfzerbrechen bereiteten etwa folgende Befunde: Bei zunehmender Düngerzugabe wächst die Zahl der Stäbchen zunächst an, während sie auf Träger 3 und Träger 4 abnimmt. Auf Träger 5 erscheinen sie dann explosionsartig vermehrt. Ebenso fraglich erschien eine von Träger zu Träger schwankende Besiedlungsstärke bei zunehmender Säurezugabe. Um diese Widersprüche zu klären, erfand ich notgedrungen eine neue pädagogische Disziplin – Objektträger korrigieren. Fazit meiner Nachuntersuchungen: Beide Kursteilnehmer hatten entgegen der methodischen Vorgabe auch schwächer besiedelte Trägerexemplare ihrer Serie untersucht. Etwas zu gut meinte es schließlich ein Schüler mit dem Waschmittelzusatz. Bereits in Flasche 1 gab er die Gebrauchsmenge für den häuslichen Waschgang, dann steigerte er die Zugabe von Flasche zu Flasche um den Faktor 2. Entsprechend hygienisch sahen seine Träger aus: *Meine Annahme hat sich erfüllt, aber ich habe nicht damit gerechnet, dass so viele Organismen schon auf dem 1. Träger nicht mehr zu finden sind.* Was der Saubermann übersehen hatte: Einige Spiegeleier hatten sogar den stärksten Zusatz überdauert.

Literaturhinweise

Lüthje, E.: Das Labor in der Saftflasche. Biologie in unserer Zeit *32*, 184–187 (2002).
Rudzinski, H.-G.: Aufwuchsorganismen. Unterricht Biologie 11, *129*, 31–35 (1987).

Verfasser: Dr. Erich Lüthje, Kruppallee 13, D-24146 Kiel

Buchbesprechung

Hofrichter, R. (Hrsg.): Das Mittelmeer – Fauna, Flora, Ökologie. – Band II/1, Bestimmungsführer. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2003, 859 Seiten, zahlreiche Abbildungen, € 59,95
ISBN 3-8274-1090-8.

Nach dem bereits erschienenen, sehr überzeugenden *Allgemeinen Teil* (Band I) ist nun der erste Teil des zweibändigen Bestimmungsführers zur Fauna, Flora und Ökologie des Mittelmeers auf den Markt gekommen. Auf 859 Seiten wird ein weites Spektrum an Prokaryoten (Bakterien), Protisten (kernhaltige Einzeller), Pilzen, Makroalgen, Seegräsern und einem Teil der niederen Tiere vorgestellt. Im März 2004 sollen die verbleibenden Tiergruppen in Band II/2 behandelt werden. Von allen Organismengruppen werden zunächst die allgemeinen Charakteristika und Lebensweisen erläutert, bevor konkrete Tipps zur Untersuchungsmethode und Bestimmung folgen. Wichtige Begriffe beziehungsweise morphologische Besonderheiten der jeweiligen Organismengruppe werden gesondert vorgestellt. Kurze Bestimmungsschlüssel führen in der Regel innerhalb eines Taxons zu weiteren Untergruppen. Schlüssel zu den Arten sind nicht vorhanden, doch können viele Arten anhand der detaillierten Charakterisierungen und (Lebend-)Abbildungen erkannt werden.
Dem großen Autorenteam aus etwa 50 hervorragenden Fachwissenschaftlern verdankt das Buch eine hohe Qualität und Aktualität. Eine schöne Ergänzung zum beschreibenden Teil sind Themenblöcke, die beispielsweise auf aktuelle Erkenntnisse zur Phylogenie, Historie der Entdeckung oder unerwartete Besonderheiten der Organismen eingehen. Einen guten Überblick über die Vielfalt der bisher im Mittelmeer aufgefundenen Arten/Gattungen geben Tabellen, die zum Teil auch Angaben zum Vorkommen, der Ernährungsweise oder, bei parasitischen Formen, zu den Wirten enthalten. Das Werk ist, nicht zuletzt durch die Vielzahl von glänzenden Farbfotos und Schemazeichnungen, sehr lebendig, was für ein Bestimmungsbuch beileibe nicht selbstverständlich ist. Alle Natur begeisterten Menschen, seien es Fachleute, Taucher oder schlicht Urlauber können mit diesem Buch Vieles, was sie gefunden oder gesehen haben, erkennen und zuordnen, und das mit Spaß.

Renate Radek, Berlin

Copyright © 2003 Elsevier GmbH. All rights reserved. http://www.elsevier.de/

Kurze Mitteilung

Neue Bezugsquelle für Polyacrylamid

Im MIKROKOSMOS Heft 2/1993 auf den Seiten 99–111, wird in dem Beitrag „Gelegte Präparate von Protisten – Vergessene und neue Methoden" von der Verwendung einer Acrylamidlösung nach Raap als Klebgrund für gelegte Präparate von Protisten berichtet. Wie Herr Eberhard Raap aus Sangerhausen mitteilt, wird das kationenaktive Polyacrylamid ZETAG 57 zurzeit nicht mehr von der Firma Allied Colloids GmbH in Hamburg vertrieben, sondern als ZETAG 7557 von der Firma CIBA Spezialitätenchemie mit Sitz in Lampertheim als Sackware in den Handel gebracht. Es soll mit dem ZETAG 57 identisch sein. Herr Raap teilt dazu mit, dass dieses Polyacrylamid als Flockungshilfsmittel bei der maschinellen Schlammentwässerung in vielen Kläranlagen verwendet wird und in den kleinen Mengen, die der Mikroskopiker benötigt, mit etwas Freundlichkeit dort erworben werden kann.

Anschrift des Lieferanten (für Mikroskopiker in der Gegend von Lampertheim):
CIBA Spezialitätenchemie Lampertheim GmbH,
Chemie-Str., D-68623 Lampertheim,
Tel.: 062 06/15-0,
Internetadresse: www.cibasc.com.

Gerhard Göke

Aus den Arbeitsgemeinschaften

Mikroskopische Gesellschaft Wien

Programm

September bis Dezember 2003

02.09.: Mikroprojektion – Besprechung von Präparaten, Kurzvorträge, Berichte
09.09.: Dr. Karl Brantner: Präparationsabend (Botanik)
13.09.: Mikroskopietag 2003 bei Univ.-Doz. Dr. F. K. Ruzicka in Engelhardstetten 30. Beginn: 9.45 Uhr (Vorträge)
16.09.: Dr. Hans Frey: Rundreise durch die Welt der Parasiten (mit Dias)
23.09.: Univ. Prof. Dr. Wilhelm Foissner (Universität Salzburg): Rezente und fossile Thekamöben im Rasterelektronenmikroskop (mit Dias)
30.09.: Vinzenz Ondrak: Die Bearbeitung von Mikro-Digitalbildern (Computer)

07.10.: OStR Prof. Peter Schulz: Präparationsabend (Botanik)
14.10.: Mag. Walter Ruppert: Unterwasserparadiese der Welt (mit Dias)
21.10.: Alfred Schultes: Mikro-Dias-Abend
28.10.: Hermann Hochmeier: Präparationsabend (Diatomeen)

04.11.: Herbert Fidi: Präparationsabend (Botanik)
11.11.: Univ.-Lektor Dr. Ing. Wilhelm Bauer: Kulturhistorisch und völkerkundlich interessante Materialien (mit Videofilm und Dias)
18.11.: Dr. Thomas Kann: Präparationsabend (Histologie)
25.11.: Peter Recher: Das Leben im Wassertropfen (mit Videofilm)

02.12.: OStR Prof. Erich Steiner: Präparationsabend (mikropaläontologisches Material)
09.12.: Weihnachtsfeier

Anmerkung: Die MGW bietet gegen Porto- und Versandspesenersatz Lebendmaterial *(Euglena viridis* und *Paramecium caudatum)* an. Lieferzeit circa vier Wochen nach Bestellung.
Alle Vorträge und Kurse finden in den Räumen der Gesellschaft in Wien, Marinelligasse 10a an Dienstagen statt und beginnen um 19.15 Uhr. Gäste sind willkommen.

Kontaktadresse: OStR. Prof. Erich Steiner, A-1120 Wien, Aßmayergasse 11/6; Tel./Fax: 01/813 84 46.

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

1. Der MIKROKOSMOS veröffentlicht Aufsätze, Übersichtsbeiträge, Kurzmitteilungen, Hinweise auf interessante neue Arbeitsverfahren oder Präparationsanleitungen sowie technische Innovationen aus allen Teilbereichen der Mikroskopie.

2. Die Redaktion bittet, Manuskripte grundsätzlich nur auf einseitig beschriebenen, fortlaufend nummerierten DIN A4-Bögen einzureichen. Jede Manuskriptseite sollte mit doppeltem Zeilenabstand beschrieben werden. Der Text sollte durch Zwischenüberschriften untergliedert werden. Am Ende des Manuskriptes steht die vollständige Autorenadresse. Soweit möglich sollten die Manuskripte zusätzlich zur Hardcopy als 3,5″-Diskette (kein Macintosh) ohne Formatierung als Word-Dokument eingereicht werden.

3. Tabellen und Bildlegenden (beide jeweils fortlaufend nummerieren) bitte nicht in den Haupttext einbauen, sondern als Anhang auf eigene Manuskriptseiten schreiben. Alle Abbildungen fortlaufend im Text zitieren und Abbildungen gesondert beifügen.

4. Bildvorlagen sind Farbdias (für die sw-Reproduktion) jeglicher Größe, kontrastreiche sw-Fotos sowie druckfertige Strichzeichnungen und Graphiken. Elektronische Abbildungen nur als Tiff-Dateien (300 dpi) auf CD-R (bis 700 MB) einreichen; bitte keine CD-RWs oder DVDs verwenden. Alle Materialien namentlich kennzeichnen. Auf den Originalabbildungen keine Beschriftungen vornehmen, sondern nur auf Kopien oder durchscheinenden Deckblättern. Vergrößerungen von Mikrofotos sollten erst anhand der Bildandrucke berechnet werden, die vor Drucklegung zusammen mit den Korrekturandrucken der Artikel den Autoren zugeschickt werden. Die Bilder werden in drei verschiedenen Breiten (1-spaltig, 1,5-spaltig, 2-spaltig) reproduziert. Es können mehrere Bilder zu Tafeln kombiniert werden.

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

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

Zitate von Zeitschriftenbeiträgen:
Kreutz, M., Mayer, Ph.: *Vampyrella* parasitiert *Endorina elegans*. Mikrokosmos 92, 1–6 (2003).

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

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

7. Jeder Autor erhält von seinem Beitrag vor dem Druck einen Andruck zum Gegenlesen. Korrekturen müssen sich auf Satzfehler beschränken. Umfangreiche Textnachträge oder Umstellungen sind aus Kostengründen nicht möglich.

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

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

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

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

Mikrokosmos
4/2003 1 (6)

510543
Bibliothek des OÖ.
Landesmuseums

Museumstraße 14
4020 Linz

300229

der Extraklasse!

...k – jetzt ...nderausgabe!

Statt € 258,–

Jetzt nur € 49,95!!

Die Sonderausgabe des *Lexikon der Optik* sorgt in zwei handlichen Bänden für einen ebenso aktuellen wie umfassenden Überblick über sämtliche Teildisziplinen der Wissenschaft von Licht und Wahrnehmung. Es verbindet die physikalischen Grundlagen der Optik und der klassischen Theorie der optischen Abbildung mit den modernen Disziplinen wie Quanten- und nichtlineare Optik, optische Nachrichtenübertragung, Bildverarbeitung und -speicherung, Mikrooptik und Lasermedizin.
Darüber hinaus dient das mit seinem breiten Spektrum konkurrenzlose Werk als wertvolles Nachschlagewerk für alle Anwendungsbereiche der Optik wie Augenoptik und Ophtalmologie und beschreibt ausführlich optische Geräte (photoelektrische Nachweisgeräte, Laser) und Verfahren (z.B. Interferometrie).
Mit dieser preisgünstigen Sonderausgabe sparen Sie über € 200,– gegenüber der Originalausgabe!!

- Zwei Alphabetbände, über 400 S. pro Bd., br., im Schuber
- 3.200 Stichwörter insgesamt
- verfasst von über 70 renommierten Autoren
- ca. 600 Abbildungen (z.T. vierfarbig), über 6.000 Verweise und 5.000 Formeln
- Gesamtausgabe in 2 Bde. : € 49,95, ISBN 3-8274-1422-9
- Erscheinungstermin: Juni 2003

Ein unentbehrliches Werk!

„Alles in allem ist das Lexikon der Optik in zwei Bänden ein unentbehrliches Werk für alle, die aus beruflichen Gründen oder aus Interesse an technischen Themen „durchblicken" wollen und deshalb einen schnellen Zugriff auf zuverlässiges und fundiertes Fachwissen zu schätzen wissen."
Physik in der Schule

„Zum Beginn des „Jahrhunderts des Photons" kommt dieses Lexikon gerade recht: Jedermann, der sich von Berufs wegen im Feld der Optik betätigt, sollte es sich gönnen."
LaserOpto

„Endlich wieder kann man sich über den letzten Stand der Optik und ihrer Teilbereiche gültig informieren. Physiker, Ingenieure, Wissenschaftler, Lehrer und Schüler, interessierte Augenoptiker und Augenärzte werden es honorieren." *Focus*

„Ein Nachschlagewerk der Extraklasse ... es ist ein Wissensspeicher, den man gern zur Hand nimmt. Ein Werk ohne Fehl und Tadel."
Telekom praxis

▶▶ Bitte kopieren und faxen an: 07071/935393 ◀◀

Ja, ich bestelle gegen Rechnung und habe 14 Tagen volles Rückgaberecht!

Ex.	Titel
	Sonderausgabe Lexikon der Optik zum Preis von € 49,95; *ISBN 3-8274-1422-9* (ET: 6/03)

- Sämtliche Preise verstehen sich zzgl. Versandkosten (im Inland: € 3,50 pro Lieferung)
- Preise unter Vorbehalt. Alle Buchpreise enthalten 7% MwSt.

Datum/Unterschrift

E-Mail

Meine Anschrift:

Name/Vorname

Straße

PLZ/Ort

Spektrum AKADEMISCHER VERLAG

Bestellen können Sie ■ telefonisch 07071/935369 ■ per Fax 07071/935393 oder ■ per Mail: shop@spektrum-verlag.de

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Mikrokosmos, Zeitschrift für Mikroskopie

Jahr/Year: 2003

Band/Volume: 92_4

Autor(en)/Author(s):

Artikel/Article: Mikrokosmos 92_4 1