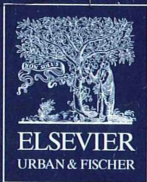


II 90372/94,5

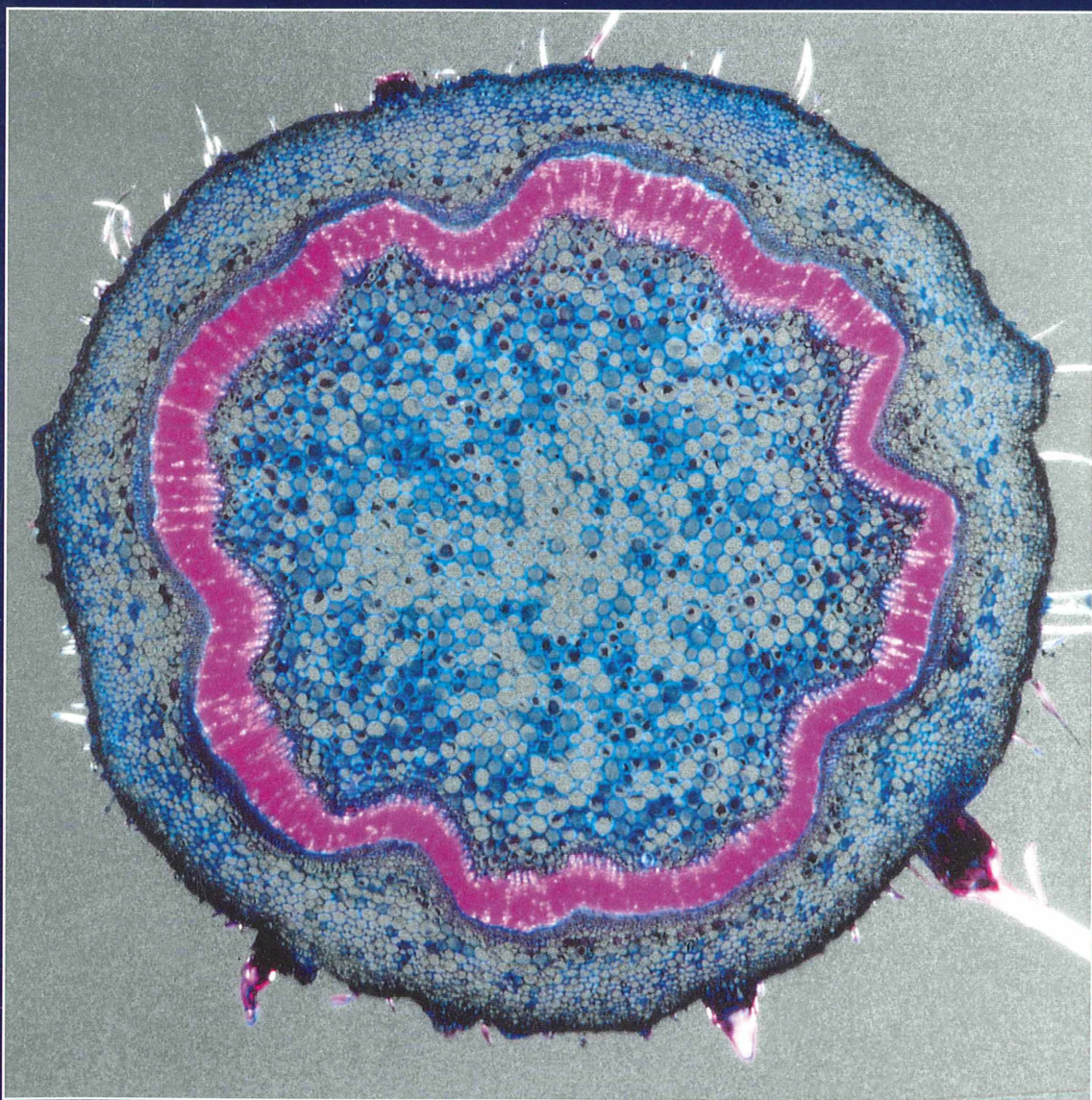


# MIKROKOSMOS

Heft 5  
94. Jahrgang  
September 2005

◆ [www.elsevier.de/mikrokosmos](http://www.elsevier.de/mikrokosmos)

ISSN 0026-3680





# MIKROKOSMOS

Zeitschrift für Mikroskopie

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

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

## Inhalt

### Artikel

- 257** Aulosphaera – Eine kugelige Radiolarie aus der Tiefsee  
*Klaus Hausmann*
- 265** Die Bewertung von Fließgewässern nach der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie (EG-WRRL)  
*Hartmut Poschwitz*
- 269** Perfekte Handschnitte mit einfachen Hilfsmitteln  
*Klaus Herrmann und Heinz Streble*
- 275** Bestimmung Numerischer Aperturen – Teil 1: Geometrisch-optisch  
*Hinrich Husemann*
- 283** Mundgliedmaßen von Insekten  
*Siegfried Hoc*
- 287** Moderne Schmiermittel für die Mikrotomie  
*Gerhard Kauer*
- 291** Weißer Schaum – Krustiger Rotz: Calcitkristalle  
*Eberhard Schnepf*
- 300** Ist Geiz wirklich geil – Lohnt sich ein Mikroskop vom Discounter?  
*Hans-Jürgen Voß und Erich Saake*
- 304** Ringförmige Beleuchtung:  
Ein einfaches Verfahren zur Steigerung von Auflösung und Kontrast  
*Pascal Ballester und Gunther Chmela*
- 311** Optische Aufheller: Leuchtende Werkzeuge für die Mikroskopie –  
Teil 3: Zum Wachstum von Wurzelhaaren der Kresse  
*Eberhard Schnepf*

### Rubriken

- 261**  
Aus der Industrie
- 262, 272, 298**  
Nachrichten
- 274, 290**  
Buchbesprechungen
- 290**  
Mikro-Ufo
- 294, 318**  
Kurze Mitteilungen
- 295**  
Mikro-Kids
- 310**  
Mikro-Cartoon
- 319**  
Aus den  
Arbeitsgemeinschaften  
Mikro-Markt

Im elektronischen MIKROKOSMOS-ARCHIV

[www.elsevier.de/mikrokosmos](http://www.elsevier.de/mikrokosmos) werden mit Erscheinen dieses Heftes vier Artikel über das Limnoplankton im Kreislauf des Jahres aus den Bänden 21 (1927/28), 22 (1928/29) sowie 23 (1929/30) wiedergegeben.

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

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

Mehr Informationen zum MIKROKOSMOS und anderen Zeitschriften finden Sie im Internet:  
[www.elsevier.de](http://www.elsevier.de)

*Umschlagabbildung:* Natternkopf (*Echinum vulgare*), Querschnitt durch einen Stängel im schwach polarisierten Durchlicht (Präparat und Foto K. Herrmann). Siehe Artikel von K. Herrmann und H. Streble, S. 269–271.



# Aulosphaera – Eine kugelige Radiolarie aus der Tiefsee

Klaus Hausmann

Das Objekt, oder besser der Organismus, von dem im Folgenden die Rede sein soll, wurde im Rahmen der Tiefsee-Expedition DIVA II im Südatlantik vor der Westküste Afrikas im Frühjahr 2005 aus einer Tiefe von rund 5.000 Metern an Bord des deutschen Forschungsschiffs METEOR gebracht. Es war Frau Dr. Ute Mühlenhardt-Siegel, eine Spezialistin für Cumaceen (Schlickkrebse) von der Universität Hamburg, die im Verlaufe ihrer stereomikroskopischen Routinedurchsichten der Tiefseesedimente eine wenige Millimeter große Kugel fand, die einerseits relativ unscheinbar, fast nur wie ein Detritusaggregat aussah, andererseits aber peripher herausragende Stäbchen trug, die vielleicht doch auf etwas Komplexeres hinwiesen.

Die Vermutung lag nahe, dass es sich um einen Vertreter aus der zurzeit als polyphyletisch eingestuften Gruppe der Radiolarien handelte. Es war bald klar, dass das vorliegende Präparat eine Art Gitterkugel darstellte, die zunächst aber noch mit Detritusmaterial gefüllt und davon auch bedeckt war und somit ihre wahre Gestalt nicht preisgab.

## Ultraschall bringt Klarheit

Um die unerwünschten Verschmutzungen möglichst schonend zu entfernen, wurde das Präparat einer mehrere Minuten andauernden Ultraschallbehandlung unterzogen. Als nach stereomikroskopischer Kontrolle keine Sedimentpartikel mehr sichtbar waren, wurde bereits bei schwacher Vergrößerung erkennbar, dass es sich bei dem Untersuchungsobjekt in der Tat um eine Gitterkugel mit polygonalen Unterstrukturen handelte, deren kleinste Einheit Dreiecke darstellen.

Eine entsprechende Literaturrecherche zeigte sehr schnell, dass diese Kugel ein Einzellerskelett war. Und es dauerte auch nicht lange, bis Ernst Haeckel als Erstbeschreiber der *Aulosphaera* genannten Einzellergattung ermittelt wurde (Abb. 1). Der gefundene Einzeller gehört also zu den Radiolarien und wird hier innerhalb der Klasse Phaeodarea in die Ordnung Phaeosphaerida gestellt. Die Untergliederung der Phaeodareen in weitere sechs Ordnungen

könnte eine weitreichende Kenntnis der Biologie dieser Einzeller vermuten lassen. Bei genauerem Literaturstudium stößt man allerdings recht schnell an die Grenzen des zur Verfügung stehenden Wissens über die Phaeodareen.

## Zur Biologie der Phaeodareen

Phaeodareen finden sich im Oberflächenwasser wie in Tiefseeregionen der Weltmeere, bis hin

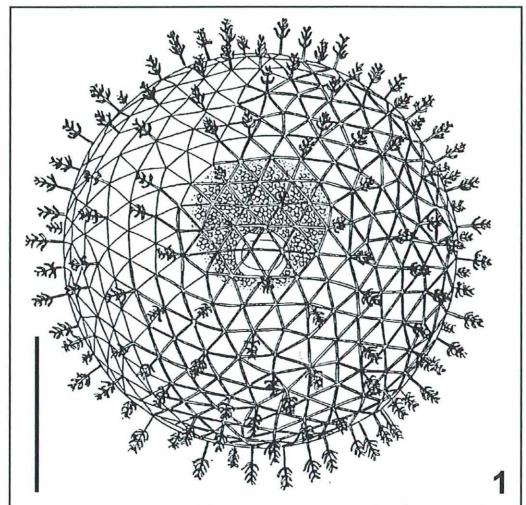


Abb. 1: *Aulosphaera dendrophora* (nach Haeckel, 1887). Maßstrich 1 mm.



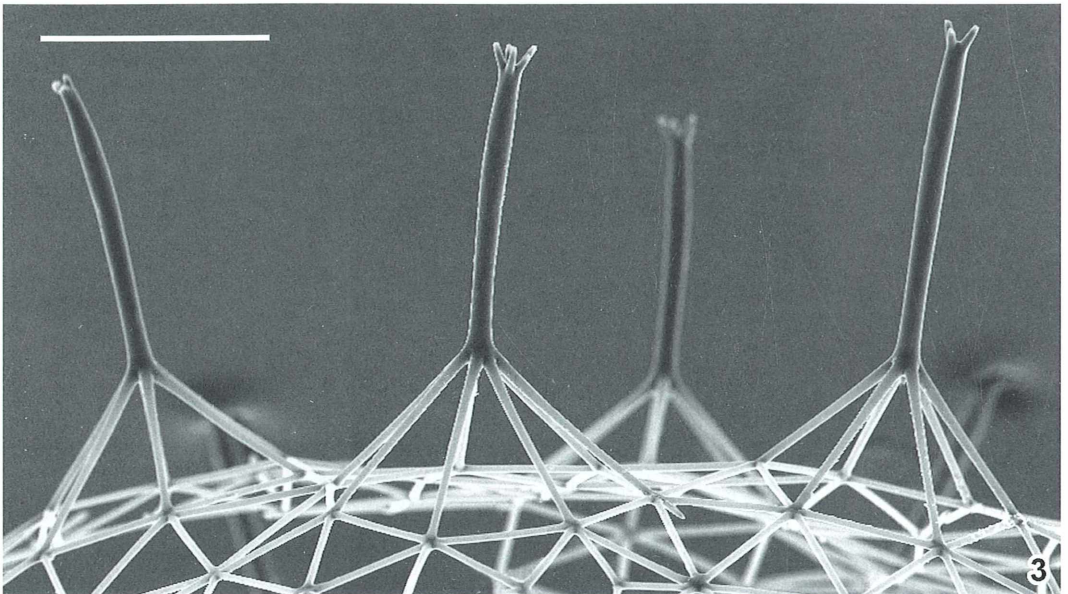
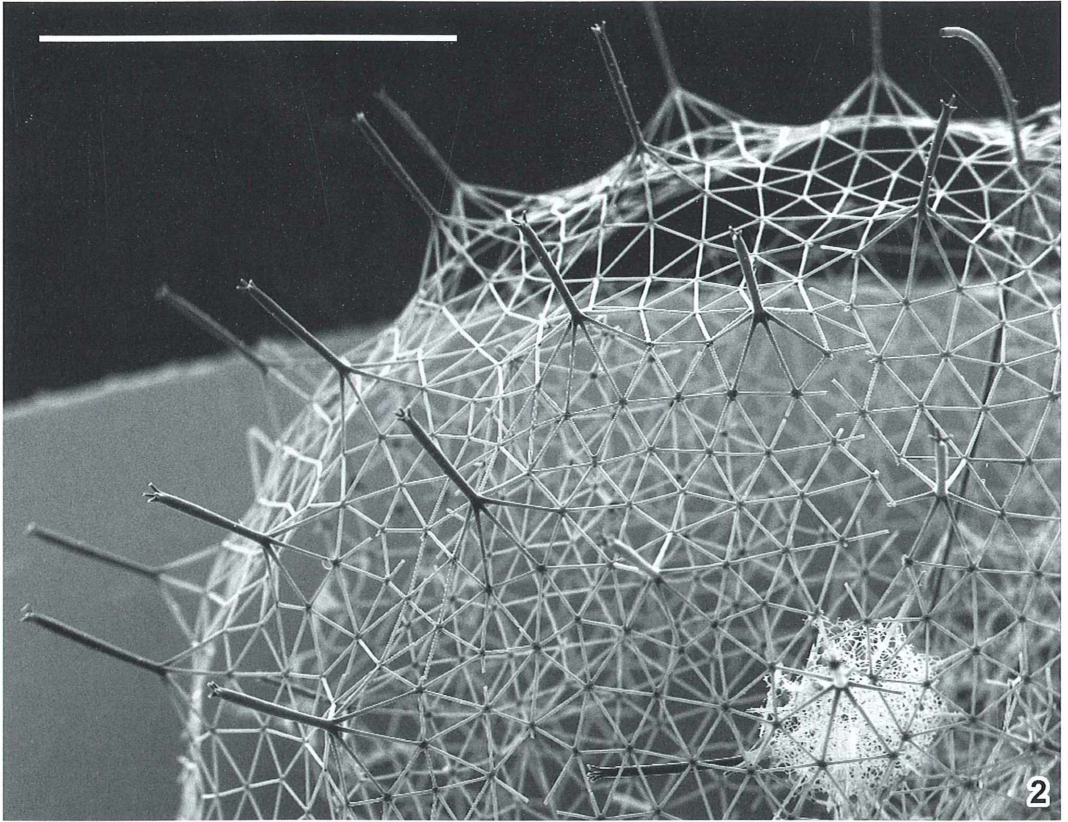
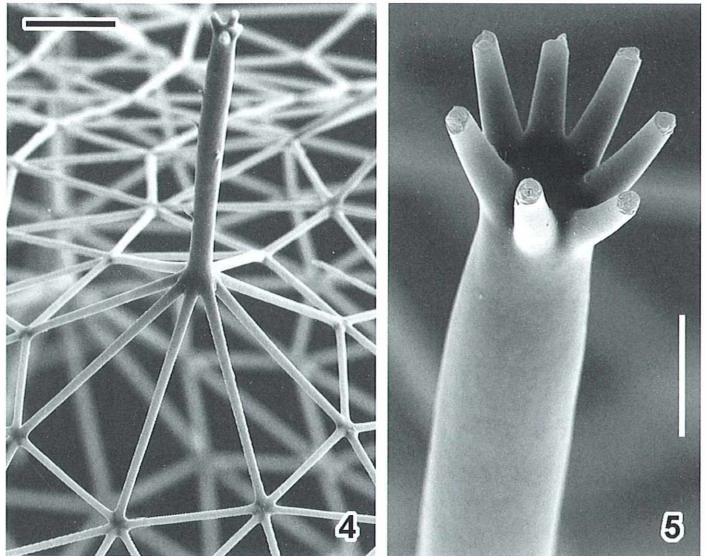


Abb. 2–8: Rasterelektronenmikroskopische Abbildungen. – Abb. 2: Segment einer *Aulosphaera*-Kugel. Die Struktur unten rechts mag ein Überbleibsel des Phaeodiums sein. Maßstrich 1 mm. – Abb. 3: Aus der Peripherie der Gitterkugel herausragende Stabelemente mit einer pyramidalen Basis. Maßstrich 250  $\mu$ m.



**Abb. 4:** Periphere Pyramidenstruktur mit zentralem Stabelement. Maßstrich 100 µm. – **Abb. 5:** Spitze eines Stabelements mit Resten von Apikalstrukturen. Maßstrich 25 µm.



zu 8.000 Metern Tiefe. Ihre Größe variiert zwischen rund 50 Mikrometern und einigen Millimetern.

Eine Zentralkapsel aus organischem Material wird von einem kugeligen, anorganischen Endoskelett umgeben. Dieses ist aus regelmäßig angeordneten, stabförmigen Unterstrukturen aufgebaut. Man weiß, dass die meist hohlen Skelettelemente aus amorphem Silikat bestehen, das mit Spuren von Magnesium, Kalzium und Kupfer versetzt ist. In der Zentralkapsel finden sich drei Öffnungen, nämlich eine Astropyle, die als Mundapparat fungieren soll, und zwei auf der gegenüberliegenden Seite angeordnete Parapylen, durch welche sich die für Radiolarien typischen Axopodien nach außen erstrecken. Im Bereich der Astropyle findet sich eine dichte, dunkel pigmentierte, Phaeodium genannte granuläre Masse, die mit dem Silikatstoffwechsel der Zelle in Zusammenhang gebracht wird.

Der meist kugelige Kern nimmt einen Großteil der Zentralkapsel ein. Im Verlaufe der Fortpflanzung teilt sich der Kern vielfach. Das Cytoplasma wird auf zahlreiche kleine Schwärmer verteilt, die jeweils mit einem Kern ausgestattet sind. Wie die weitere Entwicklung verläuft, ist unklar.

Im Gegensatz zu den beiden anderen Radiolariengruppen, den Acanthareen und den Polycystineen, beherbergen Phaeodareen keine photosynthetisch aktiven Symbionten. Sie er-

nähren sich heterotroph. Dabei scheinen Phaeodareen Generalisten zu sein, die ein weites Nahrungsspektrum zeigen. Neben einzelligen Organismen wie Bakterien, coccale Algen, Diatomeen und Tintinniden werden auch Vielzeller wie beispielsweise kleine Crustaceen ingestiert. Viel mehr ist über die Biologie der Phaeodareen nicht in Erfahrung zu bringen.

### **Details machen den Unterschied**

Im Zusammenhang mit dem vorliegenden Organismus wird in der Literatur immer wieder auf die oben erwähnte Publikation von Ernst Haeckel aus dem Jahr 1887 verwiesen. Die Suche nach Veröffentlichungen jüngerer Datums blieb erfolglos.

Auf Grund der Strukturbesonderheiten der Gitterkugel und wegen ihrer Größe von circa vier Millimetern im Durchmesser gehört die gefundene Phaeodaree sicherlich zur Gattung *Aulosphaera*, weicht aber in Details von der bislang einzig beschriebenen Art *A. dendrophora* ab. Diese Abweichungen werden im Folgenden mit Hilfe von rasterelektronenmikroskopischen Abbildungen illustriert.

Das die Zentralkapsel umgebende Skelett besteht aus den erwähnten dreieckigen Untereinheiten (Abb. 2 und 6) und es gibt auch die typischerweise aus der Kugeloberfläche herausragenden Stabelemente, die sich aber im vorlie-



genden Fall nicht unmittelbar aus der Peripherie erheben, sondern – wie bei gewissen Zeltkonstruktionen – eine pyramidenartige Basis aufweisen (Abb. 3 und 4). Man kann vermuten, dass diese Konstruktion einen gewissen Grad an Stabilität des Endoskeletts für den mehrere Millimeter großen Einzeller gewährleistet, im

Gegensatz zu den unmittelbar aus der Kugelperipherie herausragenden Stäben von *A. dendrophora*. Die Spitzen der Stäbe tragen auch keine bäumchenartigen Fortsätze, wie es für *A. dendrophora* (Artnamen) typisch ist (Abb. 1), sondern von einer gemeinsamen Basis ausgehende Endglieder, die im vorliegenden Präparat aller-

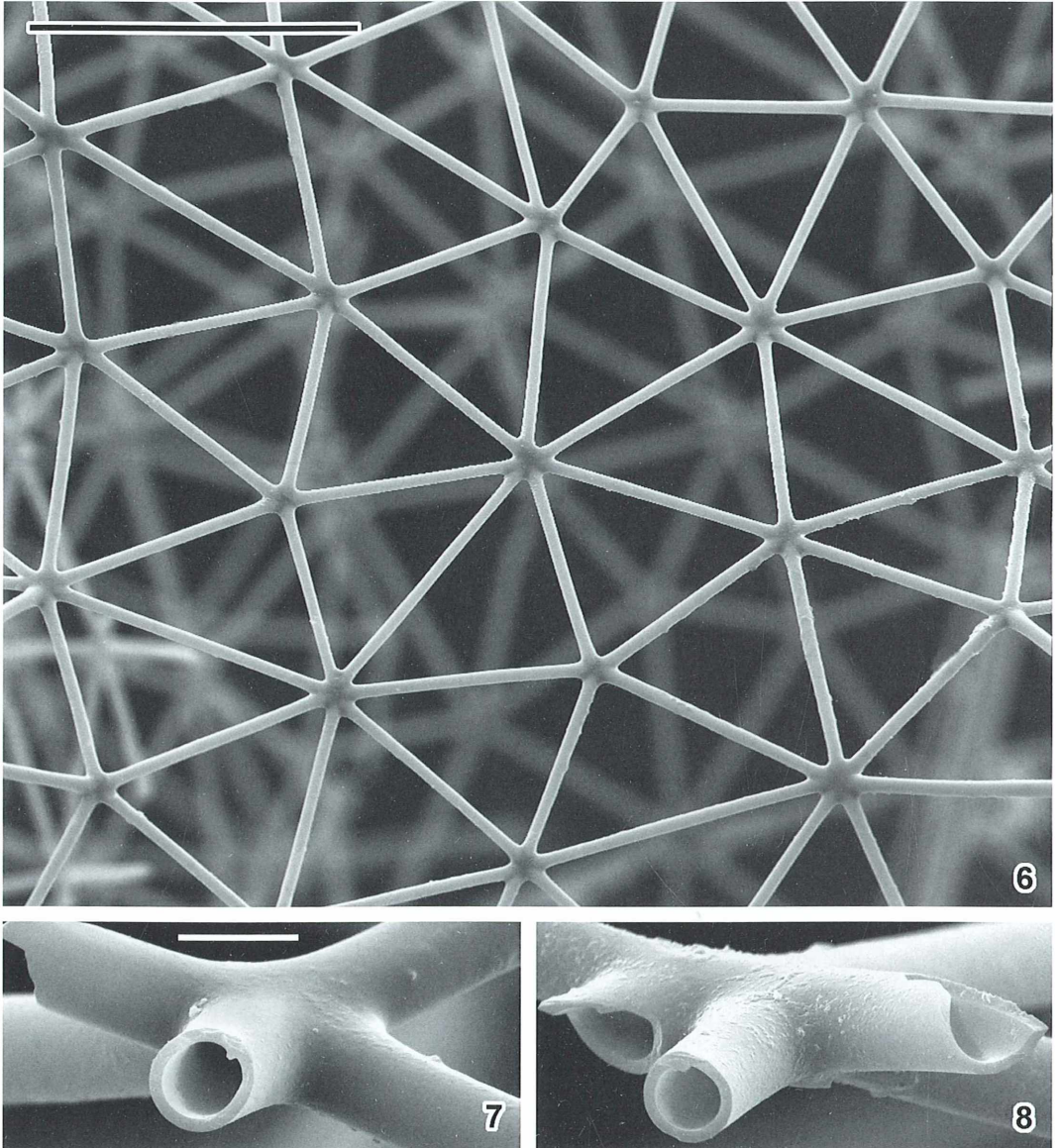


Abb. 6: Auf ungleichschenkeligen Dreiecken beruhende penta-, hexa- und septamere Symmetrieverhältnisse. Maßstrich 200  $\mu\text{m}$ . – Abb. 7 und 8: Aufgebrochene Grundbauelemente der Gitterkugel mit einer einheitlichen Röhrenwandung von 1  $\mu\text{m}$  Dicke. Maßstrich 10  $\mu\text{m}$ .



dings abgebrochen erscheinen, so dass deren wirkliche Gestalt und Dimension nicht angegeben werden können (Abb. 4 und 5).

Bemerkenswert ist die Konstruktion des großen Kugelskeletts insofern, als dreieckige Grundeinheiten verwandt werden, die dann aber nicht gleichschenkelig sind. So gesehen sollte es nicht verwundern, dass verschiedene Symmetrien verwirklicht werden. Es finden sich penta-, hexa- und septamere Anordnungen unmittelbar nebeneinander auf kleinstem Raum (Abb. 6), resultierend in einer großen ebenmäßigen Kugelstruktur.

Wie Brüche in dem Skelett belegen, sind die stabförmigen Grundelemente in der Tat Röhren mit einer einheitlichen Wandung von einem Mikrometer Dicke (Abb. 7 und 8). Dieses deutet drauf hin, dass der Entstehung dieser Röhren regelmäßig ablaufende Selbstorganisationsprozesse zugrunde liegen, die in einer stabilen, gleichzeitig aber auch Material sparenden Hohlkonstruktion resultieren.

### **Die Bionik ist gefordert**

Dieses Beispiel zeigt wieder einmal mehr, dass die Natur bezüglich der jeweiligen Ansprüche optimierte Konstruktionsprinzipien entwickelt

hat, welche der Mensch sehr genau studieren sollte, um elementare Bauprinzipien zu erkennen und für menschliche Bedürfnisse umzusetzen, ein Bestreben, das sich seit einigen Dekaden die Bionik auf das Panier geschrieben hat (Nachtigall, 2002).

### **Danksagung**

Bei Frau Dr. Ute Mühlenhardt-Siegel, Universität Hamburg, möchte ich mich ganz herzlich für die Überlassung des Präparats bedanken.

### **Literaturhinweise**

- Anderson, O. R.: Radiolaria. Springer Verlag, Heidelberg 1983.  
 Haeckel, E.: Report on Radiolaria collected by H. M. S. Challenger during the years 1873-1876. In: Thompson, C. W. and Murray, J. (eds.): The Voyage of the H. M. S. Challenger. Her Majesty's Stationary Office, London, volume 18, pp. 1-1803.  
 Nachtigall, W.: Bionik – Grundlagen und Beispiele für Ingenieure und Naturwissenschaftler, 2. Auflage. Springer Verlag, Heidelberg 2002.

*Verfasser:* Prof. Dr. Klaus Hausmann, Freie Universität Berlin, Institut für Biologie/Zoologie, Arbeitsgruppe Protozoologie, Königin-Luise-Str. 1-3, D-14195 Berlin; e-mail: [hausmann@zedat.fu-berlin.de](mailto:hausmann@zedat.fu-berlin.de)

## **Aus der Industrie**

### **Leica Microsystems präsentierte neue Fluoreszenz-Systeme auf der „Focus on Microscopy 2005“ in Jena**

Der Auftritt von Leica Microsystems auf der *Focus on Microscopy 2005* in Jena vom 19. 3.–23. 3. 2005 stand in diesem Jahr ganz im Zeichen der optischen Hochauflösung und Fluoreszenzausbeute. Unter dem Motto *Simply Brilliant!* präsentierte das Wetzlarer Optikunternehmen seine jüngste Produktgeneration für die Forschungsmikroskopie.

Auf den Spuren des großen Mikroskop-Pioniers Ernst Abbe stellte Leica Microsystems in Jena ein Verfahren zur grundlegenden Verbesserung der Abbildungsschärfe in der Lichtmikroskopie vor: Mit dem Leica TCS 4Pi, dem ersten kommerziellen 4Pi-Mikroskop der Welt, das in Zusammenarbeit von Professor Stefan Hell, Direktor am Max-Planck-Institut in Göttingen, und Leica Microsystems entstand, lassen sich Strukturen axial 3- bis 7-mal höher auflösen. In der 3D-Fluoreszenzmikroskopie angewendet, erlaubt die 4Pi-Technologie einen signifikan-

ten Zugewinn an Detailschärfe und strukturellen Informationen, der so mit keinem kommerziellen Fluoreszenzmikroskop erreicht werden kann.

Jüngste Forschungsergebnisse aus der Fluoreszenzmikroskopie wurden in verschiedenen Vorträgen von Leica Microsystems präsentiert: Neben den aktuellsten Ergebnissen aus der 4Pi-Technologie ging es um neue analytische Werkzeuge für die Konfokalmikroskopie sowie um Live Cell Imaging in der Weitfeld-Mikroskopie.

Weitere Informationen unter

[www.leica-microsystems.com](http://www.leica-microsystems.com) oder

Dr. Kirstin Henze, Leica Microsystems AG, Ernst-Leitz-Straße 17–37, D-35578 Wetzlar, Tel.: 064 41/29 25 50, e-mail: [kirstin.henze@leica-microsystems.com](mailto:kirstin.henze@leica-microsystems.com)



# Nachrichten

## 13. Treffen der Mikroskopiker auf dem Wohldenberg



Für das 13. Treffen der Freunde der Mikroskopie waren 26 Teilnehmer angereist (Abb. 1), auch Freunde aus den Niederlanden und Österreich, und Harald Sarebjörk kam sogar per Flugzeug aus Schweden. Wie schon in den vergangenen Jahren, lag der Schwerpunkt der mikroskopischen Tätigkeit in der Bearbeitung von botanischen und histologischen Schnitten, die Karl Brügmann als Paraffinschnitte mitbrachte. Diese wurden von ihm vor Ort entparaffiniert und über absteigende Alkoholstufen in Wasser überführt. Für die botanischen Schnitte hatte Herr Brügmann drei Färbungen ausgewählt, die sich problemlos bei diesem Treffen anwenden ließen und bei allen Teilnehmern gute Erfolge ergaben (Abb. 2). Neben der bekannten Etzoldfärbung wurde noch Kallichrom (Auramin und Kresylechtviolett) und Astrablau / Acridinrot verwendet. Außerdem hatte er auch uneingebletete Holzschnitte mitgebracht, die immer ein wenig sperrig sind und einiges Geschick in der Weiterverarbeitung erfordern, um sie ohne Falten und Risse auf die Objektträger zu bekommen. Außerdem wurde auch eine ganz Anzahl Schnitte mit tierischem/menschlichem Material verarbeitet. Als Färbungen wurde Gomori, Azan variiert mit Kern-echtrubin und van Giesons Färbung mit Weigert-Eisenhämatoxylin (zur Kerndarstellung) verwendet. Auch wurden wieder zwei Gesteinsschliffe angefertigt. Herr Lohr hatte zwei Präparate vorbereitet, und die Teilnehmer mussten nur noch den Feinschliff auf circa 30 µm mit Hilfe von Schleifpulver durchführen. Es handelte sich um einen Diorit (Nero Impala) und einen Granodiorit (Bianco Christall), beide Steine ergeben im polarisierten Licht kaleidoskopartige Farbspiele.

Die diesjährige Exkursion ging zur Firma Zeiss nach Göttingen. Einige Teilnehmer erinnerten sich, dass dies auch das Ziel der Exkursion beim ersten Mikroskopikertreffen 1992 war. Unter diesen war auch der Verfasser dieser Zeilen, und so kann ich aus eigener Anschauung berichten, dass sich Einiges in der Produktion geändert hat. Vor allem fällt der hohe Automatisierungsgrad auf. Herr Kannegeßer führte uns durch drei Abteilungen. Zuerst ging es in die Vorfertigung, in der die von einer Fremdfirma bezogenen Gehäuseteile entgratet und lackiert sowie einige Kleinteile in Automaten gefertigt werden. In der Montage konnte dann der Zusammenbau der Komponenten angesehen werden und in der Linsenschleiferei die Herstellung der Linsen, Okulare und Objek-

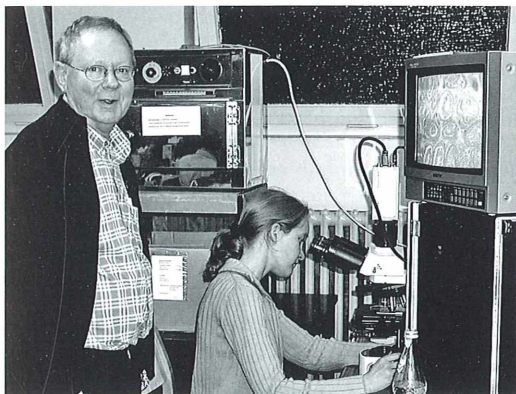


Abb. 2: Emsiges Treiben im Arbeitsraum.



Abb. 1: Die Teilnehmer des Mikroskopikertreffens auf dem Wohldenberg (Fotos: Günther Zahrt, Berlin).





**Abb. 3: Der Organisator Karl Brüggmann am Olympus-Videomikroskop-Stand.**

tive. Dann kamen wir in die Abteilung Applikation, in der Herr Hesse uns die neuesten, zum Teil vollautomatischen Mikroskope vorstellte. Diese für die Industrie und Forschung vorgesehenen Geräte sind für spezielle Aufgaben konzipiert, die der Amateur nur bestaunen kann. An dieser Stelle nochmals Dank an die beiden Herren von Zeiss, die sich geduldig allen Fragen stellten, und an Herrn Dr. Michael Zölffel, der diese Werksführung für uns organisierte.

Wie immer bei solchen Zusammenkünften, lebt die Gemeinschaft auch sehr stark aus den Beiträgen der Teilnehmer, und es ist immer wieder schön, wenn die Abende mit Vorträgen und Bildvorführungen aus Gebieten außerhalb der Histologie bereichert werden. Herr Lohr wurde schon erwähnt. Herr Jan Kros aus den Niederlanden hatte Diatomeenschlamm mitgebracht, und jeder Teilnehmer konnte sich ein Präparat daraus herstellen, das dann in Naphrax (Eindeckmittel mit hohem Brechungsindex) eingebettet wurde. Friedrich Lütkemöller und Eberhard Raap hatten einen Vortrag über Trichinen vorbereitet. Anhand von Bildmaterial wurde über die Fortpflanzung und Verbreitung sowie über das Krankheitsbild berichtet. Herr Lütkemöller hatte Celloidinmaterial, das Herr Raap geschnitten hatte, gefärbt, und die Teilnehmer konnten dann selbst ein Präparat herstellen. Außerdem bekam jeder ein fertig gefärbtes Präparat.

Unter den eingangs erwähnten histologischen Präparaten, die Karl Brüggmann mitgebracht hatte, betrafen viele die männlichen Geschlechtsorgane. Das Färben, Eindecken und das kurze Besprechen war eine Vorbereitung auf einen Vortrag von der Medizinstudentin Sabine Hasse. Sehr anschaulich stellte sie dar, wie die Bildung der Spermien über mehrere Stufen im Hoden erfolgt. Später wurden am Videomikroskop anhand der Präparate die einzelnen Stadien nochmals von ihr erläutert.

An dieser Stelle wiederum der Dank an Herrn Ernst von der Firma Olympus, der uns das Videomikros-



**Abb. 4: Planktonnahme an den Deneburger Teichen.**

kop zur Verfügung stellte (Abb. 3). Außerdem hatte er wieder viele gebrauchte und dadurch preiswerte Teile für uns Amateure im Gepäck. Von diesen Angeboten wird immer lebhafter Gebrauch gemacht.

Zu den technischen Genüssen gesellten sich auch leibliche. Richard Jähner hatte in diesem Jahr statt der traditionellen Weißwürste leckeren Leberkäse mitgebracht, dazu gab es süffiges Weißbier. Eigentlich waren diese zusätzlichen Kalorien nicht erforderlich, denn die Verpflegung im Haus Wohldenberg ist reichlich, gut und schmackhaft. Aber ein gemütlicher Abend mit Weißwürsten oder Leberkäse hat nun schon Tradition. Natürlich wurde auch wieder auf der großen überdachten Hausterrasse gegrillt, Udo Lentz und Friedrich Thormann zeichneten sich als erfahrene Grillmeister aus. Dabei durfte das berühmte Einbecker Mai-Bockbier nicht fehlen.

Am Samstag führte Herr Brüggmann die Teilnehmer an die Deneburger Teiche, um nach fast einer Woche mit sitzender Beschäftigung einen Spaziergang an frischer Luft zu machen. Nebenbei wurde auch das Planktonnetz zum Fang ausgeworfen (Abb. 4) und nach der Rückkehr die Probe durchsucht. Vor dem Mittagessen hatten wir noch einen besonderen Genuss, als Herr Prof. Dr. Andreas Gebert Mikrofotos aus den letzten Fluka-Wettbewerben zeigte, die er teilweise mit Hilfe der Bildbearbeitung in kleine Kunstwerke verwandelte.

Auch am letzten Tag war das Programm noch sehr interessant: Herr Dr. U. Schmidt von der Firma Wella hielt einen ausführlichen Vortrag über Beiträge der Mikroskopie zur Aufklärung der Feinstruktur des menschlichen Haares. Es wurden dabei sowohl eindrucksvolle Mikrofotos (Lichtmikroskopie und Elektronenmikroskopie) gezeigt, als auch für uns neue Erkenntnisse über den Feinaufbau der Haare vermittelt.



Im Anschluss daran war Günther Zahrt aus Berlin mit einer Präsentation über LED-Beleuchtungen am Mikroskop an der Reihe. Er erläuterte die Grundlagen und Anwendungen von Licht emittierenden Dioden zu Beleuchtungszwecken an verschiedenen Mikroskopen und Stereolupen. Nach diesem Vortrag werden sicher einige Mikroskopiker den Mut haben, für ihr eigenes Mikroskop eine netzunabhängige LED-Beleuchtung zu bauen.

Der Sonntag ist Abreisetag, und jeder war mit dem Einpacken beschäftigt, aber vorher musste noch der traditionelle Abschlusstest bewältigt werden. Weil nicht alle Fragen ganz ernst zu nehmen waren, gab es

noch etwas Spaß beim Abschied vom Wohldenberg. Richard Jähner dankte Karl Brüggemann für seine Mühe, die er bei den Vorbereitungen und der Organisation hatte und schloss dabei auch Frau Brüggemann mit ein, die ihn bei den Arbeiten immer sehr unterstützt hat.

Wie in jedem Jahr gab es eine herzliche Verabschiedung mit vielen guten Wünschen für die Zukunft und in der Hoffnung, sich im nächsten Jahr wieder auf dem Wohldenberg zu treffen. Als zunächst noch unverbindlicher Zeitraum für das Treffen 2006 wurde Montag, 1. Mai, bis Sonntag, der 7. Mai, festgehalten. Friedrich Thormann, Hannover

## Das saubere Mikroskop

Unter gleichnamigem Titel, mit dem Zusatz *Verschmutzungen richtig erkennen*, ist kürzlich eine großformatige, zwölfseitige Broschüre der Firma Zeiss erschienen. Die Mikroskopie-Fachleute von Zeiss geben hier gute Tipps aus ihrem Erfahrungsschatz weiter. Unter anderem wird dargestellt, welchen Einfluss Verschmutzungen auf das Bild haben, wie man Verschmutzungen feststellt, welche Reinigungsmittel und

-verfahren angewandt werden können und wie der Reinigungsvorgang vorgenommen werden sollte. Farbige Fotos illustrieren die jeweiligen Kapitel. Die Broschüre kann angefordert werden bei:

Carl Zeiss, Lichtmikroskopie, Postfach 4041,  
D-37030 Göttingen, e-mail: [mikro@zeiss.de](mailto:mikro@zeiss.de).

Redaktion MIKROKOSMOS

## Internet-Forum für Makro- und Mikrofotografie

Am 20. April 2005 feierte das amerikanische Forum für Makrofotografie und Amateurmikroskopie (<http://www.amateurmicroscopy.photomacrography.net/>) seinen ersten Geburtstag. Die Keimzelle für dieses Forum war das Nature Photographers Network (<http://www.naturephotographers.net/>). Die Gründer des Forums wollten eine Internetplattform schaffen, auf der sich Makrofotografen und Hobby-mikroskopiker austauschen können. Im Unterschied zum usenet oder etablierten textbasierten Foren des world wide web, zum Beispiel [microscopy.yahoo.com](http://microscopy.yahoo.com), sollte insbesondere die Möglichkeit des Bilderaustausches geschaffen werden. Das Makro- oder Mikrofotostandbild steht im Vordergrund, ist sozusagen der Ausgangspunkt für einen Diskussionsbeitrag. Die Nutzung des Forums erfordert eine Anmeldung, außer wenn nur Mitlesen gewünscht ist. Die Forumssprache ist Englisch.

Für Mitglieder ohne eigene Website oder Speicherplatz besteht die Möglichkeit, Bilddateien auf dem Forumserver abzulegen. Zusätzlich können eigene Bildergalerien angelegt werden. Den Mitgliedern steht hierfür unter einer separaten Internetadresse (<http://www.macro-micro-members.net/>) je 5 MB Speicherplatz zur Verfügung.

Die knapp 300 eingetragenen Mitglieder verteilen sich rund um den Globus mit Schwerpunkten in USA, Neuseeland, Australien und England.

Die Moderatoren haben eine Unterteilung des Forums in mehrere Bereiche vorgesehen, unter anderem

Makrofotos, Mikrofotos und Technik, um nur die wichtigsten zu nennen. Der Makro- und Mikrofotobereich gliedert sich noch in biotische Objekte (z.B. Planktonlebewesen, Insekten) und abiotische Objekte (z.B. Kristalle, Mikrochips).

Der Themenschwerpunkt der Makrofotografie liegt nach meiner Beobachtung im Bereich Insekten, der Schwerpunkt der Mikrofotos eindeutig im Bereich „Leben im Wassertropfen“. Oft wird hier Bestimmungshilfe geleistet, und man kann erkennen, dass die Euglenen in Neuseeland genauso aussehen wie im Tümpel nebenan.

Die Fototechnik, mit der die Bilder insbesondere des Mikrofotobereichs erstellt werden, ist bis auf wenige Ausnahmen digital. Die Bandbreite reicht von der einfachen Webcam über Kompakt- und Spiegelreflexkameras bis zur eigenen Mikroskopkamera mit c-mount. Ähnliche Vielfalt herrscht bei den Mikroskopmodellen. Einige der Mitglieder, die häufig Mikrofotos einstellen, haben separate Internetseiten, wo sie über ihre Technik bis ins Detail Auskunft geben.

Die Qualität der eingestellten Bilder ist sehr gut, teilweise überdurchschnittlich. Hierbei handelt es sich allerdings nur um meine subjektive Meinung. Wer Verbesserungsbedarf verspürt, sei herzlich eingeladen, seine Werke zu präsentieren.

Gerd Günther, Düsseldorf

# Die Bewertung von Fließgewässern nach der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie (EG-WRRL)

Hartmut Poschwitz

**Da neue Bewertungsmethoden zurzeit noch nicht praxisreif vorliegen, wird bis auf weiteres die 2003 wesentlich erweiterte DIN 38410, Teil 2, zur Ermittlung der biologischen Gewässergüte eingesetzt. Es ist zu erwarten, dass auch in Zukunft hauptsächlich das Makrozoobenthos zur Fließgewässerbewertungen beitragen wird, denn seine Erfassung und Bearbeitung ist verhältnismäßig einfach und kostengünstig.**

**D**ie am 22.12.2000 in Kraft getretene Wasserrahmenrichtlinie des Europäischen Parlaments und Rates (EG-WRRL) hat das Ziel, in allen Mitgliedsstaaten der Europäischen Union bis 2015 einen guten ökologischen und chemischen Zustand der Oberflächengewässer zu erreichen und eine Verschlechterung der Gewässerqualität zu verhindern. Die Gewässer werden im Rahmen ihrer natürlichen Einzugsgebiete von der Quelle bis zur Mündung ganzheitlich betrachtet, also über die bisher maßgeblichen Landes- und Verwaltungsgrenzen hinweg. Die EG-WRRL sieht für diese Flusseinzugsgebiete neue Maßnahmenprogramme und Bewirtschaftungspläne vor, die auf das jeweilige Einzugsgebiet zugeschnitten und zwischen den betreffenden Regionen und Mitgliedsstaaten koordiniert sein müssen. Weiterhin setzt sie verbindliche Qualitätskriterien für die Gewässer und ihre Auen; entsprechende Untersuchungsmethoden sind ebenfalls festgelegt. In der Richtlinie sind einheitliche Ziele zum Erhalt und zur Steigerung der Wasserqualität formuliert, und es gibt einen für alle Mitgliedsstaaten verbindlichen Zeitplan.

## Entwicklung des Saprobienystems

Durch die Wasserbewegung in Fließgewässern wird den dort lebenden Organismen ständig Sauerstoff zugeführt. Sie sind an diese Bedingungen angepasst und haben daher im Allgemeinen einen höheren Sauerstoffbedarf als verwandte Arten stehender Gewässer.

Diese Beziehung nutzt das Saprobien-system (Saprobien: Lebewesen des mit organischen Stoffen belasteten Wassers). Einzelnen Arten des Makrozoobenthos (am Boden lebende, wirbellose Tiere, die mit bloßem Auge sichtbar sind) werden Saprobienwerte zugeordnet, die ein Maß für deren Sauerstoffbedarf darstellen und damit die Sauerstoffverhältnisse in einem Gewässer widerspiegeln. Darüber hinaus kann auch auf die organische Belastung, der diese Lebensgemeinschaft ausgesetzt ist, geschlossen werden.

Saprobien-systeme wurden erstmals zu Beginn des 20. Jahrhunderts erstellt. In den folgenden Jahrzehnten kam es zu zahlreichen Verbesserungen der Verfahren. 1976 wurde die erste Gewässergütekarte der Bundesrepublik Deutschland mit einer siebenstufigen Unterteilung eingeführt (Tab. 1). Mit Güteklasse II–III ist ein kritischer Zustand – der „Kippunkt“ – erreicht, weil ab dieser Belastungsintensität eine erhebliche Verschiebung des Artenspektrums

**Tabelle 1: Bewertung der Güteklassen.**

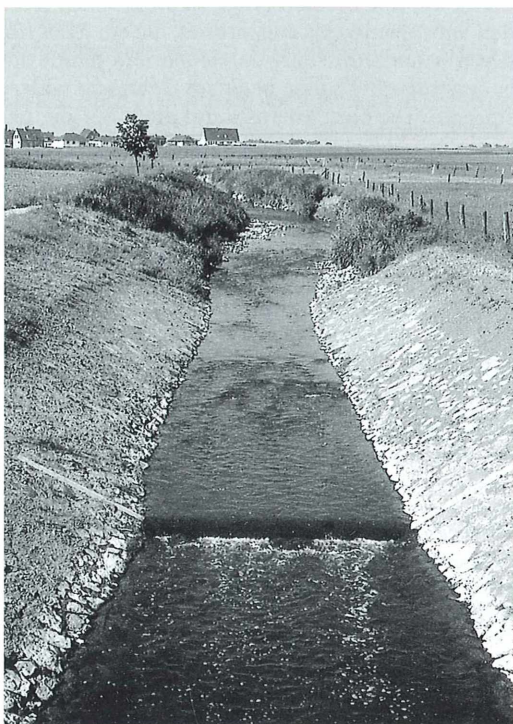
Güte- klasse	Saprobien- index	Bewertung
I	1,0–<1,5	unbelastet bis sehr gering belastet
I–II	1,5–<1,8	gering belastet
II	1,8–<2,3	mäßig belastet
II–III	2,3–<2,7	kritisch belastet
III	2,7–<3,2	stark verschmutzt
III–IV	3,2–<3,5	sehr stark verschmutzt
IV	3,5–4,0	übermäßig stark verschmutzt



eintritt und unter ungünstigen Situationen Fischsterben als Folge von Sauerstoffmangel zu befürchten sind. Güteklasse II oder besser galten bisher in Deutschland für alle Fließgewässer als anzustrebendes Ziel bei gleichzeitigem Verschlechterungsverbot für Gewässer, die in einem besseren Zustand sind.

Vielfältige Veränderungen der Artenlisten durch einzelne Bearbeiter und die zum Teil unsachgemäßen Anwendungen des Saprobien-systems machten es erforderlich, das Verfahren durch Entwicklung der DIN 38410 (1990, 1991) zu standardisieren. Entsprechend der Wasserqualität und der Gewässermorphologie (Gestaltung des Gewässers und seines Umfeldes) entwickeln sich im und am Gewässer lebende Pflanzen- und Tiergemeinschaften. Um bei negativen Veränderungen dieser Lebensgemeinschaften gezielt Gegenmaßnahmen ergreifen zu können, muss neben der Gewässergüte auch der strukturelle Zustand der Gewässer (Gewässerstrukturgüte) bekannt sein (Tab. 2).

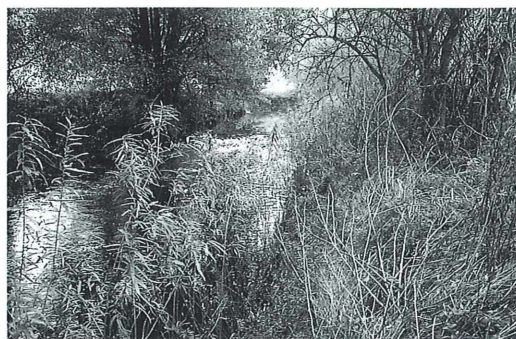
Die Länderarbeitsgemeinschaft Wasser, in der alle Bundesländer vertreten sind, hat dazu 1994 eine Kartieranleitung erarbeitet, die in den Jahren 1994 und 1995 erprobt, verbessert und anschließend in den einzelnen Bundesländern umgesetzt wurde. Sechs Hauptparameter beschreiben die Gewässerstruktur: Laufentwicklung, Längs- und Querprofil, Sohlen- und Uferstruktur sowie Gewässerumfeld. Die Ausprägung dieser Hauptparameter wird über die Erfassung mehrerer Einzelparameter festgestellt. Für die unterschiedlichen Landschaften Deutschlands wurde jeweils exemplarisch ein naturnahes Gewässer ausgesucht (Abb. 2). Diese Referenzgewässer gelten als Leitbilder der Kartierung. Sie stellen für den entsprechenden Naturraum das Idealgewässer dar. Jede Abweichung wird als ökologisches Defizit registriert (Abb. 1). Wie bei der Gewässergüte wird auch die Bewertung der Gewässerstruktur in einer Skala von 1 bis 7 erfasst. Über die Ausprägung der Gewässerstruktur können dann



**Abb. 1:** Ein Fließgewässer im dicht besiedelten Rhein-Main-Gebiet, das nach EG-WRRL unbedingt renaturiert werden müsste (Foto: Wasserwirtschaftsamt Friedberg/Hessen).

**Tabelle 2: Bewertung der Strukturgüte.**

Strukturgüte	Bewertung
1	naturnah
2	bedingt naturnah
3	mäßig beeinträchtigt
4	deutlich beeinträchtigt
5	merklich geschädigt
6	stark geschädigt
7	übermäßig geschädigt



**Abb. 2:** Dieses Gewässer entspricht güte- und strukturgütemäßig den Vorgaben der EG-WRRL (Foto: Wasserwirtschaftsamt Friedberg/Hessen).

Aussagen zum Natürlichkeitsgrad eines Gewässers gemacht werden, wobei in der freien Landschaft das Qualitätsziel 3 (mäßig beeinträchtigt) und in der Ortslage das Qualitätsziel 5 (merklich geschädigt) erreicht werden soll.

### **Zukünftige Bewertungsverfahren nach Vorgabe der EG-WRRL**

Nachdem die EG-WRRL Ende 2000 in Kraft getreten ist, unterteilt man die Gewässergüte in fünf Güteklassen (Tab. 3). Die Gewässergüte wird nicht mehr nur nach dem Sauerstoffgehalt des Wassers beurteilt, sondern eine geographische Betrachtungsweise rückt in den Vordergrund.

Fließgewässer sind das Ergebnis der sie jeweils umgebenden Landschaft. Gewässer des Hochgebirges, des Mittelgebirges und des Tieflandes unterscheiden sich in Höhenlage, Klima, Art und Aufbau der Gesteine, sowie als Folge davon in ihrer geologisch-geomorphologischen Ausstattung (Gefälle, Substrat, Tal- und Auenformen, Bachbettstrukturen). Die unterschiedlichen Kombinationen dieser und weiterer Faktoren bestimmen die für jeden Naturraum und jedes Einzugsgebiet charakteristischen Rahmenbedingungen der gewässer- und auentypischen Lebensräume.

Bäche in Regionen mit feinkörnigen Substraten weisen grundsätzlich ganz andere Strukturen und Formen im Längs- und Querprofil auf als solche aus Gegenden mit größeren, unsortierten Gesteinstrümmern. Somit bestimmt das Ausgangssubstrat sowohl das chemische als auch das biologische Erscheinungsbild der Gewässer. Zur Beurteilung des gegenwärtigen Fließgewässerzustandes ist daher die richtige Zuordnung des Gewässers zu seinem natürlichen Fließgewässertyp besonders wichtig.

Die regionalspezifische Ausprägung der Gewässer ist im Wesentlichen vom Substrat und seiner Körnigkeit sowie vom Relief abhängig. In den drei Hauptregionen Deutschlands – Norddeutsches Tiefland, Mittelgebirge, Alpen und Alpenvorland – wurden (zusätzlich mit drei von Ökoregionen unabhängigen Typen) 24 Fließgewässertypen gegeneinander abgegrenzt und im Verlauf ihrer längszonalen Anordnung erfasst. Während bisher bei den biologischen Untersuchungen an Fließgewässern vorwiegend das Makrozoobenthos, die Gewässerchemie und die Strukturgüte bestimmt wurden, kommen mit der EG-WRRL Untersuchungen des Phytoplanktons, der Makrophyten, des Phytobenthos und der Fischfauna hinzu, wobei die Fließgewässer in Wasserkörper aufgeteilt werden. Im Wesentlichen fand die Abgrenzung der Wasserkörper in drei Arbeitsschritten statt:

- Abgrenzung bei einem Wechsel des Gewässertyps (z.B. Wechsel von der Forellenregion zur Äschenregion),
- Abgrenzung von erheblich veränderten Gewässern (z.B. Talsperren),
- Abgrenzung bei signifikanten Änderungen des Zustands eines Gewässers (z.B. Wechsel von Abschnitten mit starken Ausbaumaßnahmen und relativ naturnahen Bedingungen).

Das Phytoplankton, die Lebensgemeinschaft der im Wasser schwebenden, mikroskopisch kleinen Algen, ist in Fließgewässern in der Regel nur von untergeordneter Bedeutung. Ausnahmen sind große Ströme und gestaute Gewässerabschnitte, in denen eine längere Wasseraufenthaltszeit die Entwicklung eines eigenständigen Phytoplanktons ermöglicht. Das Phytoplankton liefert vor allem Aussagen über die Gewässertrophie, das heißt über die pflanzenverfügbaren Nährstoffe. Die Eutrophierung (Nährstoffanreicherung) eines Sees ist in dessen Geschichte ein ganz natürlicher Alterungsprozess. Allerdings ist die Eutrophierung heute in fast allen stehenden Gewässern durch menschliche Einflüsse sehr stark beschleunigt. Hauptkriterium bei der Gütebestimmung stehender Gewässer ist das Ausmaß der Trophie.

Unter dem Begriff Makrophyten werden alle höheren Wasserpflanzen (einschließlich Wasserfarne, Wassermoose und Armlauchgewächse) zusammengefasst. Bewertungen von Fließgewässern mit Makrophyten können nur bei langfristigen Veränderungen vorgenommen

**Tabelle 3: Bewertung der Güteklassen nach EG-WRRL.**

Güteklasse	Saprobienindex	Bewertung	
1	1,0–<1,5	sehr gut	Referenzzustand
2	1,5–<2,3	gut	Zielzustand
3	2,3–<2,7	mäßig	Handlungsbedarf
4	2,7–<3,2	unbefriedigend	Handlungsbedarf
5	> 3,2	schlecht	Handlungsbedarf



werden, denn das Vorkommen von höheren Pflanzen hat nicht nur standortbedingte, sondern auch verbreitungsbiologische Ursachen. Völlig verödete Gewässerzonen wurden zwar nach dem Bau einer Kläranlage wieder durch einige Wasserpflanzen besiedelt, deren Artenvielfalt und -zusammensetzung entsprach aber auch nach fünf Jahren nicht der verbesserten Wassergüte. Selbst nach zehn Jahren hatten einige Pflanzen den Bereich noch nicht wiederbesiedelt. Bestimmte Wasserpflanzen, insbesondere Wassermoose, charakterisieren Standorte, die von Natur aus niedrige beziehungsweise hohe pH-Werte aufweisen.

Das Phytobenthos wird von den am Boden lebenden Algen gebildet. Dabei ist die Gruppe der Diatomeen für die Bestimmung der Gewässergüte besonders wichtig. Zurzeit gibt es Listen von Kieselalgenarten für die Saprobie, die Trophie, den Salzgehalt und die Versauerungstendenz von Gewässern.

Weiterhin ist die Bewertung der Fischfauna von großer Bedeutung, weil die Fische einerseits das Endglied der aquatischen Nahrungskette darstellen und damit auch eventuell Schädigungen anderer Glieder dieser Kette anzeigen. Andererseits reagiert die Fischfauna sehr empfindlich auf strukturelle Defizite des Gewässers wie die ökologische Durchgängigkeit oder die Zerstörung ihrer Laichgebiete. Eine kritische Betrachtung der Fischbestände lässt unterschiedliche Entwicklungen erkennen: Neben Arten, deren Verbreitung und Bestände stark zunehmen (z.B. Brachsen, Döbel, Zander) gibt es Arten, deren Areal weitgehend unverändert blieb (z.B. Rotaugen, Ukelei, Barsch). Bestandseinbußen und teilweise wesentliche Verkleinerungen ihrer Lebensräume erlitten vorrangig Bewohner von Fließgewässern (z.B. Lachs, Nase, Strömer) und Kleingewässern (z.B. Schlammpeitzger, Elritze). Die Fischbestände müssen laut EG-WRRL hinsichtlich ihres Altersaufbaues erfasst und bewertet werden. Dies ist vor allem durch gezielte Elektrofischerei möglich, die es gestattet, Bestandsanalysen und Wachstumsstudien durchzuführen, um mögliche Schäden festzustellen.

## Zusammenfassung

Damit bleibt die saprobielle Bewertung der Fließgewässer in einer an die Erfordernisse der modernen Gewässertypologie und die Bestimmungen der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie angepassten und verbesserten Form als Bewertungsinstrument neben zahlreichen neuen, ergänzenden Verfahren erhalten.

## Literaturhinweise

- Baur, W. H.: Gewässergüte bestimmen und beurteilen. Verlagsgesellschaft Fisch und Umwelt, Stuttgart 2003.
- Boschi, C., Bertiller, R., Coch, T.: Die kleinen Fließgewässer. Bedeutung – Gefährdung – Aufwertung. vdf Hochschulverlag an der ETH Zürich, Zürich 2003.
- Europäische Wasserrahmenrichtlinie EU-WRRL: Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaft vom 23.10.2000, Luxembourg 2000.
- Hessisches Landesamt für Umwelt und Geologie: Biologischer Gewässerzustand 2000, Wiesbaden 2001.
- Hessisches Landesamt für Umwelt und Geologie: EG-WRRL, Europäische Wasserrahmenrichtlinie, Bestandsaufnahme oberirdische Gewässer, Wiesbaden 2004.
- Hessisches Ministerium für Umwelt, ländlichen Raum und Verbraucherschutz: Leitfaden für das Erkennen ökologisch kritischer Gewässerbelastungen durch Abwassereinleitungen in Hessen. Handlungsanleitung und Begleitband, Wiesbaden 2004.
- Poschwitz, H.: Die Fischfauna des hessischen Untermain im Wandel von 100 Jahren. In: Stubbe, M. (Hrsg.): Beiträge zur Jagd- und Wildforschung, S. 353–359. Eigenverlag, Halle 2004.
- Uhlmann, D., Horn, W.: Hydrobiologie der Binnengewässer. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart 2001.
- Vereinigung Deutscher Gewässerschutz: Ökologische Bewertung von Fließgewässern. VDG, Bonn 2001.

*Verfasser:* Dr. Hartmut Poschwitz, Mariahallstr. 15, D-63303 Dreieich, Tel.: 0 61 03/6 55 70

# Perfekte Handschnitte mit einfachen Hilfsmitteln

Klaus Herrmann und Heinz Streble

Die Herstellung von Handschnitten durch botanisches Material (frisch oder fixiert) wird in vielen Fachbüchern beschrieben. Eine einfache Erläuterung der Technik ist bei Drews (1992) und auch bei Kremer (2002) nachzulesen. Eine sehr ausführliche und gut bebilderte Beschreibung findet man im Buch *Botanische Mikrotechnik* von Gerlach (1984). Daraus sei auch der einführende Satz zu diesem Kapitel zitiert: *Die Herstellung von Handschnitten gehört zu den wichtigsten Tätigkeiten der botanischen Mikrotechnik.*

**D**a ein Schnitt über den gesamten Querschnitt eines Pflanzenstängels selten brauchbar gelingt, wird bei Gerlach (1984) darauf hingewiesen, dass zur mikroskopischen Untersuchung mehrere keilförmige Segmente angefertigt werden müssen, um den Gesamtquerschnitt zu verstehen. Und dann sieht der begeisterte Mikroskopiker diese perfekten Präparate in schön bebilderten Büchern (Kremer, 2002) und ist frustriert nach der Lektüre über aufwändige Einbettmethoden und teure Mikrotome, die als Voraussetzung für so prächtige Ergebnisse genannt werden (Gerlach, 1984; Romeis, 1989). Doch es geht auch viel einfacher mit erstaunlich guten Ergebnissen (Abb. 1)!

## Was benötigt man?

Zunächst braucht man ein stabiles Handmikrotom. Wir haben gute Erfahrung gemacht mit einem kleinen, am Tisch anschraubbaren Gerät von Jung (Abb. 2). Aber auch ein nicht anschraubbares Gerät wie zum Beispiel von Kosmos kann mit einer einfachen Klemmvorrichtung am Tisch fixiert werden. Das ist wichtig, weil man sonst noch eine dritte Hand zum Festhalten des Mikrotoms benötigt. Des Weiteren muss man scharfe Messer haben. Und genau hier beginnt das Problem: Ein professionelles Mikrotommesser ist teuer und muss von Zeit zu Zeit nachgeschliffen werden. Rasiermesser

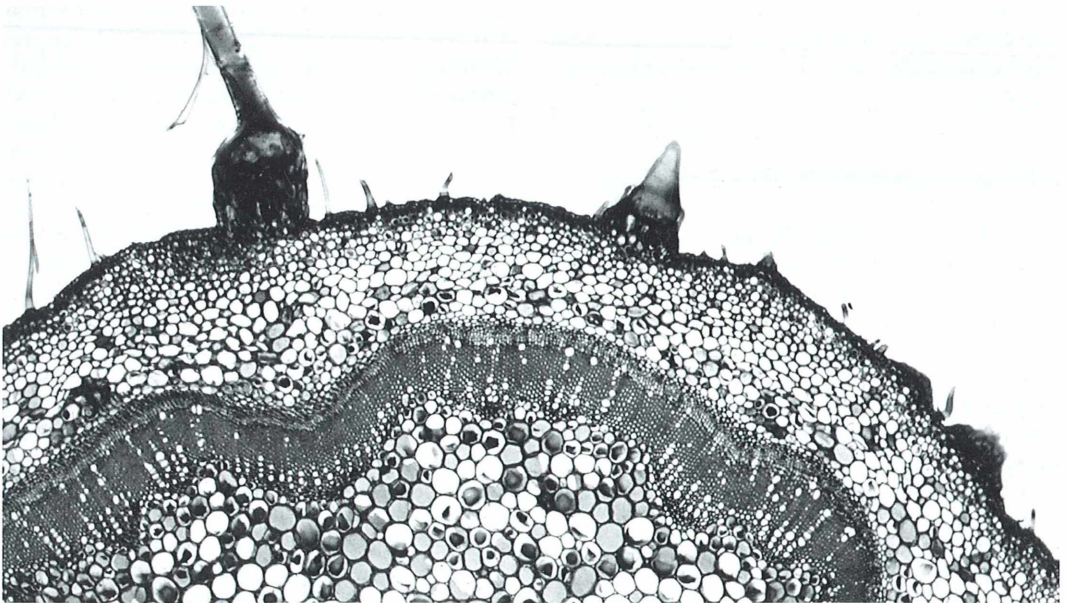
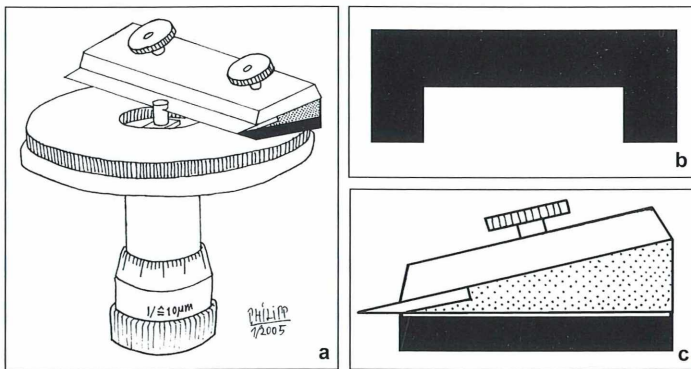


Abb. 1: Natternkopf (*Echinum vulgare*), Querschnitt durch einen Stängel. Färbung mit Etzolds Farbgemisch, Durchlicht, Hellfeld, Schnittdicke 30  $\mu\text{m}$ , Bildbreite 3 mm.





**Abb. 2:** Einmalklingenhalter für Handschnitte. **a** Funktionsskizze mit Handmikrotom. **b** Ansicht von unten mit Aussparung in der Kunststoffgleitfläche. **c** Seitenansicht. Zeichnungen von P. Herrmann.

(keilförmig oder plankonkav) schaben über die Glasoberfläche des Mikrotoms und sind dadurch schnell stumpf. So bieten sich Einmalklingen an, die optimal scharf sind. Wir haben gute Erfahrungen mit dem Typ Leica 818 gemacht, eine preiswerte Alternative.

Nun ist ein professioneller Messerhalter für Einwegklingen auch wieder teuer und zudem von Hand nicht leicht zu führen. Hier hat Heinz Streble (2004) durch Tüfteln eine elegante Lösung gefunden: Der Hand geführte Einmalklingenhalter aus Messing mit Kunststoffgleitfläche. Die Kunststoffgleitfläche hat zwei Funktionen. Zum einen sorgt sie für leichtes, ruckfreies Gleiten auf der Glasoberfläche des Mikrotoms und zum anderen hält sie das Messer auf Abstand, so dass es geschont wird und zudem auch die Glasfläche nicht verkratzt.

### **Pflanzenstängelschnitte ohne Einbettung**

Mit schräg gestelltem Messer lassen sich nun leicht Schnitte durch Blattstiele, Pflanzenstängel, Wurzeln, Hölzer und Blätter machen, wenn das Material durch Fixieren in AFE (Äthanol, Formalin, Essigsäure) ausreichend schnittfest gemacht wurde (Gerlach, 1984). Eine Einbettung in Paraffin mit den dafür erforderlichen zeitaufwändigen Präparationsschritten ist nicht nötig. Das ist aber natürlich nur bei kompaktem Material, wie beispielsweise Pflanzenstängeln möglich, ein Schnitt durch die Blüte eines Korbblütlers zerfällt in seine Einzelteile.

Das fixierte Material wird in 70%igem Äthanol ausgewaschen, eventuell noch mit scharfem Skalpell oder gebrauchten Klingen auf unter 10 mm gekürzt, die Unterseite auf Filterpapier

kurz abgetupft und mit Fünf-Minutenkleber auf Holzklötzchen (11 × 11 × 14 mm) aufgeklebt. Diese Einkomponenten-Schnellkleber sind immer Cyanacrylate, die durch Feuchtigkeit katalysiert aushärten. Sie geben die besten Ergebnisse, wenn sie frisch sind. Wir verwenden Pattex Blitzkleber flüssig. Vor dem Austrocknen schützt man das Material durch Befeuhten mit einem Pinsel, der in 70%iges Äthanol getaucht wird. Nach etwa 10 Minuten, wenn der Klebstoff hart ist, kann geschnitten werden. Ein Feuchthalten mit 70%igem Äthanol darf nicht vergessen werden! Schnittdicken von 20–30 Mikrometer sind problemlos zu erzielen. Diese etwas dickeren Schnitte haben den Vorteil, dass Pflanzenhaare sehr schön erhalten bleiben, auch große Kristallaggregate bleiben an ihrem Platz. Färbungen geraten aufgrund der Schnittdicke prächtig intensiv. Die Färbungen lassen sich vorteilhaft im Blockschälchen durchführen, so dass eine größere Menge Schnitte gleichzeitig verarbeitet werden kann. Aus dem Auswaschwasser überträgt man die Schnitte mit einem Pinsel auf – mit je einem Tropfen Wasser vorbereitete – saubere Objektträger. Ein weiterer Vorteil der dickeren Schnitte ist, dass sie ziemlich robust sind, so dass auch ein Anfänger schöne Präparate herstellen kann. Und nun geht es wie üblich weiter: Wasser abgießen, über 96%iges Äthanol (sehr kurz, um Ausziehen der Farbstoffe zu vermeiden) in 100%iges Isopropanol (3× wechseln) überführen und noch Isopropanol-feucht in Euparal einbetten. Es empfiehlt sich, die Deckgläser bis zum Festwerden des Einbettharzes zu beschweren, um schön plane Schnitte zu erhalten (Streble, 2004). Im Trockenschrank bei 50 °C geht das über Nacht, bei Raumtemperatur dauert es mindestens eine Woche.

## Was sieht man in dem ausgewählten Beispiel?

Abbildung 1 zeigt einen Querschnitt durch einen Stängel des Natternkopfes (*Echinum vulgare*), der mit Etzolds Farbgemisch behandelt wurde. Unverholzte Zellwände erscheinen blau, verholzte Wände rot und Gerbstoffe bunt. Wir betrachten den Schnitt nun von außen nach innen. Kurze Haare gehen von einzelnen Epidermiszellen aus, lange Haare von vielzelligen Sockeln. Die fahle Färbung der Haarkutikula und der Haarwände wird hervorgerufen durch Kieselsäure, die von der Pflanze als Fraßschutz einlagert wird – der Natternkopf ist ein Raubblattgewächs. In der Epidermis sind Spaltöffnungen zu sehen; Hypodermiszellen sind mit Gerbstoffen beladen.

Schmal bleibt die Zone der Kollenchymzellen; an ihren Kanten sind die Wände stark verdickt. Große Speicher- und Chlorophyllzellen füllen die Rindenschicht zwischen Kollenchymzellen und Siebteil aus. Dickwandige Phloemparenchym- sowie Sieb- und Geleitzellen liegen als durchgehende Zone um den Holzteil. Ein Kambium ist nicht mehr erkennbar, denn das Dickenwachstum des Stängels ist abgeschlossen. Die Stängelkonstruktion, hier ohne jegliche Bastfasern (Sklerenchym-, Stein- oder Nesselfasern), mit durchgehenden, weitgehend markstrahllosen Sieb- und Holzteilen, ist eher selten. Andere Stauden mit ähnlichem Bau sind zum Beispiel Beinwell, Labkraut, Hexenkraut, Wandelblüte, Springkraut und Rainfarn. Dies sind Pflanzen mit nicht sonderlich knickfesten Stängeln.

Der feste Holzteilzylinder mit acht Rippen (siehe Umschlagabbildung) ist aus sehr vielen Holzfasern und fast gleichförmig weiten Gefäßen sowie aus nach innen vorspringenden Erstlingsgefäßen zwischen Holzparenchymzellen aufgebaut. Die Wände der großen Markzellen bleiben unverholzt; die Zellen lagern Gerbstoffe ein und fungieren als Druckwasserkissen.

## Beschreibung des Einmalklingenhalters

So einfach, wie dieser kleine Halter aussieht (Abb. 2a–c), ist er dann doch nicht herzustellen, weil die Anforderungen an Präzision relativ hoch sind. Es muss der Winkel von 12° genau eingehalten werden, die gefräste Nut für die Aufnahme der Einmalklinge darf nur 0,30 mm tief sein und der Gegenhalter muss

plan aufliegen, sonst verrutscht die Klinge. Die Aussparung in der Kunststoffgleitfläche ist eine Balance zwischen genügendem Platz zum freien Schneiden und Stabilität zur Führung auf der Glasfläche des Handmikrotoms. Die Verklebung des Kunststoffs mit dem Messingträger ist auch eine Herausforderung, soll die Verbindung doch plan und beständig gegen Wasser und Alkohol sein. Die Klinge muss, wenn sie in der Nut auf Anschlag sitzt, etwas über die Nulllage des Messingunterteils hinausragen, sonst schiebt die untere Lippe des Messingträgers den Schnitt zusammen und man erhält ein zerquetschtes Präparat. Das bedeutet auch, dass diese Klingenhalter optimal für den Typ Leica 818 sind. Bei anderen Klingenmaßen muss man dann eben nach Augenmaß diesen Überstand über die Nulllage einstellen. Das geht natürlich auch, kann aber bei den scharfen Klingen schon mal zu Blutstropfen führen. Wir haben diesen Einmalklingenhalter in einer Kleinserie hergestellt. Für 30,00 € kann er inklusive einer 818-Klinge von uns bezogen werden.

## Literaturhinweise

- Drews, R.: Mikroskopieren als Hobby. Falken-Verlag, Niedernhausen 1992.  
 Gerlach, D.: Botanische Mikrotechnik. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1984.  
 Kremer, B.: Das große Kosmos-Buch der Mikroskopie. Franckh-Kosmos-Verlags-GmbH, Stuttgart 2002.  
 Romeis, B. (Hrsg. Böck, P.): Mikroskopische Technik, 17. Auflage. Urban und Schwarzenberg, München 1989.  
 Streble, H.: Frisch- und Dauerpräparate zum Mikroskopieren; Präparationstechniken. In: Praxis der Naturwissenschaften, Biologie in der Schule 8/53, Aulis Verlag Deubner, Köln 2004.

## Bezugsquellen

- BB-Einwegklingen: 50 Stück Typ 818, Artikelnummer 14035838383, Leica Mikrosysteme, Lilienthalstr. 39–45, D - 64625 Bensheim, Fax 062 51/13 61 55.  
 SB-Einwegklingen: 50 Stück Typ 818, Artikelnummer 035838926, Jung Histo-Service, Heidelbergerstr. 17–19, D - 69226 Nußloch, Fax 062 24/14 33 29.

Verfasser: Dr. Klaus Herrmann, Silcherstr. 12, D-75242 Neuhausen, e-mail: klausbigi.herrmann@t-online.de, und Dr. Heinz Streble, Fraubronnstr. 34, D-70599 Stuttgart



## Nachricht

### 2. Treffen des Mikroskopie-Forums vom 8.–10. April 2005 in Darmstadt

Nach dem erfolgreichen ersten Treffen von Mikroskopikern in Darmstadt im letzten Jahr stand fest, dass eine Wiederholung unumgänglich war. Und so erarbeitete das inzwischen auf vier Personen angewachsene Organisationsteam den Ablauf der zweiten Zusammenkunft für das Jahr 2005. Neben dem gesellschaftlichen Aspekt sollte ein fachliches Programm das Treffen bestimmen. Es erklärten sich spontan viele Teilnehmer bereit, einen Beitrag dazu zu leisten. Welches Engagement und Fachwissen die Referenten einbrachten, konnte man zu diesem Zeitpunkt noch nicht erahnen.

So trafen sich vom 8. bis 10. April 31 Mikroskopiker in Darmstadt – fast doppelt so viele wie beim Treffen im letzten Jahr (Abb. 1). Nach der Begrüßung durch Dr. Detlef Kramer und Wolfgang Bettighofer stellten sich wie schon im Jahr zuvor die Teilnehmer einzeln vor. Hier zeigte sich bereits die große Vielfalt der Interessensgebiete. Aufgrund der hohen Teilnehmerzahl musste auf einen größeren Hörsaal ausgewichen werden.

Danach ging es in den gegenüberliegenden Kurssaal zu den einzelnen Vorträgen.

Gunther Chmela stellte am Freitag Nachmittag die Ringförmige Beleuchtung vor, welche er und Pascal Ballester vom MVM erarbeitet haben. Durch den Einsatz einer Zentralblende direkt unter dem Kondensor kann die Auflösung, der Kontrast und die Schärfentiefe eines Objektivs gesteigert werden. Neben der Präsentation konnte man sich direkt am Mikroskop mit dem Verfahren auseinander setzen. Als kleines Schmankerl erhielt jeder Teilnehmer nachträglich zum Treffen einen Satz Ringblenden.

Dr. Klaus Herrmann und Thomas Schäfer führten – ebenfalls am Freitagnachmittag – die Herstellung von Gesteinsdünnschliffen und Schmelzpräparaten vor. Während Thomas Schäfer den manuellen/händischen Weg zur Herstellung beschrieb, zeigte der Profi Dr. Herrmann die technischen Möglichkeiten zur



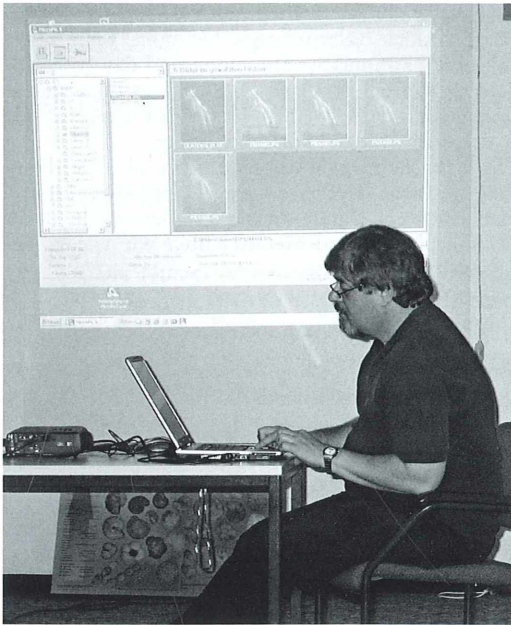
**Abb. 1: Begrüßung der Teilnehmer des Mikroskopie-Forums in Darmstadt am 8. April 2005 (Foto: W. Bettighofer).**



**Abb. 2: Großes Interesse herrschte bei der Herstellung der Gesteinsdünnschliffe (Foto: G. Helbig).**

schnelleren Verfahrensweise. Viele Tipps und Tricks aus der Praxis der zwei „Schleifer“ rundeten diesen hervorragenden Vortrag ab. Beeindruckt zeigten sich die Zuhörer von dem zeitlichen Aufwand und der Präzision (die Gesteinsproben werden auf 25–30 µm geschliffen), welche für die Herstellung dieser interessanten Präparate notwendig ist (Abb. 2).

Beim Treffen 2004 wurde der Wunsch nach einer Demonstration der gängigen Programme zur Kombination von Schichtaufnahmen geäußert. Somit führten drei Teilnehmer des aktuellen Treffens mit Hilfe von Laptop und Beamer folgende Software vor: Klaus Fichtl präsentierte eindrucksvoll und ausführlich die Handhabung und Einstellungsmöglichkeiten des



**Abb. 3: Dr. Wiedemann präsentiert seine Software Micropic (Foto: G. Helbig).**

bekannten Shareware-Programms CombineZ4. Anschließend beschrieb Gerd Günther den manuellen und aufwändigen Weg mit Hilfe des kommerziellen Grafikprogramms Adobe Photoshop. Hierzu sind gute Kenntnisse in dieser Software erforderlich. Erst kurz vor dem Treffen stieß Gerd Günther in einem englischsprachigen Forum auf den Hinweis zur ukrainischen Software Helicon Focus. Die einfache Handhabung und das sehr gute Ergebnis verblüfften die Zuhörer. Abschließen führte Dr. Bernd Wiedemann seine Software Micropic vor. Die vielen Einstellungs- und Variationsmöglichkeiten lassen die Stärke dieses Programms nur erahnen. Obwohl diese Präsentationen erst am Freitag um 21 Uhr begann, waren fast alle Teilnehmer anwesend und begeistert von diesen professionellen Darstellungen und dem Hintergrundwissen des Software-Teams (Abb. 3).

Ein weiterer Schwerpunkt im Ablauf des Programms war das praktische Mikroskopieren. Wie letztes Jahr konnten die Axiostars und Stemis 2000 der TU Darmstadt für die Sichtung der Proben aus der Exkursion verwendet werden. Auch standen wieder ein Axioskop 40 der TU und ein privates Axioskop 20 zur Verfügung. Durch den Anschluss einer Canon G5 an einen Computer konnten die Bilder sofort ausgewertet werden. Zusätzlich wurde noch ein Leica-Mikroskop mit diversen optischen Einrichtungen und Kontrastverfahren genutzt.

Frau Dr. Petra Rottenbacher vom Bereich der angewandten Geologie der TU Darmstadt stellte den



**Abb. 4: Dr. Kramer entnimmt eine Probe aus dem Reinheimer Teich (Foto: G. Helbig).**

Interessierten zehn Polarisations-Mikroskope zur Verfügung. Unter Anleitung von Thomas Schäfer wurden diverse Gesteinsdünnschliffe im polarisierten Licht ausgewertet.

Dr. Herrmann befestigte fixiertes Pflanzenmaterial mit Hilfe von Sekundenkleber auf ein Holzklötzchen. Mit einem Handmikrotom und einem Selbstbauhalter für Leica-Einweg-Mikrotommesser führte er Handschnitte durch.

Wolfgang Bettighofer gab eine kurze Einführung in das Zeichnen am Mikroskop. Dies wird er beim nächsten Treffen als Schwerpunkt präsentieren. Mitgebrachte Zeichnungen unterstützten seine fachlichen Ausführungen.

Dr. Uwe Schmidt stellte ein Mikroskop von Leica zur Verfügung. Neben CCD-Kamera und Monitor verfügte das Mikroskop über Achromat- und Neofluar-Objektive. Hier konnte nun der direkte optische Vergleich durchgeführt werden. Des Weiteren waren verschiedene Kontrastverfahren vorhanden. Selten werden einem Hobby-Mikroskopiker diese vielfältigen Möglichkeiten geboten.

Selbstverständlich standen auch wieder verschiedene Exkursionen auf dem Programm. Leider war es ein sehr kühler Samstag, als die Gruppe am Morgen das Naturschutzgebiet Reinheimer Teich erkundete. Das Gebiet ist ein Eldorado für Ornithologen. Die obligatorische Probennahme wurde von der Naturschutzbehörde genehmigt. Die anschließende Auswertung erfolgte dann im Kurssaal. Sie erwies sich als Fundgrube für Rädertierchen, Glockentierchen, Diatomeen, Grünalgen und weitere Planktonorganismen (Abb. 4).

Sehr beeindruckt zeigte sich die Gruppe von dem einmaligen Weltnaturerbe Grube Messel. In der speziell für die Mikroskopiker arrangierten Führung am Sonntag Vormittag wurde geschichtliches und geologisches Wissen vermittelt. Vielleicht bietet sich im nächsten Jahr die Gelegenheit, die Erfolg verspre-



chenden Tümpel am Grund der Grube zu beproben. In der anschließenden Besichtigung des Museums von Messel konnten die einzigartigen Fossilien bestaunt werden.

Hauptanliegen des Treffens war das persönliche Kennenlernen der einzelnen Forumsteilnehmer. Viele kannten sich schon von dem ersten Treffen und konnten so ihre Bekanntschaften vertiefen. Interessante Gespräche und Diskussionen ließen die Abende viel zu kurz werden. Die Bar des Hotels wurde bis spät in die Nacht von den Mikroskopikern belagert. Auch dieses Jahr unterhielt uns Thomas Schäfer mit seiner sehr guten Zaubervorstellung und erntete viel Applaus. Der gute Wein des ortsansässigen Winzers und die hervorragende Küche des Hotels rundeten die Abende ab.

Man hätte es nicht gedacht, aber das zweite Treffen übertraf doch das vorherige. Die hohe Teilnehmerzahl, die harmonische Stimmung und das ausgewogene Programm sprachen für sich. Das Engagement und Wissen der einzelnen Teilnehmer spiegelte sich in den hochwertigen Vorträgen wider.

Ein herzliches Dankeschön geht an alle, die dieses unvergessliche Treffen ermöglicht und gestaltet haben. Auch ein Danke an die TU Darmstadt, deren Räumlichkeiten und Gerätschaften wir wieder benutzen durften.

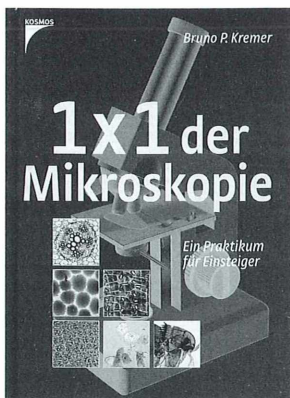
Selbstverständlich wird es auch 2006 ein Treffen in Darmstadt geben.

*Verfasser:* Gerald Helbig, Jensenstraße 12, D-83209 Prien, e-mail: [info@lebendkulturen.de](mailto:info@lebendkulturen.de)

## Buchbesprechung

### Kremer, B. P.: 1×1 der Mikroskopie – Ein Praktikum für Einsteiger.

64 Seiten, über 160 Farbfotos, 25 Farbzeichnungen, 2 Schwarz-weiß-Zeichnungen, kartoniert, € 9,95, Franckh-Kosmos-Verlag, Stuttgart 2005, ISBN 3-440-09981-4.



Der Autor, den Lesern des MIKROKOSMOS als Botaniker vom Fach und Mikrofotograf von Klasse bestens bekannt, ist von Berufs wegen mit der Vermittlung biologischer Kenntnisse an Adepten aller Stände befasst. Dabei lässt er es sich nahezu unermüdlich angelegen sein, neue Interessenten für die Mikroskopie zu gewinnen.

Die langjährige Zusammenarbeit mit dem Kosmos-Verlag verschafft auch dem neuen *1×1 der Mikroskopie* ein publizistisches Forum, auf dem dieses Praktikum für Einsteiger von einem großen Interessentenkreis wahrgenommen wird.

Zwischen dem kurz gefassten Kosmos-Ratgeber (*Mikroskopieren leicht gemacht*, 2. Auflage 1996) sowie dem *Großen Kosmos-Buch der Mikroskopie* (2002) nimmt das Einsteiger-Praktikum nach Umfang und Inhalt eine klar austarierte Mittelstellung ein.

Hilft der Ratgeber mit seinem farbenprächtigen Rundblick auf das makro-/mikroskopische Motivspektrum bei der Auswahl geeigneter Untersuchungsgegenstände, so begleitet die Neuerscheinung den Einsteiger in 25 Lernschritten in die Technik des Mikroskopierens. Vom Aufbau des Mikroskops und dem Licht als Informationsträger führt der rote Faden über Quetschpräparate und Schnittherstellung zum Polarisationsmikroskop und zur Mikrofotografie.

Zeichnungen vermitteln anschaulich die nötigen Handgriffe und Abläufe, Farbfotos illustrieren die Untersuchungsgegenstände. Fundierte Hintergrundinformationen verhindern, dass die Einsteigermikroskopie ins bloße Herumprobieren abgleitet.

Jedes Kapitel ist nach „BPK“-Manier sinnsschillernd getitelt, eingängig und anregend geschrieben. Auch der bereits etwas tiefer Eingestiegene findet im lesefreundlich strukturierten Text manche Anregungen und ergänzenden Hinweise: Melanozyten in der Rollmopshaut, Muskelfasern aus dem Sonntagssteak, Fettzellen vom Schweinebraten.

Die Illustration des großformatigen Bandes ist Zweck orientiert und daher nicht durchgehend nach ästhetischen Gesichtspunkten ausgewählt. Wohl deshalb herrscht ein bläulich-grüner Bildhintergrund vor. Einige Motive sind schwer auszumachen (S. 21: Brown'sche Molekularbewegung, S. 30: Plasmaströmung bei der Wasserpest, S. 38: Bakterien in der Kahmhaut). Für Einsteiger wären überdies Hinweise zur jeweiligen Aufnahmetechnik hilfreich und anregend gewesen.

Für den problemlosen Einstieg in die Mikroskopie wollte Bruno P. Kremer ein kompaktes und dennoch verständliches Arbeitsbuch schreiben. Das ist vollauf gelungen – und zwar zu einem ausgesprochen moderaten Preis. Uns „Aufgestiegenen“ ist damit ein ideales Geschenk für jedermann an die Hand gegeben, den wir für unsere Zukunft interessieren möchten!

Erich Luthje, Kiel

# Bestimmung Numerischer Aperturen –

## Teil 1: Geometrisch-optisch

Hinrich Husemann

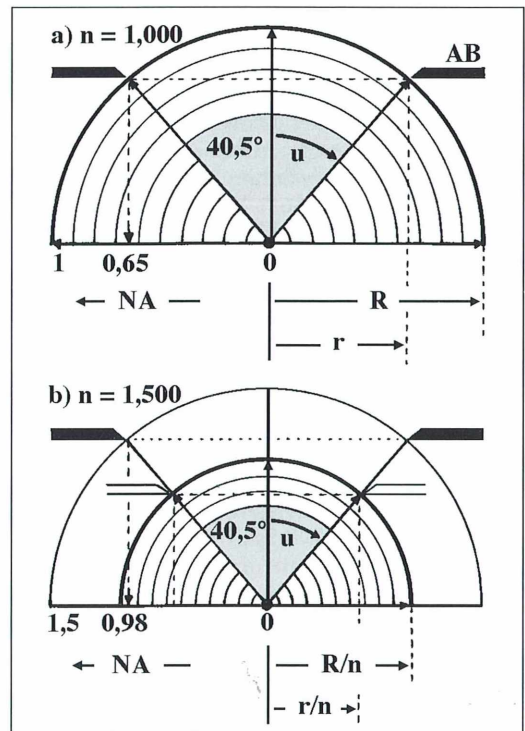
Die Numerische Apertur ist als wichtige Leistungskennzahl stets auf einem Mikroskop-Objektiv mit angegeben. Ihre Bestimmung erscheint deshalb als nicht erforderlich. Versuche zur experimentellen Überprüfung könnten aber dazu anregen, sich eingehender mit der mikroskopischen Abbildung zu befassen oder sein Wissen darüber zu reaktivieren.

**H**ierzu werden einfach durchführbare Methoden, geometrisch-optische (Teil 1) und eine wellen-optische (Teil 2), vorgestellt. Die theoretischen Grundlagen werden jeweils kurz erläutert; zur Vertiefung sei auf die angegebene Literatur (nur als Auswahl zu verstehen) verwiesen.

### Grundlagen

Die Numerische Apertur, Formelzeichen NA, ist ein von Ernst Abbe eingeführtes Maß für die Öffnungswinkel von Lichtbündeln bei optischen Abbildungen, insbesondere für geringe Gegenstandsweiten wie zum Beispiel bei der Mikroskopie. Bei großen Gegenstandsweiten, beispielsweise für Fernrohr- und Fotoobjektive, benutzt man dagegen das „Öffnungsverhältnis“ (Quotient aus Objektivdurchmesser und Brennweite) oder seinen Kehrwert, die „Brennzahl“. Siehe dazu Abbildung 1: Von einem Objektpunkt auf der optischen Achse gehen – durch Halbkreise angedeutet – Kugelwellen aus. Ihre Abstände stellen die Wellenlänge dar. Aus der Wellenfront mit dem Radius R lässt die Blende AB – die Aperturblende, hier die Fassung oder wirksame Blende eines Objektivs – mit dem Öffnungsradius r nur eine Kugelkappe mit dem Aperturwinkel  $u$  durch. Darunter versteht man den halben Öffnungswinkel des Lichtbündels, also den Winkel zwischen Randstrahl und optischer Achse. Rein geometrisch gilt  $r/R = \sin u$ . Bei Vakuum und Luft als Medium ist das die Numerische Apertur des von der Blende durchgelassenen Bündels. Als Bei-

spiel in Abbildung 1a:  $u = 40,5^\circ$  und damit  $NA = r/R = \sin 40,5^\circ = 0,65$ ; auch auf der linken Skala ablesbar (deren Teilung und Skalenende ergibt sich aus  $\sin 90^\circ = 1$ ).



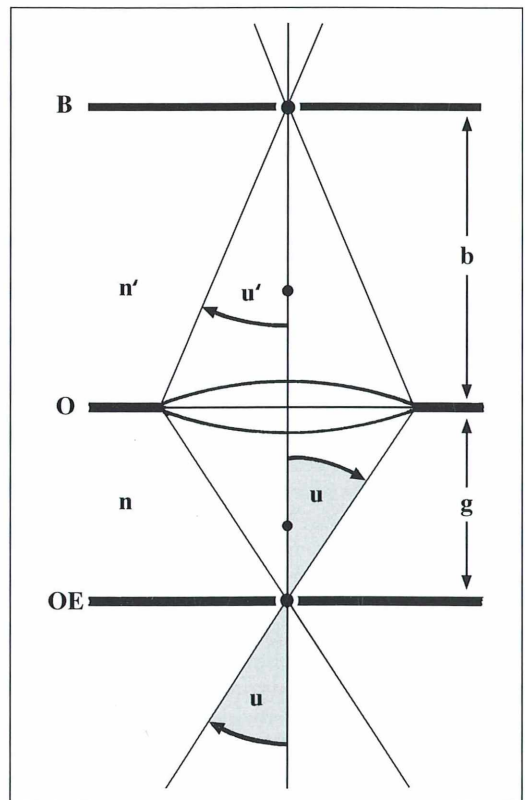
**Abb. 1:** Erläuterungen zur Numerischen Apertur, Medien mit verschiedenem Brechungsindex. AB Aperturblende,  $n$  Brechungsindex, NA Numerische Apertur,  $r$  Öffnungsradius,  $R$  Radius,  $u$  Aperturwinkel.



Die Strecke  $R$  ist ein von den Wellenfronten des Lichtes zurückgelegter Weg. Licht wird an sich durch seine Frequenz eindeutig charakterisiert; für die Wellenoptik ist aber die jeweilige Wellenlänge  $\lambda$  und ihr Verhältnis zu den charakteristischen geometrischen Abmessungen maßgebend. Eindeutig der Frequenz zugeordnet ist aber nur die Vakuum-Wellenlänge  $\lambda_v$  (die Wellenlänge in Luft ist dieser praktisch gleich). Durchläuft das Licht ein materielles Medium, ist dort die Lichtgeschwindigkeit und damit auch die Wellenlänge  $\lambda$  kleiner als im Vakuum; es gilt  $\lambda = \lambda_v/n$ .  $n$  ist der Brechungsindex des jeweiligen Mediums, also das Verhältnis der Lichtgeschwindigkeit – und damit der Wellenlänge – im Vakuum zu der im Medium. Er ist für Vakuum durch Definition exakt 1, in Luft praktisch gleich 1 (genau 1,0003); für Wasser 1,335, Glycerin 1,455, Immersionsöl 1,518 und Glas je nach Sorte 1,5 bis 1,8. Auf die Abhängigkeit von  $\lambda_v$  – die Dispersion – sowie die von der Temperatur sei hier nur hingewiesen. Lichtwege in verschiedenen Medien sind optisch nur gemessen in Wellenlängen als Einheit vergleichbar. In Abbildung 1b ist ein Medium mit  $n = 1,500$  (vergleichbar Immersionsöl) angenommen. Gegenüber Luft (siehe Abb. 1a) reduzieren sich die Wellenlänge und alle von ihr bestimmten linearen Abmessungen, wie der Lichtweg  $R$  und die Teilung der NA-Skala, um den Faktor  $1/n = 0,667$ . Wie die geometrische Ähnlichkeit erkennen lässt, würde der gleiche Aperturwinkel  $u = 45^\circ$  von einem Blendenradius  $r/n = 0,667 r$  erfasst. Beim Blendenradius  $r$  fällt auf den geometrischen Lichtweg  $R$  die  $n$ -fache Wellenzahl und man liest dazu ab  $NA \approx 0,98$ , entsprechend  $n \times \sin u = 1,500 \times 0,65 = 0,975$ . In Luft betrüge der zu dieser Apertur gehörige Winkel  $u = 77,2^\circ$ . Allgemein gilt also  $NA = n \times \sin u$ . Da  $u$   $90^\circ$  nicht überschreiten kann, gilt in Luft  $NA \leq 1$ ; real erreicht man bei mikroskopischen Trockenobjektiven bis 0,95, was  $u = 72^\circ$  entspricht.

Durch Auffüllen des Raumes zwischen Objekt und Frontlinse des Objektivs mit Flüssigkeiten – so genannte Immersion – zum Beispiel in Wasser, Glycerin oder geeigneten Ölen, werden durch den Faktor  $n$  bei den Immersionsobjektiven NA-Werte  $> 1$  (praktisch bis etwa 1,4) erreicht. Beispiel: Mit Immersionsöl ( $n = 1,52$ ) ergibt sich bei einem Aperturwinkel  $u = 55^\circ$  eine NA von ca. 1,25; in Luft aber nur 0,82. Diese Betrachtung sollte allerdings nicht dazu verleiten, Trockenobjektive zu immernieren.

Abbildung 2 zeigt die Lage der Aperturwinkel bei optischen Abbildungen: Ein auf der optischen Achse im Abstand  $g$  vor dem Objektiv O (hier einfach als dünne Sammellinse dargestellt; bei so genannter Unendlich-Optik muss die Tubuslinse mit einbezogen werden) in der Objektebene OE gelegener Punkt wird abgebildet in einen Punkt der Bildebene B im Abstand  $b$ . Die Randstrahlen beider Bündel schließen mit der optischen Achse die objekt- beziehungsweise bildseitigen Aperturwinkel  $u$  und  $u'$  ein.  $n$  und  $n'$  sind die Brechungsindizes im Objekt- beziehungsweise Bildraum.  $NA = n \times \sin u$  bzw.  $NA' = n' \times \sin u'$  werden als objekt- und bildseitige Numerische Apertur bezeichnet. Es gilt  $NA = M \times NA'$ , wobei  $M$  der jeweilige Abbildungsmaßstab ist. Die NA ist also an sich für ein gegebenes Objektiv keine Konstante, son-



**Abb. 2:** Objekt- und bildseitige Aperturwinkel. B Bildebene, b Bildweite, g Gegenstandsweite, n Brechungsindex im Objektraum, n' Brechungsindex im Bildraum, O Objektiv, OE Objektebene, u objektseitiger Aperturwinkel, u' bildseitiger Aperturwinkel.

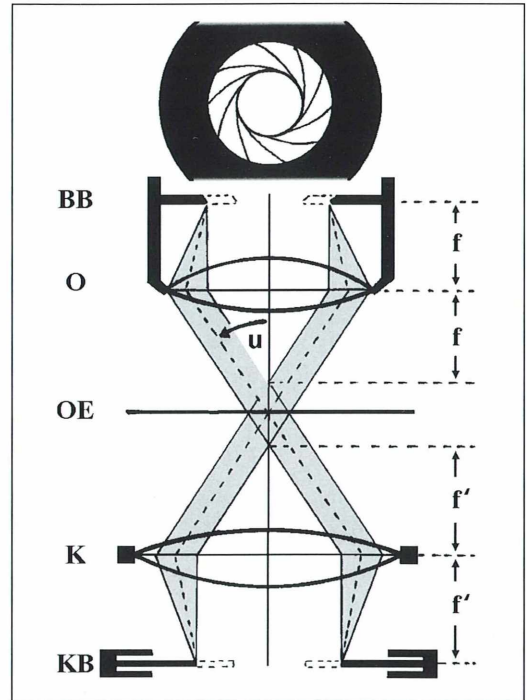
dern hängt grundsätzlich von den Bedingungen der jeweiligen Abbildung ab. Die auf Mikro-Objektiven angegebene NA ist stets die objektseitige und gilt für deren konstruktiv vorgesehene Arbeitsabstände (und damit Bildweiten).

### Zur Bedeutung der numerischen Apertur

Für die mikroskopische Abbildung ist die Numerische Apertur in zweifacher Hinsicht von Bedeutung: Einmal begrenzt sie den zur Abbildung nutzbaren Lichtstrom. Dieser ist proportional zum Quadrat der NA, die damit maßgebend ist für die Helligkeit der Abbildung. Das ist speziell für lichtschwache Beobachtungsverfahren wie die so aktuelle Fluoreszenz-Mikroskopie von Interesse. Bei der heute üblichen Epifluoreszenz ist das Objektiv gleichzeitig Kondensor und in die Bildhelligkeit geht deshalb seine NA bis zur 4. Potenz ein. Zum anderen bestimmt die NA zusammen mit der Wellenlänge des zur Abbildung benutzten Lichtes das durch dessen Wellennatur begrenzte Auflösungsvermögen des Mikroskops. Darunter versteht man den kleinsten Abstand  $d$ , bei dem benachbarte feine Strukturelemente eines Objekts – ausreichenden Kontrast vorausgesetzt – gerade noch als getrennt wahrgenommen werden. Aus der Wellentheorie der optischen Abbildung ergibt sich  $d = f \times (\lambda_v/NA)$ , das heißt  $d$  ist umgekehrt proportional zur NA des Objektivs. Der Vorfaktor  $f$  hängt unter anderem von der Beleuchtungsapertur ab und kann je nach Voraussetzungen im Bereich von etwa 0,5 bis 1 variieren.

### Bestimmung der NA mit Hilfe des Kondensors

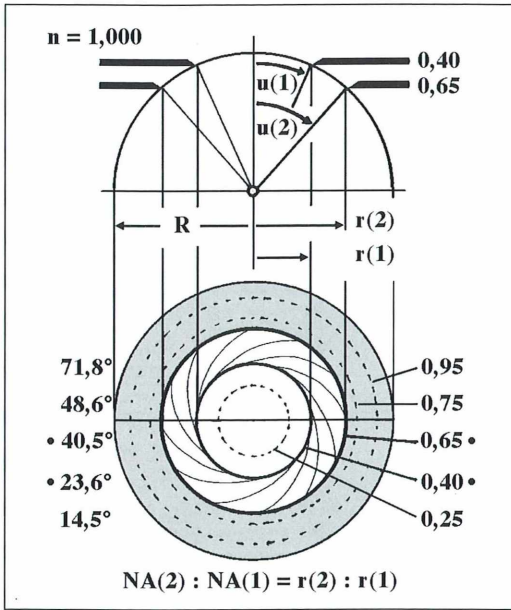
Wie der Ausschnitt aus dem Pupillen-Strahlengang des Mikroskops in Abbildung 3 zeigt, könnte man die NA des Objektivs  $O$  im Prinzip mit Hilfe der Kondensorblende  $KB$  bestimmen. Diese in der unteren Brennebene des Kondensors  $K$  gelegene verstellbare Aperturblende wird durch ihn selbst in Kombination mit dem Objektiv  $O$  in dessen bildseitige Brennebene  $BB$  abgebildet (OE Objektelebene;  $f$  und  $f'$  Brennweiten). Dort befindet sich auch die Aperturblende des Objektivs. Bei herausgenommenem Okular oder mit dem Hilfsmikroskop sieht man dort das Bild der Kondensorblende  $KB$ . Öffnet man diese so weit, dass ihr Bild gerade



**Abb. 3:** Aperturmessung mittels Kondensor. BB bildseitige Brennebene,  $f$  und  $f'$  Brennweiten, K Kondensor, KB Kondensorblende, O Objektiv, OE Objektelebene,  $u$  Aperturwinkel.

hinter dem Rand der Aperturblende des Objektivs verschwindet, ist die dann wirksame Numerische Apertur des Kondensors der des Objektivs gleich. Wäre die Kondensorblende mechanisch spielfrei und hätte sie eine genügend große, genau kalibrierte Aperturskala, könnte man dort die gesuchte NA direkt ablesen. Kondensoren sind aber (bestenfalls) nur mit einer grob orientierenden Aperturskala ausgerüstet. Diese an sich nahe liegende einfache Methode entfällt also; immerhin sind so aber noch vergleichende NA-Bestimmungen möglich, wenn die NA von einem Objektiv als bekannt vorausgesetzt werden kann. Das sei in Abbildung 4 an einem Beispiel erläutert. Zunächst wird das Objektiv (1) mit der kleineren Apertur  $NA(1) = 0,40$  eingeschaltet und die Kondensorblende verstellt, bis ihr Bild gerade eben hinter dem Rand seiner Aperturblende verschwindet. Dann wird auf das Objektiv (2) mit der größeren Apertur  $NA(2) = 0,65$  umgeschaltet. Die Kondensorblende wird – diese Situation ist in





**Abb. 4: Vergleichende Bestimmung der Numerischen Apertur.  $n$  Brechungsindex,  $r(1)$  und  $r(2)$  Blendenradien,  $u(1)$  und  $u(2)$  Aperturwinkel.**

Abbildung 4 dargestellt – in dessen Austrittspupille wieder sichtbar. Ihr (scheinbarer) Durchmesser  $2 r(1)$  wird gemessen (siehe dazu weiter unten). Die Kondensorblende wird nun voll geöffnet und der (scheinbare) Durchmesser  $2 r(2)$  der freien Aperturblende des Objektivs (2) bestimmt.

Es gilt allgemein:  $r(2)/r(1) = NA(2)/NA(1)$ ; in diesem Fall also  $r(2)/r(1) = 0,65/0,40 = 1,625$ . Ist also eine NA bekannt, lässt sich die andere ermitteln. Die Bestimmung von  $r(1)$  und  $r(2)$  kann zum Beispiel über Projektion durch das Hilfsmikroskop auf eine geeignete Skala erfolgen. Als gut geeignet erwies sich ein Messokular, das mittels eines Stativs coaxial etwa 7 bis 8 cm über der Augenlinse des Hilfsmikroskops angebracht war (die Scharfstellung erfolgte über Letzteres).

In Abbildung 4 sind gestrichelt noch die Austrittspupillen für weitere übliche NA-Werte angedeutet und deren Aperturwinkel  $u$  angegeben. Für die praktische Durchführung sollte die Kondensorblende zweckmäßig separat zentrierbar sein und nicht zu wenige Lamellen besitzen, damit ihr Bild möglichst rund (d.h. we-

niger polygonartig) und deshalb exakter mit der Aperturblende des Objektivs zur Deckung zu bringen ist. Hier liegt eine kritische Stelle für die Genauigkeit des Verfahrens. Bei Immersions-Objektiven muss natürlich auch der Kondensor (möglichst hohe NA, am besten 1,4) immigriert werden.

Da man die NA von wenigstens *einem* Objektiv als bekannt voraussetzen muss, handelt es sich um eine Relativ-Methode, deren Ergebnisse von diesem Wert abhängig sind.

### Weiteres Programm

Im Folgenden sollen deshalb zwei von anderen Objektiven unabhängige Methoden zur Bestimmung der NA behandelt werden: 1) Geometrisch-optisch durch Messung des Aperturwinkels  $u$  mit Hilfe selbst gebauter einfacher Apertometer; 2) wellenoptisch durch direkte Anwendung der Abbe'schen Theorie der mikroskopischen Abbildung.

Während man für erste Methode mit einfachen Materialien, etwas bastlerischem Geschick und (nach Möglichkeit) einem Hilfsmikroskop auskommt, benötigt man für die zweite zusätzlich ein Objektmikrometer und einen möglichst schmalbandigen Lichtfilter mit definiertem Wellenlängenschwerpunkt (Interferenzfilter; ein einfacher Glasfilter, z.B. ein VG9-Grünfilter, reicht nicht aus).

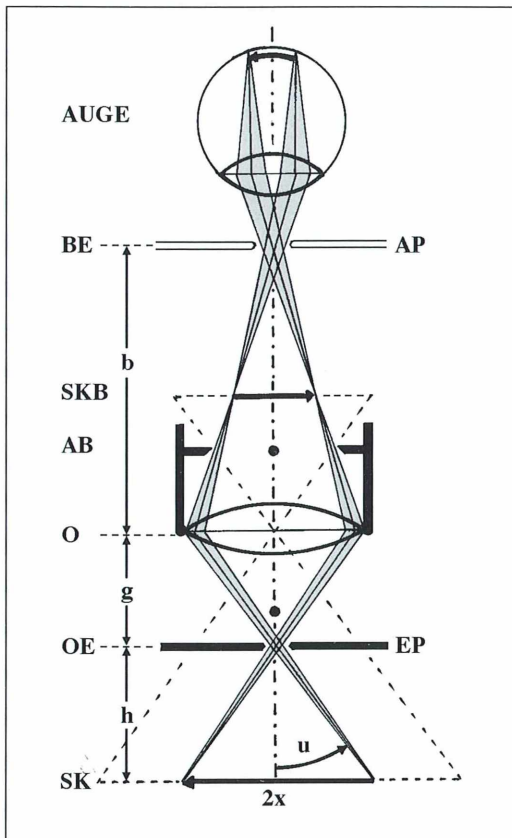
### Bestimmung der NA durch Messung des Aperturwinkels

Es soll der (objektseitige) Aperturwinkel  $u$  ermittelt werden. Dazu in der Literatur gefundene Messvorschriften entsprechen im Prinzip alle einem von Kohlrausch (1985) angegebenen Verfahren und unterscheiden sich nur in unbedeutenden Details. Meist wird ohne weitergehende theoretische Erläuterung und kritische Betrachtung nur die einfache apparative Durchführung der Messung beschrieben, zum Teil auch ein sehr vereinfachter Strahlengang angedeutet; lediglich bei Walcher (1985) ist dieser konkreter dargestellt.

Denkt man sich die Randstrahlen des Aperturwinkels, wie für diese Betrachtungen bereits in Abbildung 2 angedeutet, über die Objektebene OE hinaus verlängert, wiederholt sich dieser noch einmal als Scheitelwinkel. Alle oben zi-

tierten Verfahren versuchen dessen Schenkel – fiktive rein geometrische Strahlen – für seine Messung in eine reale optische Abbildung umzusetzen. Das ist im Prinzip nur näherungsweise möglich, denn optische Abbildungen entstehen nicht mit durchmesserlosen geometrischen Strahlen, die man durch *einen* Punkt (hier den Scheitelpunkt des Aperturwinkels) schicken kann, sondern mit Lichtbündeln endlicher (d.h. von Null verschiedener) Apertur und damit von endlichem Durchmesser.

Abbildung 5 zeigt den realistischen Strahlengang für das hier angewandte Messprinzip: Das Mikroskop ist fokussiert auf eine Lochblende



**Abb. 5:** Strahlengang bei geometrischer Bestimmung der Numerischen Apertur. AB Aperturblende, AP Austrittspupille, BE Zwischenbildebene, EP Lochblende bzw. Eintrittspupille, h Skalenabstand, O Objektiv, OE Objektelebene, SK Skala, SKB Skalenbildebene, u Aperturwinkel.

in seiner Objektelebene OE. Vor dieser befindet sich in genau bekanntem Abstand h eine beleuchtete Skala SK. Nur mittels der durch die Lochblende ausgesuchten Lichtbündel kann durch das Objektiv O zunächst der Skalenausschnitt  $2x$  in die konjugierte Ebene SKB etwas oberhalb seiner bildseitigen Fokusebene, im weiteren Verlauf auch die Lochblende selbst in die zur Objektelebene OE konjugierte Zwischenbildebene BE des Mikroskops abgebildet werden. Der Aperturwinkel  $u$  wird festgelegt durch die direkt in der bildseitigen Fokusebene liegende Aperturblende AB. Der Betrachter erblickt bei herausgenommenem Okular im Tubus in der Ebene SKB ein Bild der Skala und liest den Wert  $2x$  ab. Der gesuchte Aperturwinkel  $u$  berechnet sich dann aus  $\tan u = x/h$ .

Der rein geometrischen Absicht der beschriebenen Messanordnung folgend, sollte der Durchmesser der Lochblende natürlich möglichst klein sein, um mit Lichtbündeln minimaler Apertur der Vorstellung von Strahlen als Schenkel des Winkels  $u$  am nächsten zu kommen. Physikalisch wird das aber begrenzt durch die dann dominant werdende Beugung, die zu einer unscharfen Abbildung führt; außerdem durch den damit verbundenen Verlust an Helligkeit. Beides würde eine exakte Ablesung der Skala erschweren oder sogar unmöglich machen. Ist die Lochblende dagegen zu groß oder lässt man sie ganz weg, wird – insbesondere bei schwachen Objektiven, wo auf Grund der längeren Brennweiten das Skalenbild SKB sehr hoch liegt – die Skala wegen Vignettierung durch die Aperturblende nicht mehr mit scharfem Rand abgebildet und man kann den Abschnitt  $2x$  nicht mehr genau ablesen. Zusätzlich fällt dieser dann – die dünn gestrichelten Linien in Abbildung 5 deuten das für letzteren Fall an – prinzipiell zu groß aus. Ein Lochblenden-Durchmesser von etwa 0,5 mm erschien als brauchbarer Kompromiss.

Die in der Objektelebene OE gelegene Lochblende EP (Eintrittspupille) wird vom Objektiv O in die Zwischenbildebene BE nach AP (Austrittspupille) abgebildet. Da Strahlengänge umkehrbar sind, kann man sie deshalb auch mit gleicher Wirkung in Form eines Diopters in die Zwischenbildebene bringen; korrekte Position zum Beispiel bei Zeiss (West) 10 mm unterhalb des Tubusrandes. Diese Anordnung ist für den praktischen Gebrauch viel günstiger und wird deshalb hier bevorzugt. Dem Abbildungsmaßstab Rechnung tragend, kann der Durchmesser



der Diopterblende etwas größer (als brauchbar erschienen 1–2 mm) ausfallen. Den Diopter kann man sich beispielsweise aus einem alten Okular nach Abschrauben der Linsen herstellen. Da die Skalenteilung bei stärkeren Objektiven recht komprimiert abgebildet wird und deshalb schwerer ablesbar ist, benutzt man anstelle des Diopters mit Vorteil ein Hilfsmikroskop. Dessen Objektiv hat bereits auf der Rückseite eine Blende, die man gegebenenfalls mit wenig Aufwand durch eine etwas engere ersetzen kann.

Abbildung 6 zeigt ein solches selbst gebautes Apertometer. Ein Deckglas mit einem kleinen Hilfsobjekt (zur Fokussierung) auf der Unterseite – diese stellt ja die Objektebene OE des Mikroskops dar – ist in genau bekannter Höhe  $h$  (gemessen zur Unterseite) über der mit Millimeterpapier belegten Messskala SK montiert. Letztere ist auf dem Objektisch zum Justieren frei verschiebbar. Die (ursprüngliche) Lage der Lochblende EP und die für die Messung relevanten Größen  $h$  und  $x$  sind in der Abbildung angegeben. Die Skala sollte ausreichend beleuchtet sein.

Das Mikroskop wird zunächst auf die Deckglas-Unterseite fokussiert und das Okular dann wie oben beschrieben durch Diopter oder Hilfsmikroskop ersetzt. Hierdurch wird der vom Objektiv aus der Messskala SK in die Skalenbildebene SKB abgebildete Ausschnitt  $2x$  abgelesen. Aus  $\tan u = x/h$  erhält man  $u$  mit einem Taschenrechner und – mit  $n = 1,000$  für Luft – auch  $NA = \sin u$ .

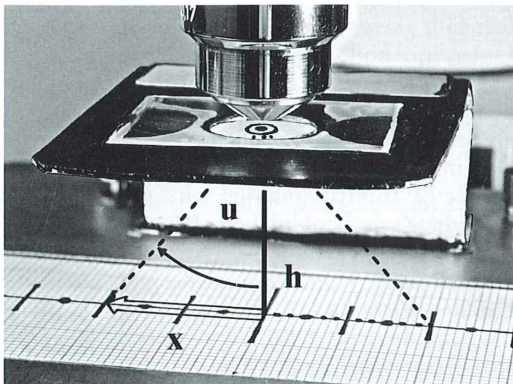


Abb. 6: Apertometer mit ebener Skala.  $h$  bekannte Höhe,  $u$  Aperturwinkel,  $x$  abgelesener Skalenwert.

Ein weiteres Beispiel zeigt Abbildung 7: Mit  $h = 23,7$  mm wurde für ein Objektiv Plan Apo 25/0,63 (160 mm) abgelesen  $2x = 39,0$  mm (Nachkomma-Stellen lassen sich hier nur schätzen); mit  $x = 19,5$  mm folgt  $\tan u = 19,5/23,7 = 0,823$ ; das heißt  $u = 39,45^\circ$  und damit  $NA = \sin 39,45^\circ = 0,636$ . Die Messunsicherheiten und ihre Auswirkungen werden später diskutiert.

### Apparative Variante

Die durch die Lochblende (in beiden Versionen) bestimmte Perspektive bewirkt bei der Abbildung der ebenen Skala mit steigender NA und damit größeren Aperturwinkeln zunehmend einen Globuseffekt, der die Ablesung der Skala erschwert. Die Teilung erscheint zum Rande hin stark komprimiert, wobei die am Bildrand abzulesenden Endpunkte der Strecke  $2x$  sozusagen hinter dem Horizont versinken. Abbildung 8 zeigt das für ein Objektiv Apo 40/0,95 korr ( $u \approx 72^\circ$ ).

Das lässt sich weitgehend beheben, wenn man die Skala aus Millimeterpapier nicht eben, sondern wie in Abbildung 9 dargestellt, auf einem Halbkreis mit genau bekanntem Radius  $r$  um das Projektionszentrum (ursprüngliche Lage der Lochblende) herum anordnet. Die Skalenmitte wird mit Hilfe des Kreuztisches genau in die optische Achse gebracht, was sich durch

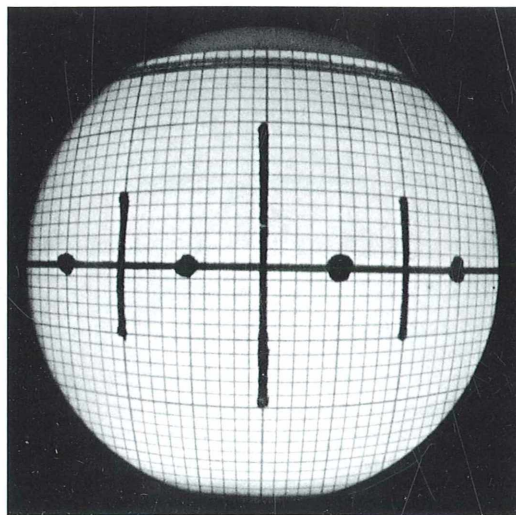


Abb. 7: Skalenbild für Objektiv 25/0,63.

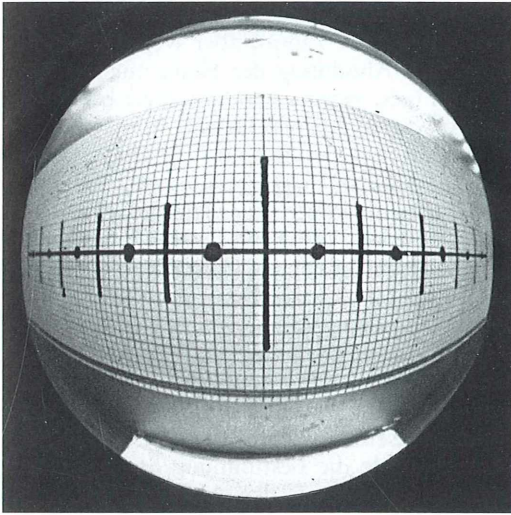


Abb. 8: Skalensbild für Objektiv 40/0,95.

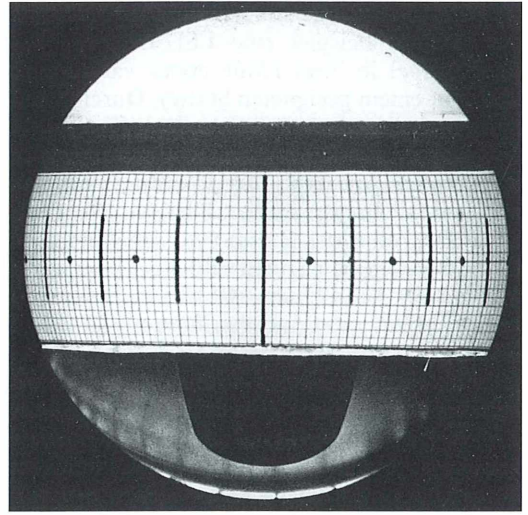


Abb. 10: Skalensbild für Objektiv 40/0,95 nach Anordnung der Skala auf einem Halbkreis.

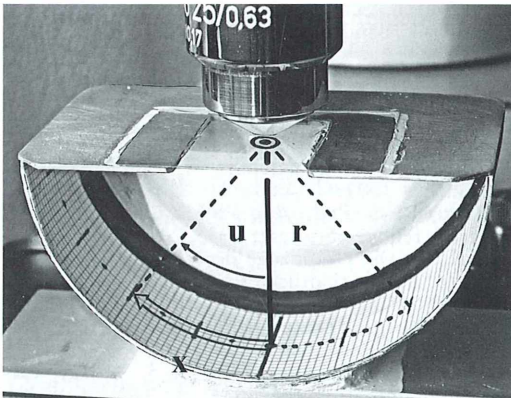
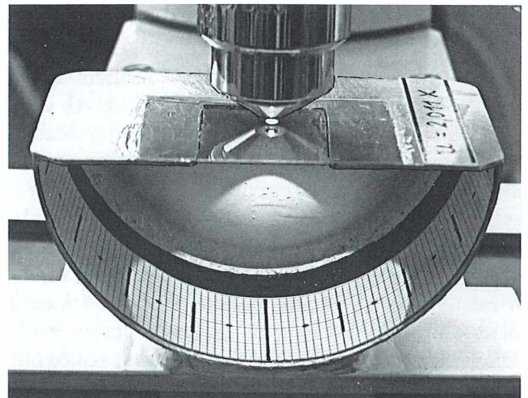
Abb. 9: Apertometer mit Halbkreis-Skala.  $r$  Skalradius,  $u$  Aperturwinkel,  $x$  abgelesene Bogenlänge.

Abb. 11: Umkehrung des Strahlenganges.

Diopter oder Hilfsmikroskop gut kontrollieren lässt. Die Skala erscheint dann – Abbildung 10 möge das am gleichen Beispiel belegen – als nahezu geebnet und linear geteilt. Man vergleicht die abgelesene Bogenlänge  $x$  mit der Länge  $l = \pi r$  des Skalenhalbkreises ( $180^\circ$ ) und erhält so mit  $u$  auch die Numerische Apertur:  $u = (x/\pi r) \times 180^\circ$  ( $\pi = 3,141$ ); und wieder mit  $n = 1,000$  für Luft:  $NA = \sin [(x/\pi r) \times 180^\circ]$ . Beispiel: Für das oben genannte Objektiv Plan Apo 25/0,63 wurde abgelesen  $2x = 39,5$  mm.

Mit  $r = 28,5$  mm ergab sich:  $NA = \sin [(19,75/3,141 \times 28,5) \times 180^\circ] = \sin 39,7^\circ = 0,639$  in guter Übereinstimmung mit dem oben erhaltenen Wert.

### Umkehrung des Strahlenganges

Das Ganze lässt sich – Strahlengänge sind umkehrbar – auch revers betreiben. Man bringt über der Austrittspupille von Diopter oder



Hilfsmikroskop eine genügend intensive Lichtquelle, zum Beispiel eine LED-Leuchte (Taschenlampe) in ihrer Höhe etwas variabel an (etwa an einem geeigneten Stativ). Durch leichtes Verschieben erreicht man, dass der Skalenausschnitt  $2x$ , den man sonst durch Dioptr oder Hilfsmikroskop sehen würde, auf der Skala möglichst scharf berandet ausgeleuchtet ist. Dazu sollte der Raum zweckmäßig genügend abgedunkelt sein. Abbildung 11 zeigt das wieder am Beispiel des Objektivs Plan Apo 25/0,63. Man kann dort den Wert für  $2x$  direkt ablesen. Bei höheren Aperturen ist die kreisförmige Skala auch hier vorteilhafter, weil bei ihr die Beleuchtungsstärke zum Rande hin praktisch nicht abfällt. Das Verfahren eignet sich gut zur Demonstration. Auch dass ohne Lochblende – besonders bei schwachen Objektiven – die Werte für  $2x$  und damit die NA zu hoch ausfallen, lässt sich hier einfach zeigen.

### **Ergänzende Betrachtungen**

Bei Immersions-Objektiven mit  $NA \geq 1$  ist eine Bestimmung mit diesen Anordnungen nicht möglich, da sich unterhalb des Deckglases wieder Luft befindet. Es müsste sonst der Raum zwischen Deckglas und Skala mit Glas gefüllt sein. In ferner Vergangenheit waren nach diesem Prinzip konzipierte Apertometer erhältlich. Zur Genauigkeit: Da die Objektische meist nur begrenzt absenkbar sind, können die Höhe  $h$  beziehungsweise der Radius  $r$  30 mm kaum überschreiten. Sie sollten aber auf genauer als 1% bekannt sein; die Halbkreis-Skala sollte gut justiert, die Dioptrblende in der Zwischenbildebene positioniert und das Mikroskop exakt fokussiert sein. Der Autor hat die Halbkreis-Skala aus dem unteren Ende einer Deospray-Flasche aus Aluminium gefertigt; das Bodestück gewährleistet Stabilität der Kreisform. Die Teilung des Millimeterpapiers erwies sich durch Nachmessen mit der Schieblehre als sehr genau. Etwas schwieriger war die Beurteilung der Unsicherheit beim Ablesen von  $2x$ .

Bei höheren Aperturen sind die Werte von  $2x$  größer (ca. 30–70 mm), aber wegen der komprimierten Abbildung der Skala nur auf circa 0,3 mm (geschätzt) genau ablesbar; bei niedrigen Aperturen kleiner (10–20 mm), aber genauer auf circa 0,1–0,2 mm (geschätzt) ablesbar. Bei ungünstigster Summierung dieser Messungenauigkeiten wurde der relative Fehler bezüglich  $u$  und NA auf circa 1–2% geschätzt; bei niedrigen Aperturen eher etwas mehr. Die an einer Reihe von Mikro-Objektiven renommierter Firmen so gemessenen NA-Werte wichen im Allgemeinen nicht stärker als in diesem Rahmen von den dort angegebenen Werten (die natürlich etwas gerundet sind) ab.

In der Fortsetzung (Teil 2) wird als wellenoptische Methode die Bestimmung der NA durch direkte Anwendung der Abbe'schen Theorie der mikroskopischen Abbildung behandelt.

### **Literaturhinweise**

- Bergmann, L., Schäfer, C.: Lehrbuch der Experimentalphysik, Band 3 Optik. Walter de Gruyter, Berlin 1987.
- Gerlach, D.: Das Lichtmikroskop. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1985.
- Göke, G.: Moderne Methoden der Lichtmikroskopie. Frankh'sche Verlagshandlung, Stuttgart 1988.
- Hecht, E.: Optik. Oldenbourg Wissenschaftsverlag, München 2001.
- Kohlrausch, F.: Praktische Physik 1, 23. Auflage. Verlag Teubner, Stuttgart 1985.
- Michel, K.: Die Grundzüge der Theorie des Mikroskops. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1964.
- Paul, H. (Hrsg.): Lexikon der Optik. Spektrum Akademischer Verlag, Berlin 2003.
- Walcher, W.: Praktikum der Physik, 5. Auflage. Verlag Teubner, Stuttgart 1985.
- Westphal, W. H.: Physikalisches Praktikum. Verlag Vieweg, Braunschweig 1971.
- [www.Physik.uni-marburg.de](http://www.Physik.uni-marburg.de)
- <http://gpr.physik.hu-berlin.de/02>

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

# Mundgliedmaßen von Insekten

Siegfried Hoc

Die Fresswerkzeuge der Insekten sind der Ernährungsweise der jeweiligen Insektengruppe angepasst, so dass man kauende (beißende), leckende, saugende und stechend-saugende Typen unterscheiden muss. Der Grundtyp und auch phylogenetisch älteste Typus sind die kauenden Mundwerkzeuge. An ihnen lässt sich die Organisation am leichtesten studieren und verstehen. Da man die Insektenfresswerkzeuge einfach präparieren und auch ohne Schwierigkeiten Dauerpräparate herstellen kann, sind sie dankbare Objekte für mikroskopische Studien bei schwachen Vergrößerungen bis 100fach.

**S**tammes- und entwicklungsgeschichtlich betrachtet, sind die Mundwerkzeuge der Insekten und die Fühler (Antennen) auch Extremitäten, so dass man sie folgerichtig als Mundgliedmaßen bezeichnet. Sie gliedern sich grundsätzlich in die beiden Mandibel (Zangen) und zwei Paar Maxillen, von denen das hintere Paar zum unpaaren Labium verschmolzen ist. Die Mundgliedmaßen vom kauenden Typ haben noch die Besonderheit, dass sie Taster (Palpen) tragen, die der mechanischen und chemischen Prüfung der Nahrung dienen, aber auch Nahrungsstücke festhalten und den Mandibel zuführen können.

## Orientierung der Mundgliedmaßen

Sind die Mundgliedmaßen wie bei der weitaus überwiegenden Zahl der Insekten ventral (nach unten) gerichtet, so entsteht ein orthognather Kopf, den die meisten Pterygota (geflügelte oder sekundär flügellose Insekten) aufweisen. Sind die Mundwerkzeuge nach vorne gerichtet und von oben sichtbar, so bezeichnet man den Kopf als prognath. Solche Köpfe haben Kamelhalsfliegen (Raphidiidae), Ameisenlöwen (Neuroptera), Florfliegen (Chrysopidae) und bestimmte Kurzflügelkäfer (Staphylinidae) z.B. die Gattung *Stenus*. Von Hypognathie spricht man, wenn die Mundgliedmaßen nach unten hinten gerichtet sind, so wie bei den Fransenflüglern (Thysanoptera) und bestimmten Schnabelkerfen (Hemiptera).

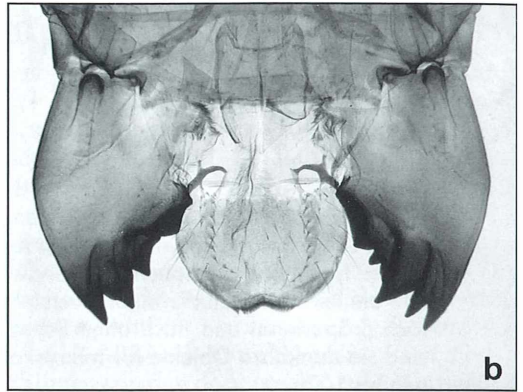
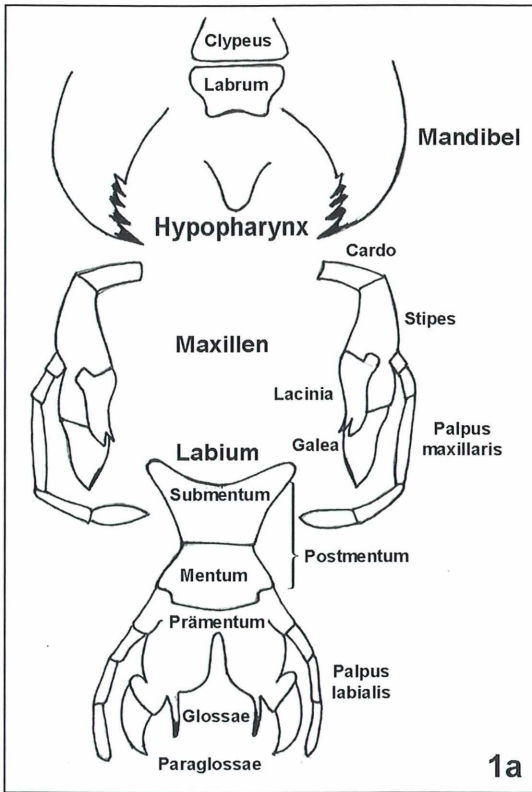
## Bestandteile der Mundgliedmaßen

Von allen Mundteilen sind die Mandibeln (Abb. 1a und b) am auffälligsten. Sie sind ungegliedert und werden von kräftigen Adduktormuskeln in der Kopfkapsel wie die Backen einer Zange gegeneinander bewegt. Je nach Ernährungsweise sind sie höchst verschieden geformt: Spitze Zangen, Scheren, am Ende scharfe Spitzen oder Schneiden, basale Mahlf Flächen aus Zahnreihen oder tiefe, beim Zusammenklappen ineinander greifende Furchen (viele Blattfresser).

Die ebenfalls paarig vorhandenen Maxillen (Abb. 1a) bestehen aus zwei Grundgliedern: Cardo und Stipes. Der Stipes trägt zwei Laden (Endite): Die laterale Galea und die mediane Lacinia. Seitlich setzt der Telopodit [ein am Laufbein der Insekten auf die Hüfte (Coxa) folgender Abschnitt] in Gestalt eines Tasters an (Palpus maxillaris). Dieser sitzt bei manchen Arten auf einem Sockel (Palpifer). Die Bewegungen der Maxillen befördern Nahrungsstücke, die von den Mandibeln abgebissen wurden, in den Mundvorraum (Präoralhöhle).

Das ebenfalls paarig angelegte Labium (Abb. 1a) ist zu einem Stück verwachsen. Es bildet ein in der ganzen Breite gegen das Kopfinnere geöffnetes Postmentum, das den Kopf hinten abschließt, sowie ein frei vorragendes Prämentum. Das Postmentum kann sich in ein basales Submentum und in ein distales Mentum gliedern. An seiner Basis münden die Speicheldrüsen.





**Abb. 1:** a Schematische Darstellung auseinander gelegter kauender (beißender) Mundgliedmaßen. b Mandibeln einer Schabe (*Blatta orientalis*), Vergr. 25fach.

Das Prämentum (Abb. 1a) ist eine nach ventral vorstehende, doppelwandige Platte, die den Mundvorraum nach hinten abschließt und verhindert, dass Nahrung aus ihm herausrutscht. Meistens trägt das Prämentum zwei Paar kurze Laden, die lateralen Paraglossae und die medialen Glossae. Bei manchen Arten sind die Endite zu der Lingula verschmolzen. Lateral trägt das Prämentum die beiden Labialpalpen. Der Mundvorraum wird vorne von dem Clypeus und seiner Fortsetzung, dem Labrum (Oberlippe) abgeschlossen. Zwischen Labrum und Labium liegt der zungenförmige Hypopharynx, der in den Pharynx (Schlund) übergeht. Hypopharynx und Labium bilden die Speicheltasche (Salvarium).

Die Präoralhöhle hat zwei Stockwerke: Zwischen Labrum und Hypopharynx liegt der Meatus oris, zwischen Clypeus und Hypopharynx das Cibarium, das in die primäre Mündöffnung übergeht, mit welcher der Pharynx beginnt.

### Abwandlungen des Grundbauplans

Vom Grundbauplan der Insekten-Mundgliedmaßen, den man als kauend oder beißend bezeichnet (Abb. 1a und b) gibt es eine Reihe von Abwandlungen. Besonders auffällig sind die Verlängerungen. Dies ist schon bei vielen Collembola (Springschwänze, Urinsekten) der Fall, deren Mandibeln und Maxillen als Stäbe innerhalb der Gnathalfalte verlaufen. Selten betrifft die Streckung nur eine Extremität, wie das hervorschnellbare Labium der Libellenlarven (Abb. 2) und der Käfergattung *Stenus* (Kurzflügler), oder die zu einem Saugrohr zusammenlegbaren Galea (von den Maxillen) der Schmetterlinge (Abb. 3).

Bei stechend-saugenden Insekten sind mehrere Mundgliedmaßen an der Bildung des Rüssels beteiligt: Bei Wanzen (Heteroptera; Abb. 4) und Flöhen (Pulicidae; Abb. 5) sind die Mandibeln und Maxillen zu langen Nadeln ausgezogen, die in der Rinne eines ebenso langen Labiums ge-

Abb. 2: Fangmaske einer Libellenlarve, Vergr. 25fach. – Abb. 3: Auseinander gelegter Saugrüssel eines Kohlweißlings (*Pieris brassicae*), Vergr. 25fach.

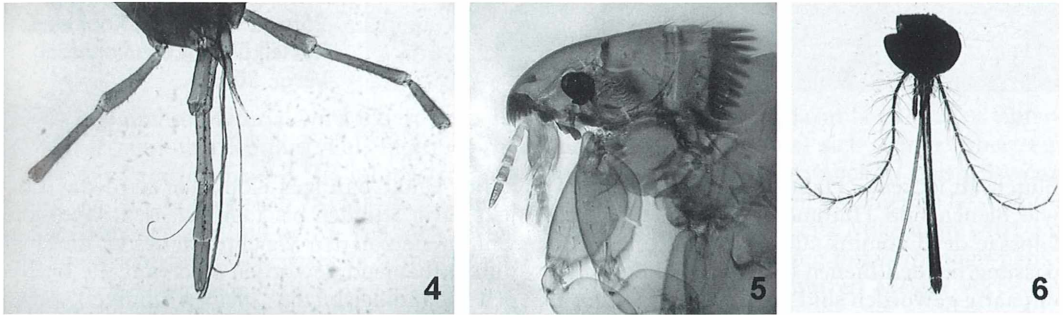
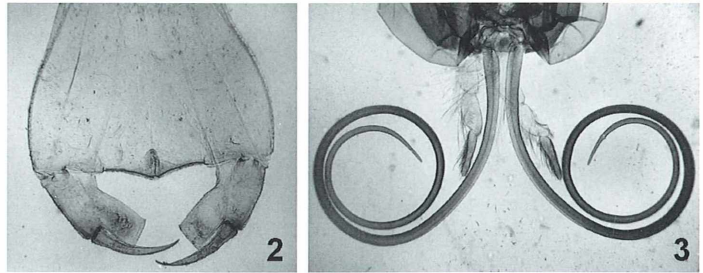
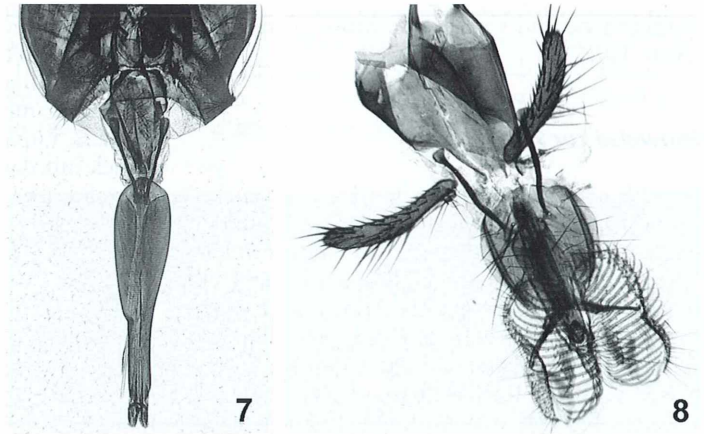


Abb. 4: Stech-Saugrüssel einer Feuerwanze (*Phyrrhocoris apterus*), Vergr. 50fach. – Abb. 5: Kopf eines Hundeflohs (*Ctenocephalus canis*) mit stechenden Mundwerkzeugen, Vergr. 100fach. – Abb. 6: Stech-Saugrüssel einer Stechmücke (*Culex pipiens*), Vergr. 25fach.

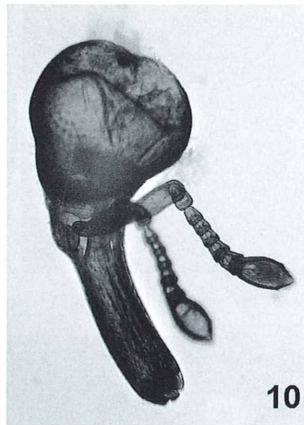
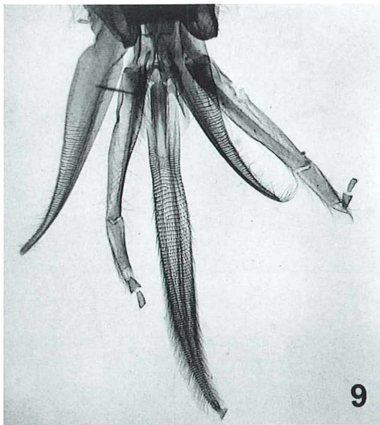
Abb. 7: Stech-Saugrüssel eines Wadenstechers (*Stomoxys calcitrans*), Vergr. 25fach. – Abb. 8: Saugrüssel einer Schmeißfliege (*Calliphora vicina*), Vergr. 25fach.



borgen werden. Bei den Stechmücken (Culicidae; Abb. 6) und Bremsen (Tabanidae) kommen noch ein langes Labrum und ein kanülenförmiger Hypopharynx hinzu. Die Blut saugenden Fliegen (Brachycera) wie Tsetse-Fliege und Wadenstecher (*Stomoxys calcitrans*; Abb. 7) haben das Labium zu einem steifen Stechwerkzeug umgewandelt, worauf Mandibel und Maxillen

verkümmert sind. Eine Rückbildung von Mandibeln und Maxillen ist auch bei Blüten besuchenden und anderen leckend-saugenden Fliegen wie den Nemestrinidae und Bombyliidae (Hummelfliegen) eingetreten. Kissenförmige und membranöse Labellen besitzen die Rüssel der Stubenfliege (*Musca domestica*) und der Schmeißfliegen (*Calliphora spec.*; Abb. 8).





**Abb. 9:** Leckend-saugende Mundgliedmaßen einer Honigbiene (*Apis mellifera*), Vergr. 25fach. – **Abb. 10:** Kopf eines Rüsselkäfers (*Curculionidae*), Vergr. 50fach.

Blütensaft leckende Hautflügler (Hymenoptera) wie Bienen und Hummeln weisen verlängerte Glossae des Labiums auf. Extrem ist diese Anpassung bei den Bienen (Apidea), bei denen sie unpaarig geworden sind und in einem Saugrohr stecken, das von den Galeae und den Labialpalpen gebildet wird (Abb. 9).

Bei den Rüsselkäfern (*Curculionidae*) ist der prognathe Kopf in ein Rostrum ausgezogen, an dessen Spitze sich die Mundgliedmaßen befinden. Beim Rüssel handelt es sich also nicht um ausgezogene und verlängerte Mundgliedmaßen (Abb. 10).

### **Hinweise zur Präparation**

Um Mundwerkzeuge von Insekten mikroskopisch zu studieren, wählt man als Untersuchungsobjekte vorzugsweise tot aufgefundene Tiere. Nur in Ausnahmefällen sollte man ein Insekt in einer Essigäther-Atmosphäre dazu töten. Den abgetrennten Kopf teilt man zumindest bei den größeren Arten quer zur Längsachse mit einer Rasierklinge, so dass man den unteren Teil mit den Mundgliedmaßen in ein Schälchen oder einen Hohlobjektträger in 10%ige Lösung von KOH (Kalilauge) einlegen

kann. Unter häufiger Kontrolle wird das Objekt darin Stunden bis Tage belassen. Wenn die Chitintteile von den Weichteilen befreit und hell durchscheinend geworden sind (nur die kräftigen Mandibelspitzen bleiben dunkel), aber noch bevor die feinen Verbindungshäute der Mundteile zerstört sind und sie in ihre Einzelteile zerfallen, überführt man die Objekte in Wasser und dann in 70%igen Isopropylalkohol. Danach in legt man sie in 100%igen Isopropylalkohol und von da in Xylol, das man einmal wechselt. Danach kann ein Dauerpräparat hergestellt werden. Dazu schließt man die Mundgliedmaßen in Kanadabalsam oder einem Kunstharz mit einem Brechungsindex um 1,55 ein (z.B. Euparal oder Caedax). Durch leichten Druck auf das Deckglas werden die Mundteile ausgebreitet.

### **Dank**

Die Mikroaufnahmen stellte Josef Häckl, Brucker Straße 16A, D-82275 Emmering, her.

Verfasser: Dipl.-Biol. Siegfried Hoc, Mikrobiologische Vereinigung München e.V., Donaustraße 1a, D-82140 Olching

# Moderne Schmiermittel für die Mikrotomie

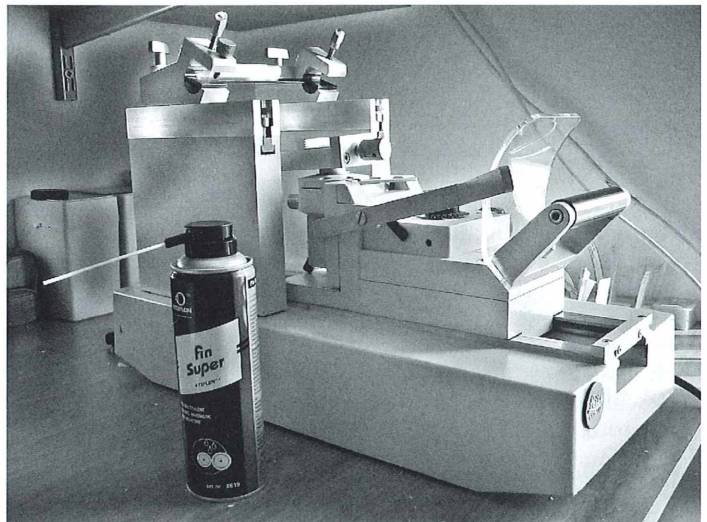
Gerhard Kauer

**Seit November 1979 verrichtet das enorm zuverlässige Grundschlittenmikrotom 1401 der Firma Ernst Leitz in meinem Labor seinen Dienst und ermöglichte während dieser Zeit ganz vorzügliche Schneidergebnisse.**

**B**iologisches Material wird fixiert, entwässert und über Rotihistol als Intermedium mit Paraffin (bei 58 °C) infiltriert. Rotihistol ist ein vollwertiger Xylol- beziehungsweise Benzolersatz und wird von der Firma Roth vertrieben. Im Gegensatz zu dem sehr giftigen, krebserregenden Benzol/Xylol ist das Rotihistol ein erfreulicherweise völlig unproblematisches Lösungsmittel, das aus Orangenschalen gewonnen wird. Seine Alkohol verdrängende Wirkung ist vorzüglich, wenngleich es etwas weniger Paraffin löst als Xylol. Dennoch spielt dieser geringfügige Nachteil hinsichtlich der gesundheitlichen Aspekte keine Rolle.

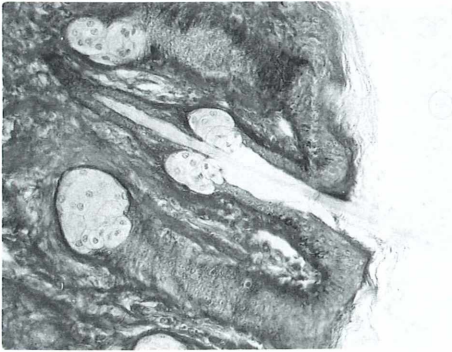
Abschließend werden die mit Paraffin durchtränkten Objekte zusammen mit flüssigem Paraffin in entsprechende Formen gebracht. Beim Erkalten erstarrt das Paraffin und man erhält

feste Blöcke mit dem darin befindlichen Untersuchungsmaterial, das sich somit über ein Mikrotom sehr komfortabel zu beispielsweise 10 µm dünnen Schnitten verarbeiten lässt. Zum Schneiden wird beim Leitz Mikrotom 1401 ein relativ schwerer Schlitten mit dem eingespannten Objekt an einem starren Messer vorbeibewegt. Je nach Einstellung des automatischen Vorschubes können 1 µm bis 40 µm dicke Schnitte erhalten werden. Mit dem Zusatzvorschub (Typ 1401) sind sogar Schnitte bis 0,25 µm möglich (Abb. 1), was beispielsweise mit einer Metacrylateinbettung und unter Einsatz von frisch gebrochenen Glasmessern möglich ist. Man kann allerdings auch mit der Paraffinmethode Semidünnschnitte herstellen (Abb. 2), wenn man eine spezielle Klebebandtechnik einsetzt (Kauer, 1984).



**Abb. 1:** Teflonbasiertes Schmiermittel mit besonders guten Gleiteigenschaften für den Einsatz am Mikrotom.





**Abb. 2: Semidünnschnitt eines Haares. *Rattus* Oberlippe sagittal längs. Zeiss Standard 19, Objektiv Planapo 25 $\times$ , N.A. 0,65, Optovar 0,8 $\times$ , S-KPL 10 $\times$ .**

### **Die leichtgängige Gleitschmierung**

Der Schlitten gleitet während des Schneidvorganges mit sechs kurzen horizontalen und zwei langen vertikalen Kontaktflächen über zwei präzisionsgefräste Schienen des Mikrotomgrundkörpers. Die möglicherweise auftretenden Tangentialkräfte werden über eine hochpräzise angefertigte vertikale Seitenführung aufgefangen.

Es ist völlig klar, dass solche Führungen eine entsprechende Schmierung verlangen, um zum einen ihre Präzision zu entfalten, zum anderen aber auch die entstehende Reibung zu kompensieren. Letzteres ermöglicht erst das gewünschte leichtgängige Gleiten des Schlittens. Bis noch vor kurzem wurde diese notwendige Schmierung mit dem handelsüblichen Mikrotomöl bewerkstelligt. Seit einiger Zeit wird es in meinem Labor durch ein modernes, synthetisches Schmiermittel ersetzt. Es handelt sich um das Fin Super der Firma Interflon. Dieses beinhaltet eine besondere Mischung mit Teflon als primäres Gleitmittel und Additive zum Schutz und Pflege von Blankmetallen. Das Schmiermittel enthält keine chlorierten Lösungsmittel und keine Silikone. Es wird als Spray vertrieben und entsprechend auf die Schlittenbahnen des Mikrotoms aufgebracht. Der Schlitten bewegt sich nach Auftragen des Schmiermittels überraschend leichtgängig über den gesamten Verfahrensweg. Während langer Schnittserien war ich es gewohnt, relativ häufig neues Schlittenbahnöl auf die Führungs-

schienen aufzutropfen, um die Bewegungen leichtgängig zu halten. Das führte natürlich im Laufe der Zeit zu entsprechenden Ölpfützen im Schienenschacht und an den Seitenteilen des Mikrotoms.

Umso erfreulicher ist die Tatsache, dass sich dieses Prozedere offensichtlich mit der Teflonschmierung völlig erübrigt. Ich habe die Schmierung nun seit vier Wochen nicht erneuert. Dennoch kann mit dem Mikrotom ohne weiteres sofort die Arbeit aufgenommen werden. Das Schmiermittel läuft auch während längerer Standzeiten nicht ab. Dies kommt insbesondere meinem Arbeitsrhythmus entgegen: Meiner schönsten Freizeitbeschäftigung, der Mikrotomie, kann ich nur am Wochenende (dafür aber viele Stunden) frönen. Unter der Woche wird somit der Mikrotomschlitten nicht bewegt. Dies führte bei der üblichen Naturölschmierung sehr rasch zu einem festgefressenen Schlitten, so dass ich gezwungen war, den Schlitten regelmäßig vom Grundkörper zu trennen, um solch ein Unglück zu vermeiden.

Damit zeigt sich ein weiterer Vorteil der Schmierung mit diesem neuen teflonbasierten Mittel. Die Gefahr, dass sich der Schlitten selbst während längerer Standzeiten festfrisst, dürfte nicht mehr gegeben sein. Mein Mikrotomschlitten befindet sich nun schon seit acht Wochen auf dem Grundkörper und gleitet bei der geringsten Berührung leicht an. In dieser Zeit habe ich die Schmierung nur ein einziges Mal (mit einem einzigen kurzen Sprühstoß auf die jeweilige Gleitbahn) erneuert. Die Metall pflegenden Komponenten scheinen noch ihr Übriges beizutragen (Oxidationsschutz).

### **Die zähe Haftschmierung**

Ein weiteres ganz vorzügliches Schmiermittel für Präzisionsspindeln, wie sie innerhalb des Mikrotoms, aber auch bei Mikroskoptischen, Feintrieben und ähnlichen zahnradbasierten Präzisionseinstellungen zu finden sind, wurde von der Firma Arecal entwickelt: Long Lub Nr. 0896 211 400. Es ist als Haftschmiermittel ausgelegt und sowohl lösemittelfrei als auch ungiftig.

Vor vielen Jahren war es üblich, natur-organische Schmierstoffe in der Feinwerktechnik einzusetzen. Diese verharzen leicht im Lauf der Jahrzehnte über deren Oxidationsreaktionen mit Luftsauerstoff. Wer Mikroskope und

Mikrotome aus den 50er, 60er und 70er Jahren besitzt, kennt das Problem. Die unangenehme Folge einer solchen Oxidation ist, dass diese Präzisionstriebe schwergängig werden, oder sogar durch kleinste Feststoffteilchen im Getriebe regelrecht holpern. Das erwähnte Schmiermittel wird ebenfalls über eine Sprayflasche in diese Bereiche eingebracht. Es ist zunächst enorm kriechfähig und verdrängt mit seinem Lösungsmittel die alte Schmierung weitestgehend. Bei besonders hartnäckigen Fällen ist es allerdings sehr ratsam, zunächst die alte Schmierung mit geeigneten Lösungsmitteln zu entfernen, um dann erst die Haftschrnierung aufzutragen. Man kann zunächst versuchen, ob sich die Schmierstoffreste mit Ethanol entfernen lassen. Meist genügt dieser relativ problemlos zu handhabende Alkohol zur Reinigung. Die meisten Naturfette lösen sich damit ausreichend. Erst wenn man feststellt, dass Ethanol die alte Schmierung nicht entfernen kann, sollte man zu anderen Lösungsmitteln greifen.

Das moderne Haftschrnierungsmittel ist sehr viel zäher als die oben geschilderte Teflonausführung und ermöglicht somit den bei Mikroskoptischen notwendigen Angleitwiderstand, um auch feinste Bewegungen bei höchster Vergrößerung zu ermöglichen. Auch Gleitische erhalten auf diese Weise ein besonders gutes mechanisches Verhalten, was für die Mikrokineematographie wichtig ist (Kauer, 2005). Mikrotomspindeln die für den hochpräzisen Vorschub beim Schneiden sorgen, stehen meist senkrecht. Daher müssen diese notwendigerweise mit einer besonders zähen Schmierung versehen werden, die nicht durch die Schwerkraft ablaufen kann, sondern besonders gut haftet. Auch hierfür ist das erwähnte Long Lub besonders empfehlenswert. Die Haftschrnierungsmittel sind in den unterschiedlichsten Viskositäten zu erhalten. Das Spektrum reicht hier von leichtgängig bis sehr zäh. Für die Präzisionsspindeln der Mikrotome und die Schmierungen der Mikroskopische hat sich die Ausführung Typ 0896 211 400 bestens bewährt. Allerdings ist beim Einsatz hinsichtlich der am Mikroskop befindlichen Optik enorme Vorsicht geboten. Die hoch haftenden Schmiermittel bekommt man praktisch nicht mehr oder nur unter allergrößtem Aufwand von Frontlinsen weg. Trägt man eine Haftschrnierung auf, sollte vorsichtshalber zuvor alle Optik vom Mikroskop entfernt werden.

## Bezugsquellen

### 1. Long Lub, Firma Arecal:

Reca Norm GmbH, Am Wasserturm 4,  
D-74635 Kupferzell;  
Kellner & Kunz AG, Boschstrasse 37,  
A-4601 Wels, Österreich;  
Reca AG, Heimstrasse 46,  
CH-8953 Dietikon 1, Schweiz.

### 2. Fin Super, Firma Interflon:

Interflon Deutschland GmbH, Tel.: 021 57/1221 22;  
Interflon Österreich, Tel.: 01/604 74 90;  
Interflon Schweiz, Tel.: 055/410 61 40,  
[www.interflon.com](http://www.interflon.com)

## Literaturhinweise

Kauer, G.: Herstellung sehr dünner Paraffinschnitte mit Hilfe einer Klebebandmethode. *Mikrokosmos* 73, 17–23 (1984).

Kauer, G.: Mikrokineematographie mit digitalen Filmkameras. *Mikrokosmos* 94 (im Druck).

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



## Mikroskope Stereomikroskope Mikrotome Kaltlichtbeleuchtung Refraktometer

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



STEREOMIKROSKOP E-REIHE



MIKROSKOP F-REIHE

Fordern Sie unseren Prospekt an

**euromex microscopen b.v.**

Papenkamp 20, 6836 BD Arnheim, Niederlande  
Tel.: +31.26.323.4473, Fax +31.26.323.2833

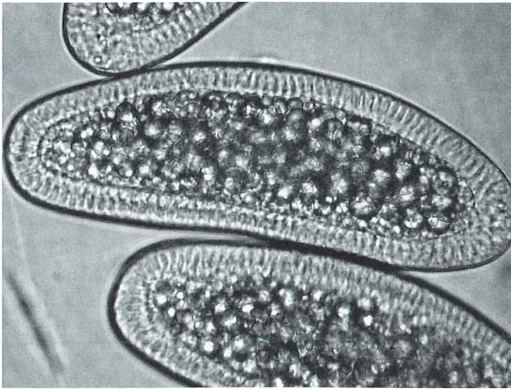
email: [euromex@tref.nl](mailto:euromex@tref.nl), web: <http://www.euromex.nl>



## Unbekannter Fund aus Gartenteich

Wolfgang Jacob

Die unbekannten Fundobjekte sind von oval gebeugter Form und weisen eine Länge von etwa  $225 \times 75 \mu\text{m}$  auf (Abb. 1). Sie waren formstarr und zeigten keinerlei aktive Bewegungen. Es gab keinen Hinweis auf eine Schleimhülle. In der Probe wurden zwei relativ dicht nebeneinander liegende, längs ausgerich-



**Abb. 1:** Die unbekannten Objekte sind im Hellfeld dargestellt. Vergr.: 300fach.

tete Gruppen von jeweils etwa 20 Exemplaren gefunden, so dass der Eindruck von Gelegen entstand.

Die Probe stammt aus einem relativ kleinen, nur etwa  $4 \text{ m}^2$  großen Gartenteich geringer Tiefe und wurde Anfang Juni 2005 genommen. Sie enthielt neben Exemplaren von *Cosmarium*, *Oedogonium*-Fäden und diversen Kieselalgen noch Kiefernpollen und Wurzelfasern. Da in der Probe gezielt nach Desmidiaceen gesucht wurde, fanden die abgebildeten Objekte zunächst nicht die notwendige Aufmerksamkeit. Erst nachträglich fiel die eigentümliche Hüllenstruktur auf. Eine Einordnung beispielsweise als Nematodengelege gelang nicht. In nachträglich genommenen Proben konnten diese Objekte nicht wieder gefunden werden.

In dem kleinen Gewässer leben dauerhaft einige Teichfrösche. Ein Bereich ist mit wild angesiedeltem Rohrkolben (*Typha angustifolia*) bewachsen.

Verfasser: Wolfgang Jacob, Rembrandtstraße 35, D-01983 Großräschchen

## Buchbesprechung

**Sommer, U.: Biologische Meereskunde, 2. Auflage.** Springer Verlag, Heidelberg 2005, 412 Seiten, 138 Abbildungen, € 39,95, ISBN 3-540-23057-2.

Diese zweite, überarbeitete Auflage des bewährten Lehrbuchs *Biologische Meereskunde* wurde ergänzend aktualisiert und dafür um das Kapitel *Meeresnutzung und -belastung* gekürzt. Ansonsten wurde das

Konzept der ersten Auflage übernommen. In neun Kapiteln werden nicht nur die Grundlagen der Meereskunde (z.B. physikalische und chemische Eigenschaften des Meeres, Stoffkreisläufe, Ökophysiologie), sondern insbesondere die Ökologie der verschiedenen Lebensgemeinschaften dargestellt. Die Verknüpfung von Meereskunde und Ökologie ist dem Autor ein besonderes Anliegen. Das Buch ist didaktisch sehr gut aufbereitet. In eingängiger Spra-

che, übersichtlich gegliedert und mit zahlreichen Schemazeichnungen illustriert wird ein leichter Einstieg in die ökologische Meereskunde gegeben. Die Kernaussagen werden zusätzlich durch Zusammenfassungen nach jedem Unterkapitel und durch Merkkästen untermauert. Wer tiefer in die Thematik einsteigen will, kann sich an den aktuellen Literaturverzeichnissen orientieren.

Renate Radek, Berlin

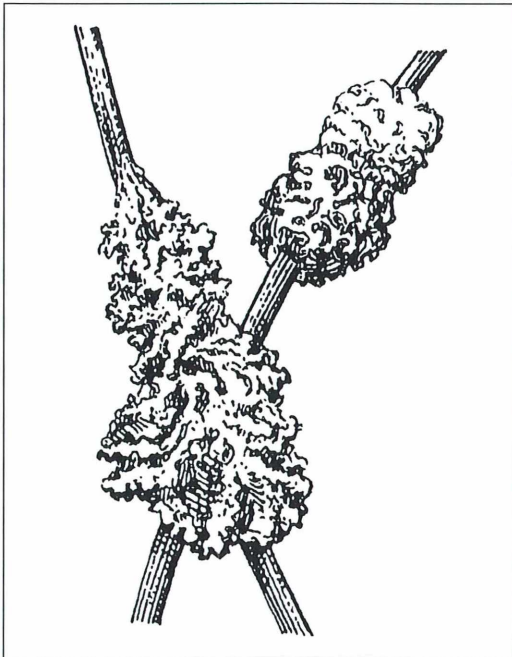
# Weißer Schaum – Krustiger Rotz: Calcitkristalle

Eberhard Schnepf

Erst kürzlich erschienen nach längerer Zeit im MIKROKOSMOS wieder einmal Arbeiten über Schleimpilze. Bei den vorangegangenen Artikeln ging es zum einen um generelle Aspekte der Lebenszyklen dieser Organismen (Schlichting, 2005) und zum anderen um die Präparationstechnik dieser fragilen Objekte für die Rasterelektronenmikroskopie (Kanow-Scheel et al., 2005). Der Schleimpilz *Mucilago crustacea*, Objekt dieses Berichtes, zeigt eine Besonderheit in der Art, dass er bei der Sporulation Aggregate kleiner sternförmiger Kristalle aus Calciumcarbonat in der Calcit-Form ausbildet, die das Sporangienlager umhüllen.

Im Spätherbst kann man gelegentlich an Grashalmen, seltener an anderen Pflanzen oder auf dem Erdboden merkwürdige strahlend weiße Gebilde finden. Sie umgeben die Grashalme oft walzenartig (Abb. 1), sind meist etwa 2–6 cm lang und 2–3 cm dick, oft aber auch sehr unregelmäßig geformt. Sie haben eine grob-schaumige Oberfläche (im Engli-

sch: *It resembles scrambled eggs in appearance*). Es handelt sich dabei um den Fruchtkörper (Aethalium) eines Schleimpilzes (Myxomycetes). Wenn dieser reif ist, bildet seine Oberfläche eine schaumig aussehende, zerbrechliche, weiße Kruste, die das eigentliche Aethalium bedeckt. Das besteht aus unregelmäßig röhrenförmigen, miteinander verflochtenen, dicht gepackten Sporangien. Deren Farbe ist tief schwarz-violett.



## *Mucilago crustacea* – Krustiger Rotz

In der älteren Literatur (z.B. de Bary, 1864; Lindau, 1912) wird dieser Schleimpilz, der zu den Physarales gehört, meist *Spumaria alba* genannt. Das bedeutet frei übersetzt Weißer Schaum. Das sagt auch der deutsche Name Schaumpilz. Der aktuelle wissenschaftliche Name ist nun *Mucilago crustacea*, was etwa Krustiger Rötz bedeutet. In der Exkursionsflora von Rothmaler (Schubert et al., 1984) wird er *Mucilago spongiosa* genannt.

*Mucilago crustacea* kommt in ganz Europa und in Nordamerika vor. Das Plasmodium lebt unterirdisch und kriecht zur Sporangienbildung als weiße, schleimige Masse auf Pflanzen nach oben, manchmal bis zu einem halben Meter über die Erdoberfläche. Die Sporen sind schwärzlich gefärbt, haben eine warzige Oberfläche und einen Durchmesser von 10–15 µm (Abb. 2 und 3). Zwischen ihnen liegen die unregelmäßig netzartig verzweigten Fasern des Capillitiums, die in der Mitte dunkel und an den verschmälerten Enden fast farblos sind (de Bary, 1864).

Abb. 1: *Mucilago crustacea*, zwei Fruchtkörper an Grashalmen (aus Schubert et al., 1984).



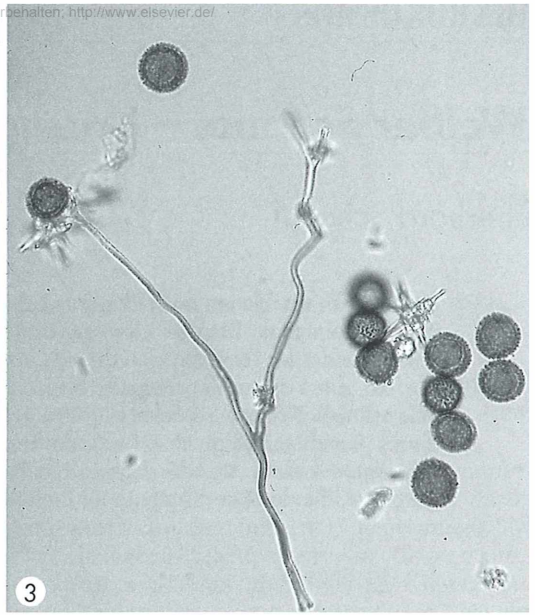
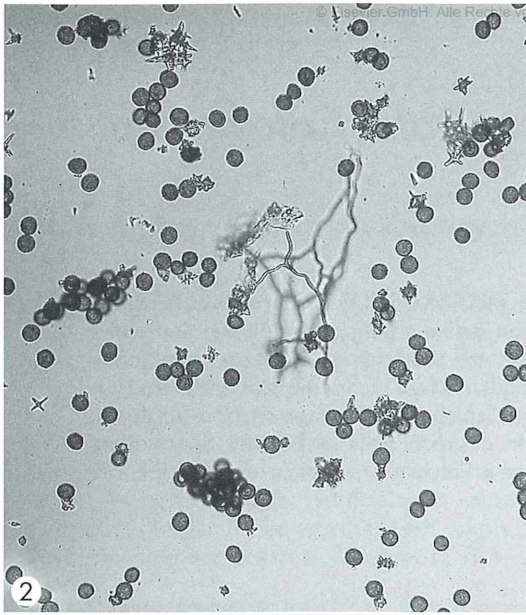


Abb. 2 und 3: *Mucilago crustacea*, Sporen und Capillitium-Fasern, dazwischen einzelne Calcit-Kristalle.  
Abb. 2 Vergr. 240fach, Abb. 3 Vergr. 480fach.

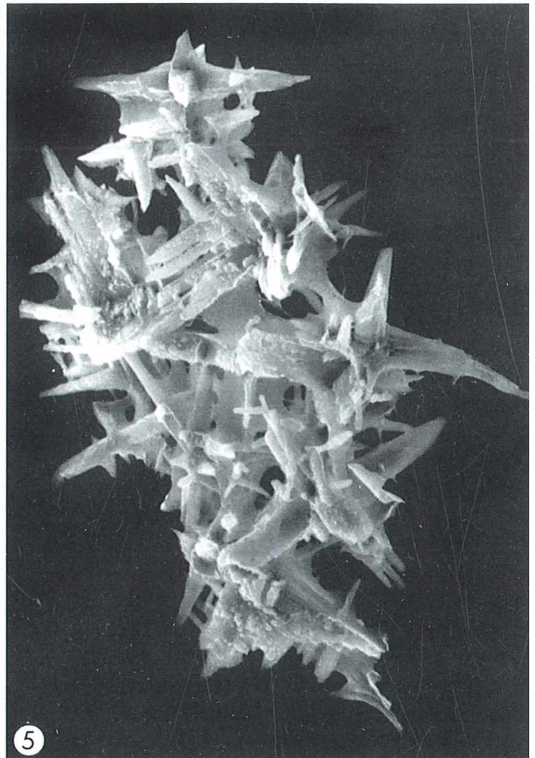
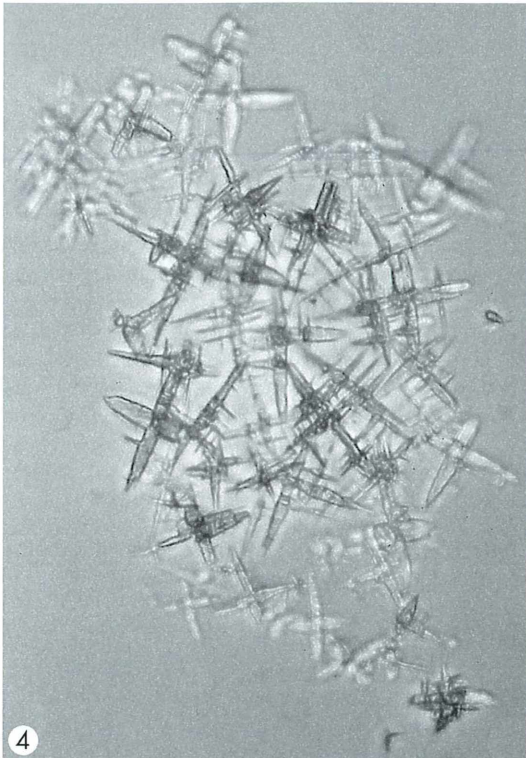


Abb. 4 und 5: *Mucilago crustacea*, Calcit-Kristalle lichtmikroskopisch (Abb. 4, Vergr. 530fach) und ras-  
terelektronenmikroskopisch (Abb. 5, Vergr. 1400fach).

## Die Kruste

Für den Mikroskopiker interessanter ist die Kruste. Sie besteht bei *Mucilago crustacea* aus Kristallen aus Calciumcarbonat (de Bary, 1864; Mangenot, 1934), die sich unter Gasentwicklung in verdünnter Essigsäure auflösen. Calcium findet man in der Fruchtkörper-Hülle (Peridie) vieler Schleimpilze (Senge und Schmiedeknecht, 1991) als kristallines Calciumoxalat (Schoknecht und Keller, 1977), als Calciumcarbonat mit Calciumphosphat in globulärer Form, als Calcium-Silikat-Gemisch, als globuläres oder kryptokristallines Calciumkarbonat und als kristallines Calciumcarbonat (Schoknecht und Keller, 1989). Die Unterschiede in der Verkalkung der Peridie sind von Bedeutung für die Taxonomie der Schleimpilze.

Bei *M. crustacea* sind die Kristalle sternförmig und etwa 10–40 µm groß (Abb. 4). Abbildung 5 zeigt sie in einer rasterelektronenmikroskopischen Aufnahme. Besonders im Polarisationsmikroskop sieht man, wie schön sie sind

(Abb. 6 und 7). Diese Sterne sind fest miteinander verbunden und bilden so die erwähnte brüchige Kruste. Mangenot (1934) beschreibt, dass sie an der Außenseite des Plasmodiums entstehen, wenn sich dieses bei der Sporangienbildung zurückzieht. Dabei spielen möglicherweise winzige amorphe Kalkkugeln, die aus dem Plasmodium stammen, eine Rolle als Kristallisationszentren. Auch neuere Beobachtungen an anderen Schleimpilzen haben das noch nicht endgültig geklärt. Sicher ist nur, dass Calcium zunächst in Vakuolen, Vesikeln und/oder Mitochondrien des Plasmodiums gespeichert wird (Schoknecht und Keller, 1989).

Calciumcarbonat kristallisiert in zwei verschiedenen Modifikationen, Calcit (Kalkspat) und Aragonit. Beide können biogen entstehen. Aus Aragonit bestehen zum Beispiel die Perlmuschschicht von Muschelschalen und damit auch die Muschelperlen, während die Prismenschicht (Ostracum) in diesen Schalen von Calcit gebildet wird (Storch und Welsch, 1991). Calcit ist die rhombische Modifikation des

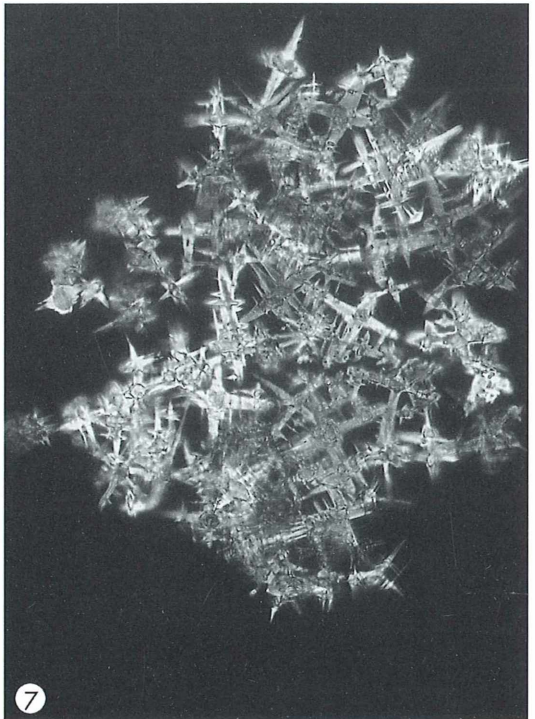
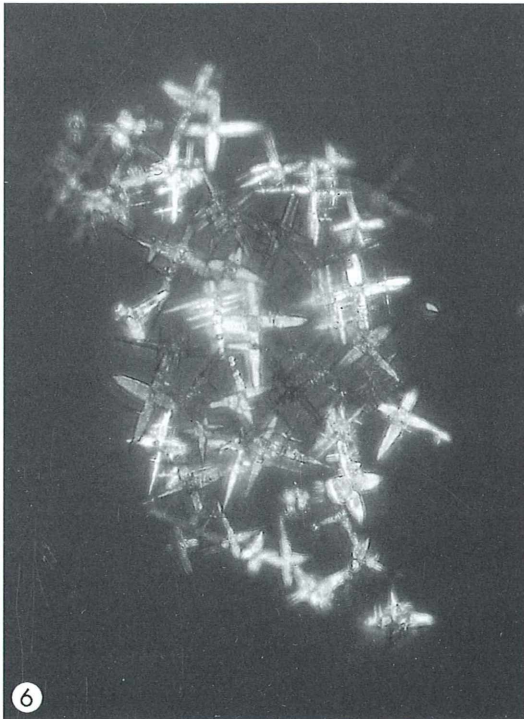


Abb. 6 und 7: *Mucilago crustacea*, Calcit-Kristalle polarisationsmikroskopisch. – Abb. 6 dieselbe Gruppe wie in Abbildung 4. Abb. 6 Vergr. 450fach, Abb. 7 Vergr. 450fach.



Calciumcarbonats während Calcit zum trigonalen System gehört (Schumann, 1972).

Meines Wissens war bislang nicht bekannt, zu welcher Modifikation die Kalkkristalle von *M. crustacea* gehören. Der Kalk in der Peridie des Schleimpilzes *Didymium* soll aus Gemischen von Aragonit und Calcit bestehen, die Kalkkugeln von *Diderma* aus Aragonit. Diese Angaben beruhen aber auf nicht ganz zuverlässigen Techniken, nämlich auf Färbungen. Wegen der Vielfalt von Kristalltypen, die besonders beim Calcit zu finden sind, erlaubt die Form der Kristalle keine klare Aussage. Nur eine Untersuchung mit Röntgendiffraktion kann das klären. Ich habe deshalb Prof. Dr. German Müller, Heidelberg, gebeten, eine solche Analyse durchzuführen. Er konnte nachweisen, dass es sich um Calcit handelt, um sehr saubere Kristalle, die nicht mit Magnesium oder mit anderen Elementen verunreinigt sind. Der Weiße Schleim, der Krustige Rotz, *Mucilago crustacea* bildet also Calcitkristalle, die lohnende Objekte für den Mikroskopiker sind.

### Danksagung

Ich danke Prof. Dr. G. Müller für die Röntgendiffraktions-Analyse und wertvolle Hinweise und Prof. Dr. V. Storch und Frau C. Kempendorf für die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen der Kristalle.

### Literaturhinweise

- De Bary, A.: Die Mycetozen (Schleimpilze), 2. Aufl. Engelmann, Leipzig 1864.
- Kanow-Scheel, Ch., Heidemann, J., Hülsmann, N.: Myxomyceten im Rasterelektronenmikroskop. Mikrokosmos 94, 165–169 (2005).
- Lindau, G.: Kryptogamenflora für Anfänger. 2. Band. Die mikroskopischen Pilze. Springer, Berlin 1912.
- Mangenot, G.: Recherches cytologiques sur les plasmodes de quelques Myxomycètes. Rev. Cytol. Cytophys. Végétales 1, 19–67 (1934).
- Schlichting, E.-A.: Lebewesen wie von einem anderen Stern – Myxomyceten. Mikrokosmos 94, 147–151 (2005).
- Schoknecht, J. D., Keller, H.: Peridial composition of white fructifications in the Trichiales (Perichaena and Dianema). Can. J. Bot. 55, 1807–1019 (1977).
- Schoknecht, J. D., Keller, H.: Peridial calcification in the Myxomycetes. In: Crick, R. E. (Ed.): Origin, evolution and modern aspects of biomineralization in plants and animals, p. 455–488. Plenum Press, New York 1989.
- Schubert, R., Handke, H. H., Pankow, H. (Hrsg.): Exkursionsflora für die Gebiete der DDR und der BRD, Bd. 1. Niedere Pflanzen – Grundband. Volk und Wissen, Berlin 1984.
- Schumann, W.: Steine + Mineralien. BLV, München 1972.
- Senge, W., Schmiedeknecht, M.: Echte Schleimpilze. In: Urania Pflanzenreich Bd. 1, S. 359–375. Urania Verlag, Leipzig 1991.
- Storch, V., Welsch, U.: Systematische Zoologie, 4. Aufl. Fischer, Stuttgart 1991.
- Verfasser: Prof. Dr. Eberhard Schnepf, Dürerweg 11, D-69168 Wiesloch

## Kurze Mitteilung

### Wie kam das Meerestier zur Kalkschale?

Ein Artikel des Reportagemagazins *National Geographic Deutschland* vom Mai 2005 gibt eine überraschende Erklärung für das Entstehen von Kalkschalen in der Stammesgeschichte von Meerestieren. Eine Kalziumschwemme in den Weltmeeren vor etwa 515 Millionen Jahren war offenbar Auslöser für die Ausbildung von Schalen bei Meerestieren, beispielsweise Muscheln. Der amerikanische Wissenschaftler Sean Brennan vermutet, dass plattentektonische Aktivitäten zu dem extremen Anstieg des

Kalziumgehaltes im Wasser führten. Die Meerestiere mussten das aufgenommene überschüssige Kalzium wieder ausscheiden, um sich nicht zu vergiften. Bei einigen Tieren lagerte sich dieser Stoffwechselabfall in Form von Kalkschalen auf der Körperaußenseite ab – mit dem Ergebnis, dass diese Tiere nun besser gegen Fressfeinde geschützt waren. Sie überlebten länger und produzierten mehr Nachkommen.

## Mikro - Kids

# Oberflächlich betrachtet

Lutz Hartmann

**Oberflächlich etwas betrachten? Na, das kann ja wohl kaum gut gehen, oder? Gerade in der Mikroskopie wollen wir doch in die Tiefe gehen, also hinter die Dinge blicken, die sich uns mit dem bloßen Auge zeigen. Gemeint ist wohl etwas anderes. Wir wollen nämlich von der Oberfläche in die Tiefe gehen. Natürlich mit unserem Mikroskop!**

**W**arum begeistert uns eigentlich immer wieder die uns umgebende Natur mit ihren Tieren und Pflanzen? Nun, da gibt es unterschiedliche Betrachtungsweisen. Aber in einem sind wir uns sicher einig. Es sind wohl in erster Linie die vielen Farben, die es uns im Frühjahr angetan haben. Aber blühen die Blumen wirklich nur für uns, damit wir uns nach dem langen und eher grauen Winter daran erfreuen können? Nein, muss man wohl sagen, in der Natur geschieht nichts nur so zum Spaß, es hat alles einen Sinn. Bei den Pflanzen ist die Farbenvielfalt riesengroß. Allein das Grün der Blätter ist nie ganz gleich. Es gibt viele Schattierungen von tiefem dunklem Grün der Tannennadeln bis zum eher hellen Grün der frischen Blatttriebe im Frühjahr. Schauen wir uns dann die Blüten der Blumen an, die sind mal weiß, gelb, rot, blau oder violett. Ein Feuerwerk der Farben! Wo aber kommen all diese Farben bloß her?

## Die Farben der Pflanzen

Beim Grün der Pflanzen fällt einem sofort der Begriff Blattgrün ein. Als es um das Thema Photosynthese ging, hat man in der Schule schon einiges darüber erfahren. Dahinter stecken kleine Zellorganellen, die so genannten Chloroplasten. In diesen wird das Chlorophyll gebildet. Damit produziert die Pflanze mit Hilfe von Sonnenlicht, Kohlenstoffdioxid aus der Luft, Wasser und Mineralstoffen aus dem Erdboden neue pflanzliche Stoffe, sie wächst hierdurch und erhält sich am Leben. Dabei gibt sie dann Wasser und Sauerstoff an die Atmo-

sphäre ab. Die Pflanzen geben mehr Sauerstoff an die Luft ab, als sie selbst verbrauchen. Und das ist gut so, denn ohne die Pflanzen wäre der Sauerstoff, den wir zum Leben benötigen, ganz schnell verbraucht. Ohne die Pflanzen könnten wir nicht leben! Wie diese Chloroplasten aussehen, sahen wir als wir in einem früheren Artikel einen Querschnitt durch eine Eibennadel machten. Aber es gibt ja, wie schon erwähnt, nicht nur Grün als Pflanzenfarbe. Das sehen wir ohnehin oft als selbstverständliche Farbe an. Den besonderen Reiz üben auf uns Menschen wohl mehr die Farben der Blüten aus. Übrigens, nicht nur auf uns Menschen, wie wir später noch sehen werden.

Ja und nun sind wir an der Stelle angelangt, wo wir das Mikroskop benötigen, um herauszufinden, wo sich wohl die vielen Farben in den Pflanzen verstecken.

## Die Blütenblätter eines Stiefmütterchens

Um das nun herauszufinden, habe ich mir eine Stiefmütterchenblüte vorgenommen. Stiefmütterchen gibt es das ganze Jahr über. Ihre Blütenfarben können allerdings recht unterschiedlich sein. Für unsere jetzigen Untersuchungen habe ich mir ein blau-gelb gefärbtes ausgesucht. Nehmen wir uns nun ein Blütenblatt eines Stiefmütterchens. Es birgt, wie auch die Blüten anderer Blütenpflanzen, ein Geheimnis, was man wohl kaum beim ersten Blick vermuten würde. Dazu schauen wir uns das Blütenblatt mit einer Lupe oder besser noch mit einem Stereomikroskop genauer an. Kurz noch etwas vorweg zum Stereomikroskop. Das ist eigent-



lich nichts anderes als eine stark vergrößernde Lupe. Der Vorteil ist aber, dass man mit beiden Augen hineinschauen kann, sodass wir hierdurch ein räumliches Bild erhalten.

Was sieht man jetzt? Die Oberseite des Blütenblatts ist keineswegs glatt, wie wir das vielleicht zuvor vermutet haben. Drehen wir es jetzt mal ein wenig, sodass man die Oberfläche schräg von der Seite sieht. Jetzt erkennt man deutlich, dass die Oberfläche des Blütenblatts aus vielen kegelförmigen Erhebungen (Botaniker nennen diese auch Papillen) besteht. Diese reihen sich dicht aneinander. Die Oberfläche von Blättern und auch von Blütenblättern nennt man übrigens Epidermis. Diese soll die darunter liegenden pflanzlichen Teile schützen. Wovor aber?

Fassen wir mal ein Blütenblatt an. Hierbei stellt man schnell fest, dass es im Vergleich mit dem Laub der Bäume oder anderer Pflanzen sehr zart und dünn ist. Was würde beim ersten Regen passieren? Mit der Schönheit wäre es sehr schnell vorbei. Das Blatt würde ganz schnell traurig herabhängen. Es wäre einfach nicht stabil genug. Diese kegelförmigen Auswüchse der Epidermis haben eine einfache Aufgabe, sie machen das Blütenblatt stabiler und lassen auch kein Wasser in die Pflanze eindringen. Das kann man ganz einfach nachprüfen, indem man einen Tropfen Wasser über ein Blütenblatt laufen lässt. Die Wassertropfen perlen leicht ab, und die Blüte ist offensichtlich hierdurch sehr gut geschützt. Drehen wir das Blütenblatt nun mal um und schauen uns dessen Unterseite, nämlich die untere Epidermis an. Hier gibt es nicht diese größeren Kegel wie auf der Oberseite. Sie ist aber dennoch nicht vollkommen glatt, denn das würde die Stabilität gefährden. Aber vor Regen, der bekanntlich von oben prasselt, muss sich die Pflanze nicht in Sicherheit bringen.

Man braucht sich bei diesen Untersuchungen auch nicht nur mit dem Blütenblatt eines Stiefmütterchens zufrieden zu geben. Mit den Oberflächen anderer Blütenblätter ist es nämlich recht ähnlich. Unterschiede gibt es natürlich, denn jede Pflanze ist für sich etwas Einmaliges. Und darüber kann man sehr viel durch das Mikroskop erfahren.

Wer kein Stereomikroskop hat, kann sich das Blütenblatt natürlich auch mit einem Durchlichtmikroskop in einer geringen Vergrößerung ansehen, zunächst mit dem 5-er, dann vielleicht auch mit dem 10-er Objektiv. Das geht auch, nur wie schon zuvor festgestellt, kann allein

das Stereomikroskop alles räumlich genau zeigen. Dabei kann man zunächst auch auf das Auflegen eines Deckglases verzichten, um einen besseren Schrägaufblick zu erreichen, denn wir wollen ja die Oberflächenstruktur eines Blütenblatts ergründen.

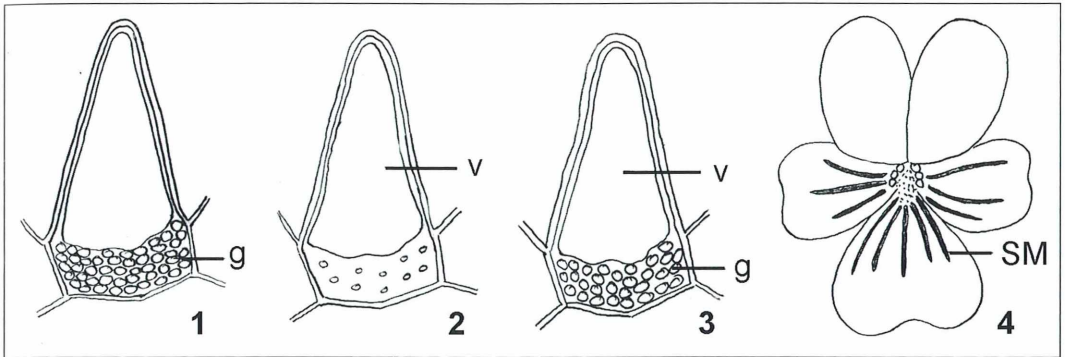
### ***Untersuchung mit dem Durchlichtmikroskop***

Da wir jetzt schon beim Durchlichtmikroskop angelangt sind, wollen wir uns damit auch das Blütenblatt etwas genauer anschauen. Dazu schneiden wir uns jetzt ein so großes Stückchen von einem Blütenblatt eines Stiefmütterchens ab, dass es etwas kleiner als ein Deckglas ist. Wer es jetzt ganz geschickt anfängt, sollte diesen Schnitt so ausführen, dass sowohl ein gelber wie auch ein blauer Teil dabei sind. Dieses kleine Quadrat legen wir nun auf einen Objektträger. Dann noch einen Tropfen Wasser drauf, dann das Deckgläschen und schon kann es mit der Untersuchung losgehen.

Sowohl beim gelben wie auch dem violetten Teil erkennt man viele nebeneinander liegende Zellen. Dies sind nämlich die Zellen der Epidermis von oben gesehen. Sie sind einerseits mal gelb, andererseits blau. Das haben wir aber schon vorher gewusst. Werfen wir aber mal einen Blick auf die Ränder unseres Pflanzenschnitts. Jetzt sehen wir, dass die Ränder des blauen Teils gar nicht mehr blau sind. Vorher waren sie es aber doch? Woher kommt das? Nun wir haben das Blütenblatt zerschnitten, dabei muss der blaue Farbstoff wohl ausgelaufen sein, die Ränder des gelben Teils sind nach wie vor gelb. Dort ist alles wie zuvor. Es muss also ein wesentlicher Unterschied zwischen der gelben und der blauen Farbe bestehen. Aber welcher?

### ***Querschnitt durch das Blütenblatt***

Um das herauszufinden, müssen wir das Blütenblatt noch genauer untersuchen. Dazu fertigen wir ein neues Präparat, denn jetzt wollen wir das Blütenblatt ja nicht mehr von oben betrachten. Wir wollen also einen seitlichen Blick in das Blütenblatt werfen. Hierzu muss ein Querschnitt gefertigt werden. Wie immer jetzt meine Warnung: Wer noch nicht so geschickt mit einer Rasierklinge umgehen kann oder vielleicht auch nicht möchte, sollte einfach einen



**Abb. 1–3:** Kegel der oberen Epidermis eines Stiefmütterchen-Blütenblatts. **g** Gelbe Chromoplasten, **v** violetter Farbstoff. – **Abb. 4:** **SM** Saftmale einer Stiefmütterchenblüte (Zeichnungen: Hannelore Hartmann, Berlin).

Erwachsenen um Hilfe bitten. Wir schneiden nun ein Teil von dem Blütenblatt ab, nach Möglichkeit so groß wie schon bei der vorigen Aufsichtbetrachtung. Wichtig ist, wieder etwas von einem nebeneinander liegenden gelben und violetten Teil zu erwischen.

Dann wird es etwas schwieriger. Es geht nämlich darum, einen sehr dünnen Querschnitt mit der Rasierklinge anzufertigen. Wenn man einen dünnen Querschnitt fertigen möchte, sollte man den Teil des Blütenblatts in eine Schneidehilfe einklemmen, hierzu kann man eine Mohrrübe oder Holundermark verwenden. Nehmen wir mal eine Mohrrübe zu Hilfe. Von dieser schneidet man einen größeren Würfel ab. In diesen schneidet man dann einen Schlitz, in den man nun unser zu untersuchendes Blütenteil einklemmt. Jetzt versucht man, ganz feine Scheibchen von dem Teil der Mohrrübe – natürlich zusammen mit dem eingeklemmten Blütenblättchen – abzuschneiden. Oft wird übrigens als Schneidehilfe auch zu Styropor geraten, was aber Rasierklingen recht schnell stumpf machen kann. Vielleicht ist es allerdings auch besser, sich das alles zunächst mal von Jemandem zeigen zu lassen, der das schon häufiger gemacht hat. Hinterher kann man immer noch selber üben. Das geht übrigens noch viel besser, wenn man den Schnitt unter Betrachtung mit einem Stereomikroskop durchführt. Wer zu diesem Verfahren mit der Schneidehilfe noch nicht die rechte Geduld hat, kann es zunächst auch einfacher, ohne Schneidehilfe versuchen, indem man probiert, von dem abgeschnittenen Blütenteil unter dem Stereomikroskop wirklich dünne Scheibchen mit der Ra-

sierklinge abzuschneiden. Klar, dass dann aber die Schnitte nicht gar zu dünn gelingen werden. Manches wird man aber dennoch vielleicht erkennen können.

Geschafft? Prima! Mit einem angefeuchteten, sauberen Haarpinsel (wie für den Tuschkasten) nimmt man nun den Querschnitt vom Blütenblatt auf und bringt ihn auf einen Objektträger. Dann gibt man einen kleinen Tropfen Wasser dazu und legt darauf dann langsam das Deckgläschen, damit sich darunter keine Luftbläschen mehr befinden. Vorher muss man sich davon überzeugen, dass wir wirklich den Querschnitt betrachten und sich das Präparat nicht verdreht hat, sodass man wieder nur die Oberfläche betrachtet. Das ist wirklich knifflig und ich habe schon sehr erfahrene Mikroskopiker dabei fluchen hören. Irgendwann ist es aber doch geschafft. Wenn man sich jetzt diesen Querschnitt zunächst mit dem 5-er Objektiv genauer anschaut, sieht man besonders gut diese kleinen Kegel der Blütenblattoberfläche. Und noch mehr erkennt man. Die gelbe Farbe des Blütenblatts kommt nämlich von kleinen gelben runden Teilchen (Abb. 1), die sich in den Epidermiszellen befinden. Es handelt sich, wie die Botaniker sagen, um Chromoplasten. Schauen wir uns aber nun den violetten Teil an. Dort ist fast die ganze Epidermiszelle mit einem blauen Farbstoff (Abb. 2) gefüllt. Jetzt wird sofort klar, warum dieser violette Farbstoff auslaufen konnte. Alle Pflanzenzellen sind außerdem miteinander verbunden, sodass auch der blaue Farbstoff der benachbarten Zellen auslaufen konnte. Der gelbe Farbstoff hingegen befindet sich eingeschlossen in den Chromo-



plasten und konnte deshalb natürlich nicht auslaufen.

Weil wir schon bei den komplizierten Begriffen sind: Bei dem gelben Farbstoff handelt es sich um Carotinoide (genau wie bei den Karotten, daher kommt der Name!), bei dem blauen um Anthocyane. Mit Ausnahme der weißen Farben in den Blütenblättern kommen alle übrigen Farben durch diese beiden Grundfarben oder durch ihre Mischungen zustande. Der gelbe Farbstoff verschluckt alles außer der gelben Farbe (Abb. 1), der blaue reflektiert nur noch das Blau (Abb. 2). Sind nun in einem Blütenblatt beide Farben vorhanden (Abb. 3), so bleiben keine Farben mehr übrig, die noch reflektiert werden könnten, das Blütenblatt erscheint schwarz, wie das häufig bei den Saftmalen der Blütenblätter (Abb. 4) der Fall ist. Das sind übrigens die Wegweiser für die Insekten, damit sie den Weg zum Blütennektar besser finden. Die kann man fast mit der Landeabnahmebeleuchtung eines Flughafens vergleichen.

### **Wozu dienen die Farben der Blütenblätter?**

Zum Anfang hatten wir uns die Frage gestellt, wozu eigentlich die vielen Farben in der Natur

da sind. Nun, da gibt es natürlich unterschiedliche Gründe. Bei den Blütenpflanzen liegt einer davon eindeutig darin, Insekten für die Bestäubung anzulocken. Insekten können nämlich nicht alle Farben gleich gut sehen. Gelb-, Rot- und Blautöne gehören aber eindeutig zu ihren Lieblingsfarben. Übrigens sind diese Farbstoffe auch in Früchten vorhanden. Ein grüner Apfel färbt sich beim Reifen langsam gelb oder rot. Aus den grünen Chloroplasten (mit dem Chlorophyll) werden dann Chromoplasten. Die reifen Früchte werden dann gern von Tieren gefressen. Die Kerne der Früchte (Samen) werden später wieder ausgeschieden. Eine neue Pflanze wächst heran. Hierdurch hat sich die Pflanze wieder etwas weiter in ihrer Umgebung verbreitet.

### **Wo kann man noch mehr über das Mikroskopieren und die Farben der Blütenblätter erfahren?**

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

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

## **Nachricht**

### **Bericht über das „Dritte internationale Mikroskopiker-Pfingsttreffen der Mikroskopischen Gesellschaft Wien“ vom 13. bis 16. Mai 2005**

Die ersten der insgesamt 27 Teilnehmer trafen bereits am Nachmittag des 13. Mai im Hotel-Cafe Waitz in Unter-Waltersdorf/Niederösterreich ein. Der Saal und seine Adaptierung fanden bei allen Teilnehmern große Anerkennung (Abb. 1). Die Firma Zeiss stellte 28 Mikroskope des Typs AXIO STAR plus und für den Vortragenden ein AXIO Imager.Z1 mit Videokamera zur Verfügung. Die Mikroskopische Gesellschaft Wien dankt Herrn Ing. Richard Kernbeis und Herrn Peter Weber von der Firma Zeiss für ihre Bemühungen und ihre Unterstützung auf das Herzlichste.

Auch möchte ich es nicht versäumen, den Firmen Zeiss und Olympus sowie dem Wiener Volksbildungswerk Freizeit & Kultur für die finanzielle Unterstützung zu danken. Ohne diese Unterstützungen könnte diese Veranstaltung nicht durchgeführt werden.

Nach der Begrüßung am Samstagmorgen um halb 9 Uhr durch den Präsidenten Prof. Erich Steiner und einer kurzen Einweisung durch Herrn Peter Pavlicek den Ablauf der Veranstaltung betreffend, wurden Fahrgemeinschaften gebildet. Ziel war das Naturschutzgebiet Welsche Halten, welches nördlich von

Ebreichsdorf liegt (Abb. 2). Die botanische Führung wurde von Herrn Dr. Norbert Sauberer durchgeführt, besten Dank dafür. Herr Dr. Sauberer hat im Gebiet des Wiener Beckens, gemeinsam mit weiteren namhaften Botanikern und Biologen, wertvolle Arbeit geleistet und viele wissenschaftliche Abhandlungen und Berichte darüber verfasst. Leider blühten wegen der bis jetzt sehr kühlen Witterung nur wenige Orchideen und andere Blumen, aber es konnten doch etliche Pflanzen gefunden werden, die (leider) bereits auf der Roten Liste stehen.

Nach dem Mittagessen wurde mit der Herstellung der botanischen Präparate begonnen, und die Teilnehmer schafften es, am Samstagnachmittag die ersten sechs Präparate herzustellen (Abb. 3). Insgesamt wurden von den Teilnehmern 16 Präparate im Laufe des Workshops angefertigt, wobei einige Pflanzenschnitte so gut gefielen, dass gleich mehrere Präparate von einem Objekt angefertigt wurden. Der Fleiß und das Interesse, mit dem dies bewerkstelligt wurde, verdient Beachtung. Die Ergebnisse waren dementsprechend hervorragend. Selbstverständlich blieben die Präparate im Besitz der Teilnehmer. Mit dem 117 Seiten umfassenden Skript können die Teilnehmer in Zukunft die Präparate in Ruhe auch alleine analysieren. Jeder Pflanzenschnitt hat ein Bild und eine eigene Beschreibung im Skript bekommen. Am Abend hielt Herr Peter Pavlicek einen Beamer unterstützten Vortrag zum Thema *Das Leitsystem der höheren Pflanzen*, und es wurde die Überzeugung gewonnen, dass alle Teilnehmer viel Neues und Interessantes mit nach Hause nehmen können. Dieser Vortrag diente als Einstimmung und zum besseren Verständnis der angefertigten 16 Dauerpräparate, welche mit dem Dreifach-Färbemittel ACN nach Schmitz gefärbt wurden. Die Abende wurden, wie schon gewohnt, bei gutem Essen und Trinken und nach intensiver Fachsimpelei sehr spät beendet. Am Sonntagnachmittag wurden die Präparate mit Projektionsunterstützung mittels Videokamera und Beamer besprochen und erläutert.

Am Montagvormittag zeigte Herr Gerhard Bräuer Videoaufnahmen von mikroskopisch kleinen Tieren und Pflanzen seiner Waldviertler Heimatgewässer. Auch Herr Peter Recher zeigte wunderschöne Videoaufnahmen, welche er am Mikroskop gemacht hatte, in einer Qualität, die jedem Anwesenden Bewunderung abgerungen hat. Zuletzt wurden die Teilnehmer von Herrn Joachim Stanek mit einer Serie hervorragender 3D-Bilder, in welchen er seine umfangreichen und vielfältigen Tätigkeiten demonstrierte, überrascht. Die Teilnehmer dankten allen Vortragenden mit reichlichem Applaus. Nach einem wohlschmeckenden Mittagstisch nahm man mit dem Gefühl, dass die Zeit viel zu rasch vergangen ist und der Versicherung nächstes Jahr wieder zu kommen, von einander Abschied. Der Abbau war, nach einem solchen Erfolg, eine leichte Übung.

Peter Pavlicek, Wien



Abb. 1: Der Saal im Cafe Waitz in Unter-Waltersdorf mit zufriedenen Teilnehmer und guter Mikroskopierausstattung.



Abb. 2: Exkursion ins Naturschutzgebiet Welsche Halten.

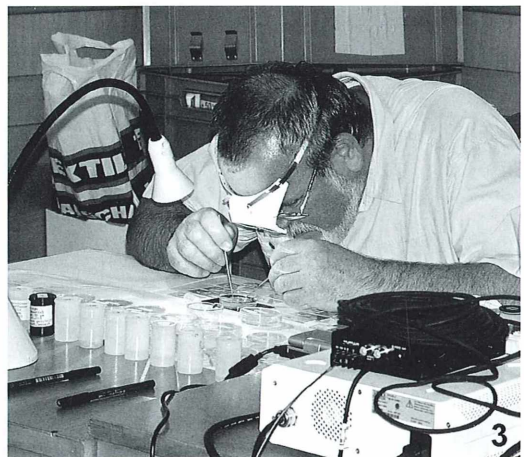


Abb. 3: Herr Peter Pavlicek bei der Bearbeitung der Mikrotomschnitte.



# Ist Geiz wirklich geil – Lohnt sich ein Mikroskop vom Discounter?

Hans-Jürgen Voß und Erich Saake

**Der bundesdeutsche Verbraucher ist zu einem begnadeten Schnäppchenjäger geworden: Allwöchentlich locken die Angebote der bekannten Lebensmitteldiscounter, und entsprechende Handelsketten und Märkte werben für Computer, Digitalkameras und Produkte aus der Unterhaltungselektronik. In diesem Zusammenhang ist die Tatsache interessant, dass der Lebensmitteldiscounter Lidl sowohl im Frühjahr als auch ab dem 2. Dezember des Jahres 2004 ein kleines Mikroskop nebst Zubehör im wöchentlichen Angebotssortiment hatte.**

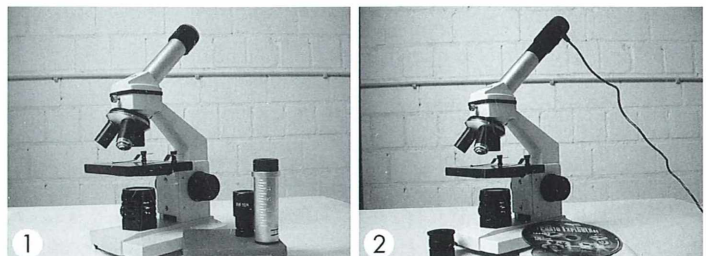
**D**ieses Mikroskop wurde unter der Bezeichnung Biolux beziehungsweise Biolux NG im Dezember 2004 zu einem Preis von nur 59,99 € angeboten. Das Mikroskop ist mit einem Objektivrevolver und drei abschraubbaren, nicht genormten Objektiven mit den Abbildungsmaßstäben 4:1, 10:1 und 40:1 ausgestattet. Der drehbare, monokulare Schrägeinblick enthält einen Ausziehtubus mit Barlow-Linse, der mit zwei mitgelieferten Okularen von 10facher und 16facher Vergrößerung bestückt werden kann. So lässt sich die Gesamtvergrößerung kontinuierlich bis zum Faktor 1,6 steigern, der Vergrößerungsbereich erstreckt sich damit von 40fach bis 1024fach. Der Tubus hat den genormten Steckdurchmesser von 23 mm, so dass auch Okulare von Fremdherstellern genutzt werden können. In der Öffnung des Objektisches, der über zwei feste Präparateklammern verfügt, ist eine Sammellinse fest angebracht, die als Kondensor dient. Unterhalb der Sammellinse befindet sich noch eine Blendendrehscheibe, die bei dem De-

zembermodell nicht mehr angebracht war. Während das ältere Modell noch mit einer Niedervolt-Glühlampe betrieben wird, dient bei dem Dezembermodell eine Leuchtdiode mit weißem Licht zur Beleuchtung. Die Diode ist samt Vorwiderstand in einem Lampengehäuse mit abschraubarer Sammellinse untergebracht, wahlweise kann diese gegen eine mattierte Linse ausgetauscht werden. Die Lampe wird über einen mitgelieferten Transformator mit Netzanschluss betrieben (Abb. 1).

## PC-Okular

Zum Lieferumfang gehören ferner eine Staubschutzhülle, eine Präparateschachtel mit fünf Dauerpräparaten sowie ein so genanntes elektronisches PC-Okular mit USB-Anschluss (Abb. 2). Es handelt sich dabei um einen CCD-Farbbildsensor mit einer Auflösung von 320 × 240 Pixel, der in einem Okular mit einer Brennweite von 13,4 mm untergebracht ist und in

**Abb. 1: Kleinmikroskop Biolux mit einem Teil des Zubehörsortiments. Im Vordergrund ist der Ausziehtubus mit den mitgelieferten Okularen erkennbar. – Abb. 2: Kleinmikroskop Biolux mit angesetztem PC-Okular.**



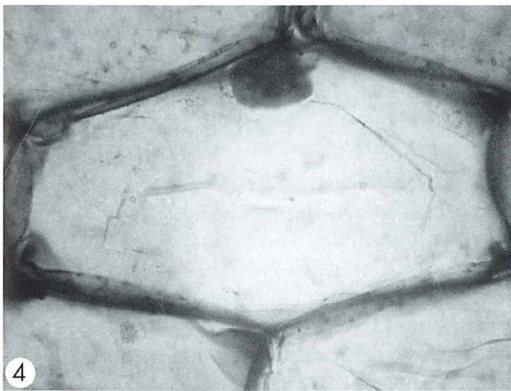
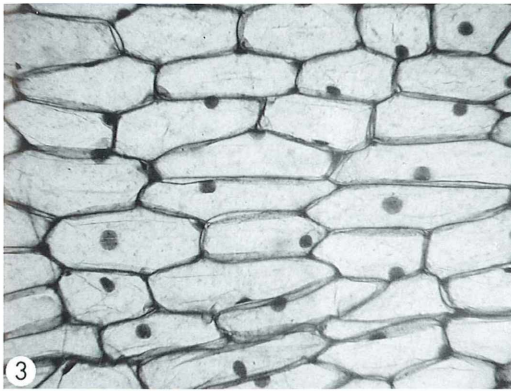


Abb. 3 und 4: Zwiebschuppenepidermis (mitgeliefertes Dauerpräparat), aufgenommen mit Objektiv 10:1 (Abb. 3) und Objektiv 40:1 (Abb. 4).

den Tubus eingesteckt werden kann. Da auch hier Normmaß vorliegt, ist das PC-Okular auch an anderen Mikroskopen verwendbar. Darüber hinaus ist dem PC-Okular eine Distanzhülse beigelegt, so dass es auch für größere Okular-Steckdurchmesser wie zum Beispiel an Binokularen genutzt werden kann. Mit der mitgelieferten Software (Ulead Photoexplorer SE Version 7.0) können dann auf Laptop oder PC mikroskopische Bilder und – je nach Festplattenkapazität – auch Filmsequenzen darstellt und einem größeren Interessentenkreis zugänglich gemacht werden. Ein Anleitungsheft stellt das Gerät vor und gibt Hinweise zur Installation und Benutzung der Software, ferner weist es die Firma Bresser-Optik beziehungsweise Meade Instruments Europe ([www.Bresser.de](http://www.Bresser.de)) als Hersteller aus, die überdies noch fünf Jahre Garantie auf das Gerät geben.

### Beleuchtungssystem

Bei der Begutachtung des Gerätes waren wir angenehm überrascht. Der Grobtrieb lässt sich feinfühlig verstellen, die Präparate gut einlegen und die optische Leistung entspricht fast der eines Kursmikroskops (Abb. 3–7). Bei der Betrachtung von Diatomeen hatte man den Eindruck, dass die Objektive leistungsfähiger waren, als es die vorhandene Ausrüstung möglich machte. Bei näherer Untersuchung stellte sich

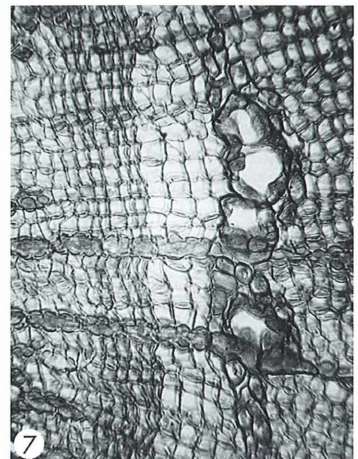
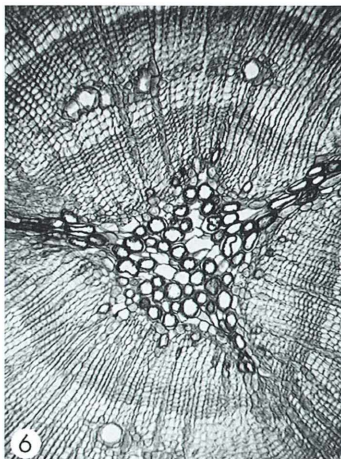
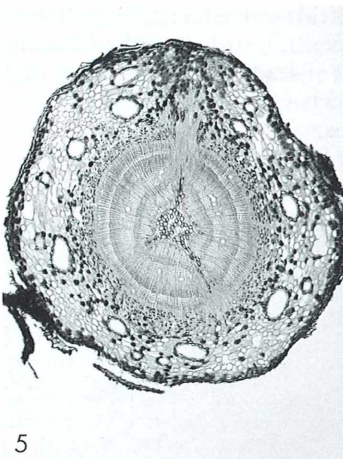
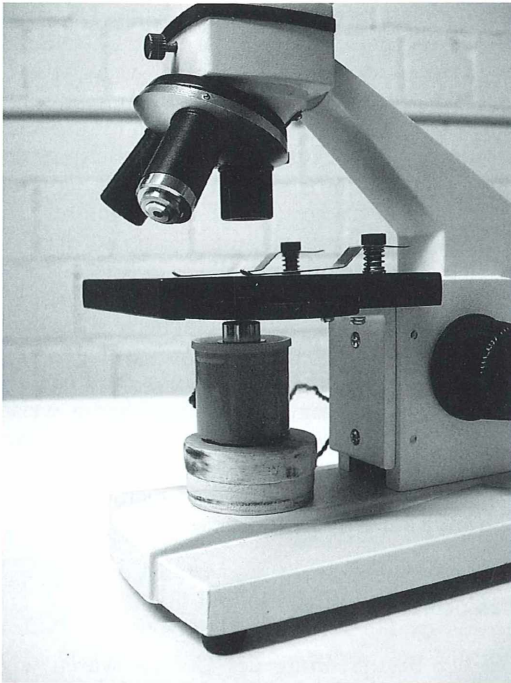


Abb. 5–7: Querschnittenes Holz der Kiefer (mitgeliefertes Dauerpräparat), aufgenommen mit den Objektiven 4:1, 10:1 und 40:1.



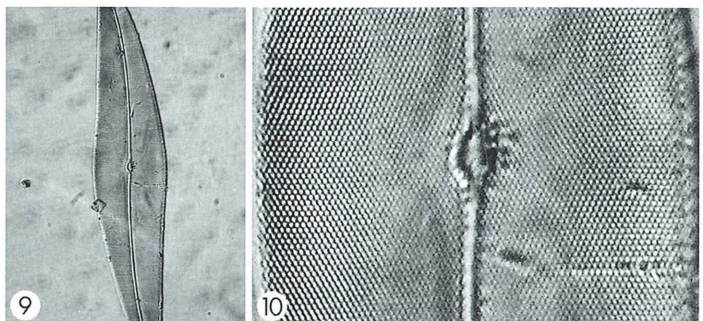


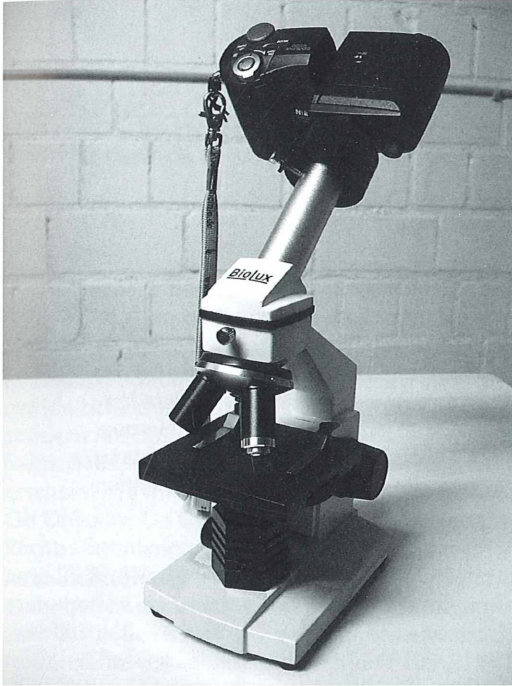
**Abb. 8: Kleinmikroskop mit verschiebbarer LED-Beleuchtung eigener Fertigung.**

heraus, dass die in den Objekttisch eingefasste Kondensorlinse das schwächste Glied in dem gesamten System ist. Bei herausgenommenem Okular wird deutlich, dass sich die Kondensorleistung auf eine mehr oder weniger zentrale Ausleuchtung der Objektivapertur beschränkt, das heißt die volle Leistung der Objektive kann gar nicht genutzt werden. Abhilfe kann man schaffen, indem man die Lampe näher an die Kondensorlinse bringt. Das ist insofern einfach

zu bewerkstelligen, als die Lampe mit Hilfe eines Schraubgewindes auf dem Mikroskopfuß befestigt und von unten mit einer Mutter gegen Herausfallen gesichert ist. Setzt man die Lampe auf runde Holzscheiben geeigneter Höhe und mit zentraler Bohrung, so lässt sich der Lampenkörper um etwa 25 mm näher an die Kondensorlinse bringen (Abb. 8). Die Höhenverlagerung der Lampe bringt eine homogenere Ausleuchtung des Gesichtsfeldes, aber noch keine wirkliche Verbesserung der optischen Leistung. Erst wenn die Lampe mit Hilfe von Unterlegscheibe und Haftmagnet gegenüber der optischen Achse verschiebbar angeordnet werden kann, ist durch die daraus resultierende schiefe Beleuchtung eine Leistungssteigerung möglich. Jetzt können nämlich die hoch auflösenden Randstrahlen mit ihrem großen Neigungswinkel für die Beleuchtung des Objektes nutzbar gemacht werden. So konnten beispielsweise die Schalenstrukturen der Diatomee *Pleurosigma angulatum* aufgelöst werden, was allerdings – dieser Anordnung entsprechend – nur einseitig möglich ist (Abb. 9 und 10). Eine exakte Wiedergabe kann nur dann gelingen, wenn das Objekt mit einem Kondensor beleuchtet wird, der die gleiche Apertur wie das Objektiv besitzt, denn erst dann wird das Objekt mit Strahlen aus allen Einfallsrichtungen beleuchtet. Selbstverständlich lässt sich das Gerät auch mit Diodenleuchten anderer Hersteller (z. B. Firma BW-Optik, Langner-Voss) oder mit Diodenleuchten eigener Fertigung betreiben (Voß, 2001). Sofern sich diese ausreichend hoch und verschiebbar anordnen lassen, sind neben Hellfeld und schiefer Beleuchtung bei dem Objektiv 40:1 auch spezielle Beleuchtungseffekte wie Pseudo-Phasenkontrast und Dunkelfeld bei den Objektiven 4:1 und 10:1 einstellbar.

**Abb. 9: Testdiatomee *Pleurosigma angulatum* (in Luft), aufgenommen mit Objektiv 40:1 bei schiefer Beleuchtung. – Abb. 10: Digitale Ausschnittvergrößerung von Abbildung 9. Die Schalenstruktur wird aufgelöst.**





**Abb. 11: Kleinmikroskop Biolux mit angesetzter Digitalkamera. Um Verwackelungen zu vermeiden, empfiehlt sich der Gebrauch eines Fernauslösekabels.**

### **Einsatzmöglichkeiten**

Die Einsatzmöglichkeit des Mikroskops kann vielfältig sein. Wegen seiner Robustheit und einfachen Handhabung ist es für Grundschulen und die unteren Klassen in der Sekundarstufe I zu empfehlen. Es reicht aus, um Wassertropfenmikroskopie zu betreiben oder den Aufbau von pflanzlichen und tierischen Zellen und Geweben zu erklären. An diesem Gerät kann auch ein unerfahrener Schüler kaum etwas falsch machen. Eine weitere Empfehlung ist die Verwendung des Mikroskops auf Reisen und auf Exkursionen. Größe und Gewicht erlauben ein problemloses Mitführen zum Beispiel in der Fototasche; ausgerüstet mit einer batteriebetriebenen LED-Beleuchtung ist man unabhängig von den vorhandenen Stromanschlüssen in der Unterkunft. Auch auf die Mikrofotografie braucht man Dank der Robustheit des Gerätes und der Tatsache, dass der Grobtrieb auf den Objektstisch wirkt, nicht zu

verzichten – die Bilder zeigen es (Abb. 11). Eine Digitalkamera (Nikon Coolpix 4300 bzw. 4500 mit Okularadapter) trägt der Schrägtubus genau so problemlos wie ein angeklebtes Spiegelreflexkamera-Gehäuse (Olympus OM-2). Das Stativ zeigt keinerlei Schwächen und weist eine überraschend hohe Standfestigkeit auf.

### **Verbesserungsvorschläge**

Gibt es etwas zu verbessern? Der Hersteller könnte zur besseren Ausnutzung der optischen Leistungsfähigkeit der Objektive eine Kondensorlinse geeigneter Brennweite unterhalb des Tisches anbringen. Ein Fotogewinde im Mikroskopfuß wäre auch nicht schlecht, damit das Gerät bei Exkursionen im Freiland auf einem Fotostativ stabil befestigt werden kann. Vielleicht sollte der Hersteller auch einen Geradtubus anbieten, damit eine Kamera noch verwackelungssicherer befestigt werden kann.

### **Fazit**

Ausstattung und gesamter Lieferumfang des Mikroskop-Angebotes stehen in einem ausgezeichneten Preis-Leistungsverhältnis. Die Leistungsfähigkeit dieses Mikroskops übersteigt bei weitem die Leistung derjenigen (Spielzeug-)Mikroskope, die in Warenhäusern zu einem zum Teil höheren Preis vertrieben werden, und kann durch einfache Abänderung der vorhandenen Beleuchtungseinrichtung noch gesteigert werden. Das PC-Okular ist besonders geeignet, Mikroskopie auch für Kinder und Jugendliche attraktiver zu machen. Sollten Sie das Angebot irgendwann einmal sehen, zögern Sie nicht: Gönnen Sie es sich selbst oder – noch besser – kaufen Sie es für Ihr(e) Kind(er) oder Enkel – es lohnt sich hierbei wirklich!

### **Literaturhinweis**

Voß, H.-J.: Mobile Mikroskopie – Der Einsatz von weißen Leuchtdioden an Exkursions- und Reise-mikroskopen. *Mikrokosmos* 90, 243–247 (2001).

*Verfasser:* Dr. Hans-Jürgen Voß, Am Dornbusch 42, D-46244 Bottrop, e-mail: tichy-voss@t-online.de und Erich Saake, Marthastraße 21, D-44791 Bochum



# Ringförmige Beleuchtung: Ein einfaches Verfahren zur Steigerung von Auflösung und Kontrast

Pascal Ballester und Gunther Chmela

**Beschrieben wird ein Verfahren zur Steigerung von Auflösung, Kontrast und Schärfentiefe, das mit einfachsten Mitteln im Selbstbau an fast jedem Mikroskop ohne finanziellen Aufwand realisiert werden kann. Es ist durchaus geeignet, in vielen Fällen teure Verfahren zur optischen Kontrastierung zu ersetzen. Die Methode wurde bereits im 19. Jahrhundert im Prinzip erkannt, doch fand ihre Anwendung keine weitere Verbreitung. Für viele Mikroskopiker könnte das Verfahren jedoch eine reizvolle Herausforderung darstellen. Voraussetzungen am Mikroskop sind Köhler'sche Beleuchtung und die Möglichkeit, unterhalb der Aperturblende des Kondensors Zentralblenden anzubringen.**

**D**ie Ringförmige Beleuchtung (RFB) ist eine Variante der schiefen Beleuchtung, bei der jedoch die Beugungsmaxima der Lichtstrahlen rotationssymmetrisch erfasst werden. Um die RFB zu verwirklichen, werden kreisrunde Zentralblenden benötigt, die in geeigneter Weise nahe der Kondensorunterseite angebracht werden und die zentrierbar sein müssen.

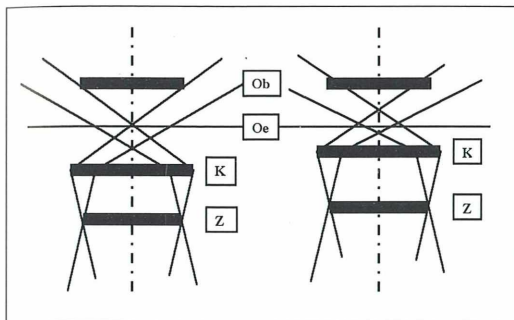
Man fertigt sich einen Satz solcher Blenden aus schwarzem Karton oder schwarzer, undurchsichtiger Folie mit einem Durchmesser von 5 mm bis 24 mm, in Schritten von jeweils 1 mm. Klebt man diese, wie häufig bei Dunkel-feldblenden empfohlen, auf farblose runde Filtergläser, kann man sie im Filterhalter nicht genau nachzentrieren. Besser ist folgende Lösung: Man klebt die Scheiben auf normale Objektträger, die man dann zwischen Filterhalter und Kondensor einschieben kann. Jetzt lassen sie sich beim Blick ins Mikroskop zentrieren, wenn man den Objektträger vorsichtig verschiebt. Außerdem hat diese Methode den Vorteil, dass die Zentralblende noch ein paar Millimeter näher an die Aperturblende herankommt. Mit zunehmendem Abstand vom Kondensor nach unten müsste nämlich die Blende immer größer werden – diese Größenzunahme wird aber vom Durchmesser der Leuchtfeldblende begrenzt.

Sollte dieses Einschieben nicht möglich sein oder der Kondensor keinen Filterhalter besitzen, muss man sich bastlerisch anders helfen – irgendetwas ist immer möglich.

Besitzer von Phasenkontrast-Kondensoren können unter Umständen die eine oder andere Phasenblende mit Erfolg verwenden (Göke, 1991; van Duijn, 1990) und/oder in die Leerstellen des Blendenrevolvers Zentralblenden einbauen. Der Nachteil dieser Methode ist, dass man dann immer nur eine beschränkte Anzahl von Blenden zur Verfügung hat, und dass man die Aperturblende nicht benutzen kann, wie das manchmal wünschenswert wäre. Zur Information: Beim Zeiss-Ph-Kondensor haben die Ringblenden folgende innere Aperturen: Ph1 = 0,11; Ph2 = 0,22 und Ph3 = 0,44. Sie können als Zentralblenden verwendet werden für Objektive, deren Aperturen circa 20–30% höher liegen.

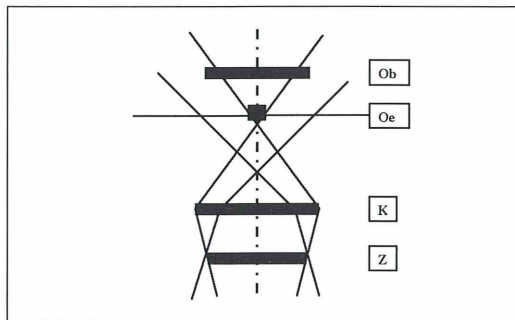
## Praktisches Vorgehen

Zunächst stellt man das Präparat im Hellfeld bei Köhler-Beleuchtung optimal ein. Dann wird die Aperturblende ganz geöffnet. Nun schiebt man einen der genannten Objektträger mit Zentralblende in den Spalt zwischen Filterhalter und Kondensor. Der Durchmesser der Zentralblende soll so gewählt werden, dass im eingestellten Hellfeld in der Mitte des Gesichtsfeldes ein unscharfer dunkler Fleck sichtbar wird, der etwa die Hälfte des Gesichtsfeldes einnimmt. Wenn kein Fleck zu sehen ist, ist die Blende zu klein, wenn das gesamte Feld dunkel wird, ist sie meist zu groß. Diesen Fleck zentriert man nun. Das geht einfacher, wenn man

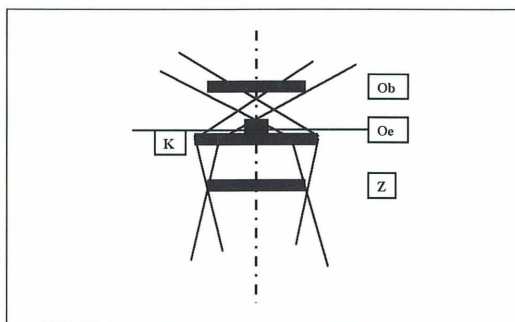


**Abb. 1:** Links: Strahlengang (vereinfacht) bei Dunkelfeldbeleuchtung. Das vom Kondensor kommende Licht (dünne Linien) trifft nicht ins Objektiv, sondern nur das am Objekt abgebeugte und reflektierte Licht (nicht eingezeichnet). Das Objekt erscheint hell auf dunklem Grund. K Kondensor, Ob Objektiv, Oe Objektelebene, Z Zentralblende. Rechts: Strahlengang bei Ringförmiger Beleuchtung (RFB). Nur Strahlen mit relativ starker Neigung treffen ins Objektiv. Achsennahe Strahlen sind ausgeblendet. Das Objekt erscheint kontrastreich auf hellem Grund.

Die Skizzen lassen auch erkennen, weshalb für die RFB der Kondensor relativ hoch eingestellt werden muss, und weshalb manchmal RFB und Dunkelfeld mit ein und derselben Zentralblende erzielt werden können.



**Abb. 2:** Der Kondensor steht für die RFB zu tief oder die Zentralblende ist zu groß (oder beides). In der Mitte des Gesichtsfeldes erscheint ein dunkler Fleck (dicker Balken). Dies ist die Einstellung, in der man die Blende ohne Einstellfernrohr zentrieren kann. K Kondensor, Ob Objektiv, Oe Objektelebene, Z Zentralblende.



**Abb. 3:** Der Kondensor steht für die RFB zu hoch. In der Mitte des Gesichtsfeldes erscheint ebenfalls ein dunkler Fleck (dicker Balken). Diese Einstellung ist nur mit Kondensoren relativ niedriger Apertur möglich. K Kondensor, Ob Objektiv, Oe Objektelebene, Z Zentralblende.

durch leichtes Absenken des Kondensors den Fleck fast so groß wie das Gesichtsfeld macht. Jetzt hebt man den Kondensor so weit an, bis der Fleck völlig verschwindet. Dann schließt man die Leuchtfeldblende etwas, stellt sie erneut scharf – so gut das eben geht – und öffnet sie wieder so weit wie nötig. Man wird bei dieser Gelegenheit feststellen, dass das Bild der Leuchtfeldblende angehoben wurde (d.h. man muss den Kondensor höher stellen; siehe Abb. 1, 2 und 3). Man wird auch feststellen, dass man sie eventuell etwas weiter als köhlermäßig öffnen muss, um ein gleichmäßig ausgeleuchtetes Feld zu erhalten.

Die Zentralblende lässt sich noch besser zentrieren, wenn man die Objektiv-Apertur mit einem Einstellfernrohr oder mit der Bertrandlinse betrachtet (z.B. bei Zeiss-Mikroskopen mit Optovar in Stellung Ph). Es soll dann nur ein möglichst schmaler Lichtring zu sehen sein, dessen äußere Begrenzung der Rand der Objektivöffnung ist. Nun schließt man die Aperturblende

lediglich bis zu diesem Rand; sie soll nicht sichtbar sein.

Häufig wird man feststellen, dass man die Zentralblende noch größer wählen kann als die gerade verwendete, wenn man wiederum den Kondensor etwas anhebt. Auf jeden Fall sollte man die maximal mögliche Blende finden, die unter den gegebenen Umständen ein noch einigermaßen gleichmäßig ausgeleuchtetes Feld ergibt – genügende Öffnung der Feldblende vorausgesetzt. Die Numerische Apertur (NA) des verwendeten Kondensors sollte so groß wie oder größer als die Objektivapertur sein. Je-



doch haben Kondensoren mit  $NA > 0,9$ , wenn man sie trocken verwendet, meist sehr geringe Schnittweiten und können nicht hoch genug eingestellt werden, um die Zentralblende mit dem optimalen Durchmesser zu verwenden. Der Kondensor steht dann auch am oberen Anschlag noch zu tief (Abb. 2). Die Verwendung solcher Kondensoren macht daher meistens nur Sinn, wenn man ihre Frontlinse immergiert.

Bei schwächeren bis mittelstarken Objektiven ist es wichtig, dass die Aperturblende wirklich bis zum Rand der Objektivöffnung geschlossen wird, denn sonst ergibt sich nicht die RFB, sondern ein Grenzdunkelfeld, was allerdings manchmal auch recht reizvoll sein kann.

Bezüglich der Eignung bestimmter Zentralblenden-Durchmesser für bestimmte Objektive können keine Zahlenwerte angegeben werden, denn diese Durchmesser hängen ab von Apertur und Maßstabszahl des Objektivs, von Apertur und Brennweite des Kondensors, von bestimmten Baumerkmale des Mikroskops, vor allem des Abstandes des Filterhalters zur unteren Kondensorlinse, aber auch von der Beschaffenheit des Präparates, wie Dicke des Objektträgers, des Einschlussmittels und des Deckglases. Wegen dieser vielen Parameter müssen die Blendendurchmesser für jede Mikroskop-Ausrüstung durch Ausprobieren ermittelt werden.

Anmerkung: Auch an Kursmikroskopen mit einfacher Ansteckleuchte ohne Köhler-Beleuchtung lässt sich die RFB realisieren, wenn auch mit weniger befriedigendem Ergebnis. In

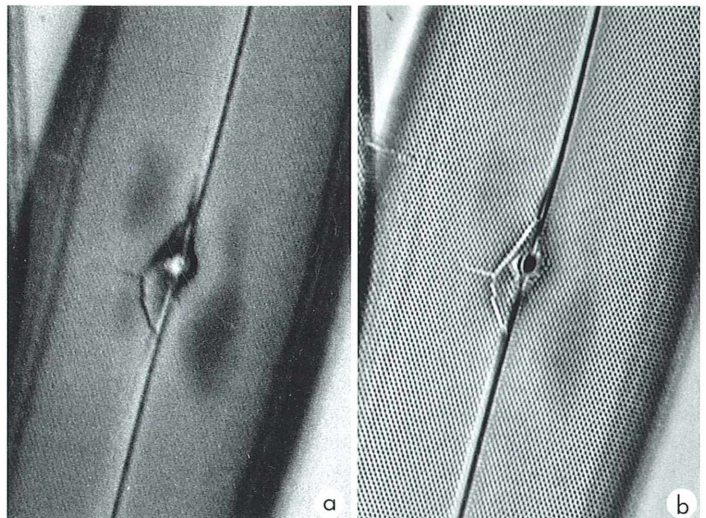
diesem Fall wählt man die Zentralblende so groß, dass im Gesichtsfeld gerade eben kein dunkler Fleck mehr zu sehen ist, wenn der Kondensor am oberen Anschlag steht. Hier empfiehlt sich zur Zentrierung auf jeden Fall ein Einstellfernrohr, da der dunkle Fleck durch das Okular nur sehr unscharf und überstrahlt erscheint.

### Zu erzielende Effekte

Durch diesen Eingriff in den Strahlengang des Mikroskops wird die praktisch erzielte Auflösung des Mikroskops um etwa 20% gesteigert, das heißt ein Objektiv mit der Apertur 0,65 benimmt sich jetzt so, als hätte es eine Apertur von etwa 0,8. Zusätzlich wird der Kontrast deutlich erhöht. An sich typische Phasenobjekte werden kontrastreich dargestellt. An Diatomeenschalen werden Strukturen sichtbar, die man mit dem verwendeten Objektiv normalerweise nicht sehen würde, zum Beispiel löst ein Achromat 40:1/0,65 die Feinstruktur von *Pleurosigma angulatum* vollständig auf. Die beiden Abbildungen 4a und 4b zeigen diesen Effekt.

Nach Van Duijn (1990) und McCrickerd (1971) wird durch dieses Verfahren auch die Schärfentiefe – und damit die Einstelltoleranz im Objektraum – beträchtlich erweitert, ohne dass man wie beim gewöhnlichen Abblenden einen Verlust an Auflösung in Kauf nehmen muss. Auch dieser Effekt lässt sich an Diatomeenschalen beobachten.

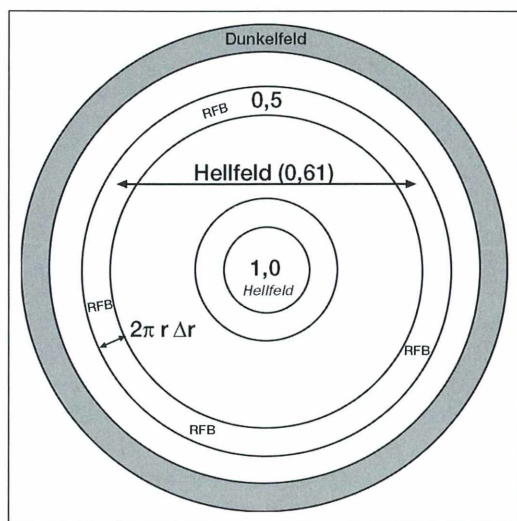
**Abb. 4:** Die Diatomee *Pleurosigma angulatum* im Hellfeld und mit RFB. Das verwendete 40:1 Objektiv hat eine Apertur von 0,65 und ist bestenfalls in der Lage, im Hellfeld Strukturen mit der Gitterkonstanten  $d = 0,52$  aufzulösen. Die Gitterkonstante der Diatomee ist kleiner (4a). Mit RFB wird die Struktur von demselben Objektiv aufgelöst (4b).



## Historisches

Das Verfahren der RFB wurde bereits im 19. Jahrhundert entwickelt. 1896 wurden von G. J. Stoney und 1915 von H. Siedentopf theoretische Erklärungen dazu gegeben. Im Rahmen der Mikroskopie-Tage in Hagen im November 1990 hat C. van Duijn jr. (Niederlande, verstorben 1996) einen Vortrag darüber gehalten (Van Duijn, 1990). P. James (England) beschäftigte sich ausführlich mit dieser Materie. Er nennt das Verfahren Circular Oblique Lighting (COL).

Bei der ehemaligen Firma E. Leitz, Wetzlar, gab es vor 1930 Überlegungen, das Verfahren im Mikroskopbau technisch zu verwirklichen. Man entschied sich dann aber alternativ für das Phasenkontrastverfahren (persönliche Mitteilung von P. James), vor allem wohl, weil man von Letzterem größere Bedienungsfreundlichkeit erwartete.



**Abb. 5: Steigerung der Auflösung mit ringförmiger Beleuchtung:** Die Auflösung an der optischen Achse ist  $1,0 \times \lambda/\text{NA}$ . Am Rand der Apertur beträgt sie  $0,5 \times \lambda/\text{NA}$  und das Lichtbündel bedeckt eine größere Fläche ( $\Delta S = 2\pi r \Delta r$ ). Aus diesem Grund erreicht der Mittelwert der Auflösung über das gesamte Hellfeld den Wert von  $0,61 \times \lambda/\text{NA}$ . Durch Abdeckung der Kondensorapertur des zentralen Bereichs wird der Mittelwert der Auflösung auf  $0,5 \times \lambda/\text{NA}$  verändert. Für hohe Kondensoraperturen ermöglichen die Lichtstrahlen aus dem Dunkelfeldbereich eine etwas bessere Auflösung als  $0,5 \times \lambda/\text{NA}$ .

Im Allgemeinen jedoch geriet das Verfahren in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts weitgehend in Vergessenheit. Von denen, die flüchtig damit in Berührung kamen, wurde es mit deutlich abwertenden Bezeichnungen wie zum Beispiel Pseudophasenkontrast belegt. Vor allem, da es nichts kostete, schien es keiner weiteren Beachtung wert zu sein.

## Ein wenig Theorie

Die Ringförmige Beleuchtung (RFB) funktioniert nach dem Prinzip der schiefen Beleuchtung, bei der Beugungsmaxima höherer Ordnung in die Objektivapertur gelangen (<http://micro.magnet.fsu.edu/primer/techniques/oblique/obliqueintro.html>). Im Gegensatz zur üblichen schiefen Beleuchtung werden jedoch die Beugungsmaxima rotationssymmetrisch erfasst, so dass RFB-Bilder frei von Azimut-Artefakten sind. Bei ringförmiger Beleuchtung werden die Lichtstrahlen mit kleinem Neigungswinkel maskiert. Da diese Lichtstrahlen weniger zur Auflösung beitragen, führt die RFB zu einer Steigerung des Mittelwerts der Auflösung (Abb. 5). Die Anwendung ringförmiger Beleuchtung mit Hilfe eines geeigneten Kondensors hat McKechnie im Jahr 1972 untersucht. Darüber hinaus gibt es weitere Untersuchungen auf dem Gebiet der Optik, die sich mit den Eigenschaften ringförmiger Pupillen befassen (Göke, 1991; McCrickerd, 1971; Sheppard und Choudhury, 2004; Tschunko, 1978). Neuere Arbeiten zeigen außerdem Möglichkeiten auf, die Rayleigh-Grenze der Auflösung zu unterschreiten (Vollrath, 1999). Die Analyse von McKechnie (1972) zeigte, dass die Auflösung eines Mikroskops durch Abdecken des mittleren Teils der Kondensorapertur gesteigert werden kann, und dass es für jeden Grad der Abdeckung ein optimales Verhältnis  $m$  von Kondensorapertur zu Objektivapertur [ $m = \text{NA}(\text{Kond})/\text{NA}(\text{Obj})$ ] gibt. Natürlich geht mit steigender Abdeckung auch zunehmend Licht verloren. Die Werte in Tabelle 1 wurden nach McKechnie berechnet. Die Tabelle gibt für verschiedene Abdeckungswerte die relative Lichtintensität, das optimale Kondensoraperturverhältnis  $m$  und den erreichten Auflösungskoeffizienten  $k$  (in der Gleichung  $d = k \times \lambda/\text{NA}$ ) an. Die linke Hälfte der Tabelle gibt die Auflösung an für den Fall, dass die Kondensorapertur gleich der Objektivapertur ist. Dies ent-



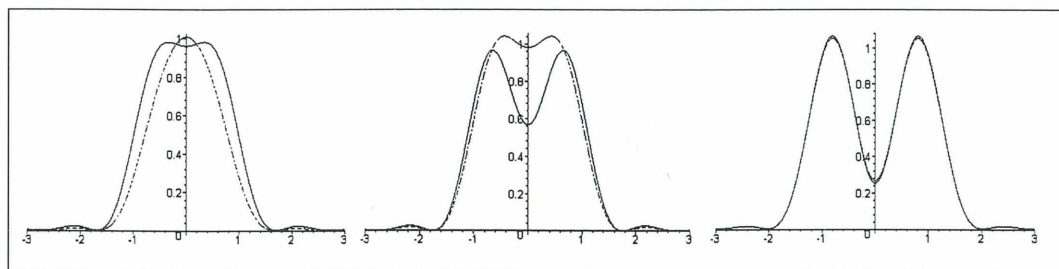
**Tab. 1: Auflösungskoeffizienten  $k$  bei verschiedenen zentralen Abdeckungen der Kondensorapertur in Abhängigkeit vom Verhältnis der Kondensorapertur zur Objektivapertur.**

Abdeckungswert (%)	Lichtintensität (%)	Auflösungskoeffizient $k$ bei $m = 1.0$ ( $^*\lambda/\text{Obj. NA}$ )	Optimales Kondensor-Apertur-Verhältnis $m$ ( $^*\text{Obj. NA}$ )	Optimaler Auflösungskoeffizient $k$ ( $^*\lambda/\text{Obj. NA}$ )
0	100	0,610	1,43	0,572
60	64	0,557	1,48	0,501
70	51	0,544	1,44	0,490
80	36	0,530	1,38	0,485
90	19	0,520	1,35	0,482
100	0	0,510	1,26	0,480

spricht oft der Mikroskopeinstellung bei der Verwendung von Objektiven höherer Apertur. Die rechte Hälfte gibt das optimale Kondensoraperturverhältnis für die höchstmögliche Auflösung an.

Die Werte in der ersten Zeile entsprechen den Verhältnissen unter Hellfeldbedingungen:  $d = 0,61 \times \lambda/\text{NA}$ , wobei  $\lambda$  die Lichtwellenlänge ist und NA die numerische Apertur des Objektivs. Aber bei einer Abdeckung von 90% (Zeile 5 der Tabelle) und einem Objektiv  $\text{NA} = 0,65$  ergibt sich zum Beispiel die optimale Kondensorapertur  $1,35 \times 0,65 = 0,88$ , und die erreichte Auflösung errechnet sich als  $d = 0,482 \times \lambda/\text{NA}$ . Für  $\lambda = 0,55 \mu\text{m}$ , wäre also mit  $d = 0,41 \mu\text{m}$  die Struktur der Diatomee *Pleurosigma angulatum* (Gitterkonstante  $0,5 \mu\text{m}$ ) aufgelöst. Diese Ergebnisse stimmen mit den Messungen und empirischen Formeln von van Duijn überein (1990). Wird die optimale Kondensorapertur überschritten, vermindert sich die Auflösung. Dieser Effekt verstärkt sich mit steigendem Abdeckungswert.

Wie die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen, ermöglicht die RFB, die Auflösung eines Mikroskops um 20% zu steigern. Das Verfahren eignet sich besonders dazu, Details mit einer Ausdehnung von  $0,45$  bis etwa  $0,8 \times \lambda/\text{NA}$  zu beobachten. In diesem Bereich ist der Vorteil der RFB gegenüber Hellfeld maximal (Abb. 6). Weil die Auflösung auf der Grundlage eines Kontrastkriteriums definiert wird [z.B. Rayleigh-Kriterium (Strutt, 1899) oder Kriterium von Born und Wolf (1980)], bedeutet es, dass in diesem Bereich der Kontrast zweier Punktdetails verbessert wird. Diese Kontraststeigerung kann man nicht mit Hilfe einer einfachen Bildbearbeitung auf einem Rechner erzeugen. Außerdem bleibt das Bild einer punktförmigen Lichtquelle unverändert. McKechnie (1972) bemerkte, dass die RFB ein nützliches Verfahren ist, um die Auflösung zweier Punkte zu steigern, aber nicht unbedingt dazu geeignet, mehr allgemeine Objekte aufzulösen. Mit anderen Worten: Es ist bekannt, dass die Auflösungssteigerung mit Hilfe ringförmiger Pupillen ob-



**Abb. 6: Ringförmige Beleuchtung (durchgezogene Linie) in Vergleich zum Hellfeld (punktierte Linie). Ist ihr Abstand kleiner als  $0,55 \times \lambda/\text{NA}$ , können zwei Punkte nicht aufgelöst werden (6a). Für einen Abstand von  $0,55 \times \lambda/\text{NA}$  bringt ringförmige Beleuchtung eine erhebliche Kontrast- und Auflösungsverbesserung (6b). Für einen Abstand größer als  $0,8 \times \lambda/\text{NA}$  werden die zwei Punkte sowohl im Hellfeld als auch durch ringförmige Beleuchtung aufgelöst (6c).**

jektabhängig ist. Unter Umständen können auch in RFB-Bildern Halo-Artefakte erscheinen, diese sind jedoch meist gering. Andere Effekte, wie Objektiv-Phaseneffekte, chromatische Effekte des Kondensors oder Dunkelfeldbedingungen für hohe Abdeckungswerte, ermöglichen eine Vielfalt von Alternativen, manchmal fast künstlerisch wirkende Kontrastvarianten und Farben zu erzielen.

Obwohl die RFB eine einfache Methode darstellt, die Auflösung eines Mikroskops zu steigern, kann diese Steigerung jedoch höchstens den Faktor 1,2 erreichen. Nach neueren Arbeiten scheinen aber die klassischen Auflösungskriterien (z.B. Rayleigh-Kriterium) keine grundsätzliche Grenze mehr zu sein, die lichtoptische Mikroskopie bei einer Auflösung unter  $0,1\ \mu\text{m}$  unmöglich macht (Vollrath, 1999).

### **Zusammenfassung der Erfahrungen**

1. Die RFB eignet sich vor allem für zwei Zielsetzungen:
  - a) Erhöhung von Auflösung und Kontrast bei mittleren und stärkeren Objektiven relativ niedriger Apertur (vor allem Achromate z.B. 25/0,45 und 40/0,65)
  - b) Ausnutzung der letzten Reserven der besten und höchstvergrößernden Objektive (Achromate 100/1,25, Plan-Fluorite >40:1, Plan-Apochromate >40:1). In diesem Fall sind allerdings beste Kondensoren empfehlenswert.
2. Das Verfahren stellt aus folgenden Gründen keine Alternative zum Phasenkontrast (Phako) dar:
  - a) Im Gegensatz zum Phako ist die RFB mehr etwas für's Auge, weniger für die Mikrofotografie. Die Kontraststeigerung fällt nicht so spektakulär aus wie beim Phako und das, was man mit der RFB mehr sieht, ist meist sehr zart.
  - b) Im Gegensatz zum Phako ist eine Steigerung der Auflösung bei der RFB deutlich sichtbar. Anmerkung: Phasenkontrast erhöht die Auflösung definitiv nicht. Hier ist die RFB dem Phasenkontrast überlegen.
  - c) Im Gegensatz zum Phako ist die Auswahl der geeigneten Objekte bei der RFB noch mehr eingeschränkt. Es können nur sehr dünne Objekte auf diese Weise sinnvoll beobachtet werden. Auch ist die Anwendung des Verfahrens auf recht kontrastreiche Objekte sinnlos.
3. Wendet man das Verfahren an, um Diatomeenschalen zu betrachten, so empfiehlt es sich, ein relativ strenges Blaufilter oder ein Grünfilter (VG9) zu verwenden. Der Auflösungsgewinn wird dann noch deutlicher – im ersten Fall wegen der kürzeren Wellenlänge, im zweiten wegen der besonderen Eigenschaften des menschlichen Auges. Der farbige Untergrund stört hier meistens nicht.
4. Die verwendeten Zentralblenden eignen sich auch hervorragend, um
  - a) mit manchen Objektiven, für die sie in Bezug auf RFB zu groß sind, Dunkelfeld zu erzeugen und
  - b) bei entsprechender Dezentrierung als schöne sichelförmige Blenden für schiefe Beleuchtung eingesetzt zu werden.

### **Literaturhinweise**

- Born, M. und Wolf, E.: Principles of Optics. Pergamon, New York, (1980).
- Göke, G.: Kontrastmodulation und Superresolution mit Ringblenden. Mikrokosmos 80, 356–360 (1991).
- James, P.: Circular Oblique Lighting Part I–IV, Micscape. [http://www.microscopy-uk.org.uk/full\\_search.html](http://www.microscopy-uk.org.uk/full_search.html)
- McCrickerd, J. T.: Coherent processing and depth of focus of annular aperture imagery. Applied Optics. 10, 2226–2230 (1971).
- McKechnie, T. S.: The effect of condenser obstruction on the two-point resolution of a microscope. Optica Acta 19, 729–737 (1972).
- Molecular Expressions: Introduction to oblique illumination. <http://micro.magnet.fsu.edu/primer/techniques/oblique/obliqueintro.html>
- Sheppard, C., Choudhury, A.: Annular pupils, radial polarization, and superresolution. Applied Optics 43, 4322–4327 (2004).
- Tschunko, H. F. A.: Imaging performance of annular apertures. 2: Line spread functions. Applied Optics 17, 1075–1079 (1978).



Strutt, J. W. (Baron Rayleigh): Investigation in optics, with special reference to the spectroscope. In Scientific Papers by John William Strutt, Baron Rayleigh, Cambridge U. Press, Cambridge (1899), Vol 1, 1869–1881, pp. 416–459; originally published in Philos. Mag. 8 and 9 (1879 and 1880).

Van Duijn, C.: Ringförmige Beleuchtungssysteme in der Mikroskopie, 3. Internationale Mikroskopie-Tage in Hagen, 2–4 November 1990.

Vollrath, W.: Optische Mikroskopie bei einer Auflösung unter 0,1 µm: Fiktion oder Vision? Leica Mi-

croscopy Wetzlar GmbH, Mitteilungen für Wissenschaft und Technik, Ausgabe CDR 2, S. 49–70 (1999). <http://www.leica-microsystems.com>

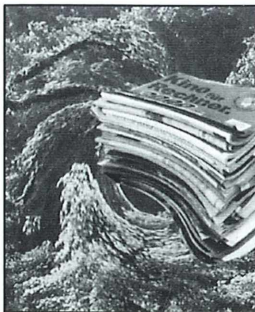
**Verfasser:** Dr. Pascal Ballester, Mikrobiologische Vereinigung München e.V., Fallmerayerstr. 16, D-80796 München, und Gunther Chmela, Mikrobiologische Vereinigung München e.V., Pullacher Str. 17, D-82049 Großhesselohe

## Mikro-Cartoon

### Mikrokosmos in und auf der Brottüte

Zuweilen stößt man auch im Alltag unvermutet auf ganz banalen Gegenständen auf Ansichten aus dem Bereich des Mikrokosmos. Unser Leser Thomas Sonne aus Lünen schickte uns diese Rückseite einer Brottüte. Die Bäckerei Dahlmann in Dortmund verpackt ihre Brote beim Kauf in solche Papiertüten. Wie auf der Abbildung zu sehen ist, wird der Wert von Vollkorn-Backwaren gepriesen und auf die wichtigen Inhaltsstoffe hingewiesen. Darüber hinaus aber wird ein Schema eines mikroskopischen Schnittes durch ein Getreidekorn abgebildet, welches die Hauptbestandteile des Korns zeigt: Frucht- und Samenschale, Getreidekern und Keimling – das freut den Mikroskopiker.

Redaktion MIKROKOSMOS



### blatt-gemacht

200 kg Papier nutzen deutsche BürgerInnen im Jahr. Für die Anlage von Zellstoff-Plantagen werden in zunehmendem Maße auch Regenwälder gerodet.

Weitere Infos bei:

**REGENWALD**  
Frohschammerstr. 14  
80807 München  
Tel.: 089-359 8650

### Verbraucher-Information

#### ★ Unsere Vollkorn-Backwaren enthalten immer den vollen Wert des ganzen Korns:



Entweder ganze Getreidekörner  
oder fein bis grob geschrotete  
Getreidekörner = Vollkornschrot  
oder sehr fein gemahlene Getreide-  
körner = Vollkornmehl.



Ganz entscheidend:  
Das volle Korn ist immer drin!



#### ★ Unsere Vollkorn-Backwaren mit dem vollen Wert des ganzen Korns:

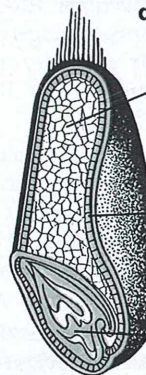
reich an lebenswichtigen Nähr- und Vitalstoffen

- Stärke – energieliefernde Kohlenhydrate
- pflanzliches Eiweiß (Protein)
- wertvolle Vitamine (besonders der B-Gruppe)
- wichtige Mineralstoffe und Spurenelemente mit vielen natürlichen Ballaststoffen

- sie fördern die Verdauung und mit Aromastoffen

- für Geschmack und Duft der Backwaren

#### ★ Schnitt durch ein Getreidekorn, das aus drei Hauptteilen besteht:



##### Getreidekern = Mehlkörper

Der Mehlkörper besteht aus Stärkekörnern und Eiweiß. Die Zelltrennwände sind aus Zellulose. Am Rand liegt die Aleuronschicht mit besonders hohen Anteilen an Mineralstoffen und Vitaminen.

##### Randschichten = Frucht- und Samenschale

Die Frucht- und Samenschale umhüllt den Mehlkörper und den Keimling. Sie ist aus mehreren Schichten aufgebaut und hat einen sehr hohen Anteil an Ballaststoffen und Mineralien.

##### Keimling

Der Keimling enthält neben wichtigen Vitaminen und Spurenelementen einen hohen Anteil an pflanzlichem Eiweiß und pflanzlichem Fett.

## Mikro-Einsteiger

# Optische Aufheller: Leuchtende Werkzeuge für die Mikroskopie

## Teil 3: Zum Wachstum von Wurzelhaaren der Kresse

Eberhard Schnepf

Im ersten und zweiten Teil dieser Reihe wurde gezeigt, welche Eigenschaften optische Aufheller haben, dass sie in der Mikroskopie eingesetzt werden können, um Strukturen aus  $\beta$ -gebundenen Polysacchariden fluoreszenzmikroskopisch darzustellen, und um Inkrustierungen von Zellulose und Permeationssperren nachzuweisen (Schnepf, 2005a und b). Hier, im dritten Teil, wird dargestellt, dass optische Aufheller wie Tinopal neue Einblicke in die Entwicklung der Wurzelhaare von Kresse ermöglichen. Mit einer Pulsmarkierung lässt sich direkt zeigen, dass die Wurzelhaare nur an der Zellspitze wachsen. Man kann mit Tinopal Strukturanomalien in den Wurzelhaarwänden nachweisen. Eine Langzeit-Behandlung mit Tinopal stört die Bildung der Wurzelhaare und ihr Spitzenwachstum. Dabei wird die Wurzelhaar-Kuppe verdickt und es wird Wandmaterial in den Wurzelhaarbildungszellen kissenförmig abgelagert.

### Die Anzucht von Kresse und die Fluorochromierung der Wurzeln

Samen der Kresse (*Lepidium sativum*) keimen schnell und gut, wenn man sie auf feuchtem Filter- oder Toilettenpapier aussät, am besten in einer Petrischale. Die verquellende Samenschale heftet die Keimlinge fest an die Unterlage, so dass die Schale auch senkrecht aufgestellt werden kann. Dadurch wird das Wachstum optimiert und gravitropisch ausgerichtet. Schon nach einem Tag erscheinen die Keimwürzelchen. Sie sind nach 3–4 Tagen mehrere Zentimeter lang und haben dann viele Wurzelhaare. Diese entwickeln sich in feuchter Atmosphäre gut, in die Luft hinein besser als zu der Seite, die dem Papier anliegt. Auf nassem Papier in horizontal liegenden Schalen ist das Wachstum der Wurzeln und der Wurzelhaare gehemmt, besonders wenn die Samen ganz eingetaucht sind. Flach mit Wasser bedeckt sind dann die Keimwurzeln nach drei Tagen nur etwa 10 mm lang. Ich habe bei den hier

beschriebenen Versuchen Leitungswasser verwendet.

Der optische Aufheller war Tinopal LPW von Ciba Geigy in konzentrierter Lösung in Leitungswasser. Damit wurden die Wurzeln zum Mikroskopieren gefärbt. Bei einer Pulsmarkierung werden die Wurzeln kurz (30–60 Sekunden) oder etwas länger (15–30 Minuten) in die Tinopal-Lösung eingetaucht, dann in Leitungswasser gewaschen und auf feuchtem Papier weiter kultiviert. Beim längeren Mikroskopieren muss man dann natürlich Leitungswasser hinzugeben. Wenn die Kresse mehr oder weniger untergetaucht in einer Tinopal-Lösung angezogen wird, wachsen Wurzeln ähnlich langsam wie in Leitungswasser.

Für meine Untersuchungen hatte ich ein Inversmikroskop von Zeiss mit einer Epifluoreszenzeinrichtung und dem Filtersatz G365, FT 395, LP 420 (Schnepf, 2005a). Für manche Beobachtungen ist eine solche Auflicht-Beleuchtung günstig oder notwendig. Dabei wurden die Keimwurzeln oft leicht gequetscht.



### Wurzelhaube, Rhizodermis, Wurzelhaare

Beiden jungen Keimwurzeln lassen sich drei Zonen unterscheiden. Apikal umschließt die Wurzelhaube (Calyptra) das Meristem. Es folgt nach hinten die Streckungszone, die meist auch noch von Teilen der Calyptra bedeckt ist. Anschließend folgt die Zone, in der sich die nun frei an der Oberfläche liegenden Rhizodermis-Zellen in Trichoblasten (sie bilden Wurzelhaare) und Atrichoblasten (sie bilden keine Wurzelhaare) differenzieren, und in der dann die Wurzelhaare initiiert werden und auswachsen. Reste der Wurzelhaubenzellen sind manchmal noch zwischen den jüngsten Wurzelhaaren zu finden.

Die Trichoblasten bilden Längsreihen, die mit Reihen von Atrichoblasten abwechseln (Abb. 1). Die Außenwand der Trichoblasten ist in Abbildung 1, wie meistens, etwas schwächer gefärbt als die der Atrichoblasten. Als Folge einer Pulsmarkierung (siehe unten) sind hier die noch ganz jungen Wurzelhaare dunkel, also nicht gefärbt. Sie wachsen etwa in der Zellmitte hervor, anders als bei der nahe verwandten und viel untersuchten *Arabidopsis thaliana* (Acker-schmalwand), wo sie am apikalen Ende der Trichoblasten entstehen (Samaj et al., 2004). In Abbildung 1 haben die Außenwände von Trichoblasten und Atrichoblasten eine Längsstruktur. Das ist ungewöhnlich. Häufiger ist

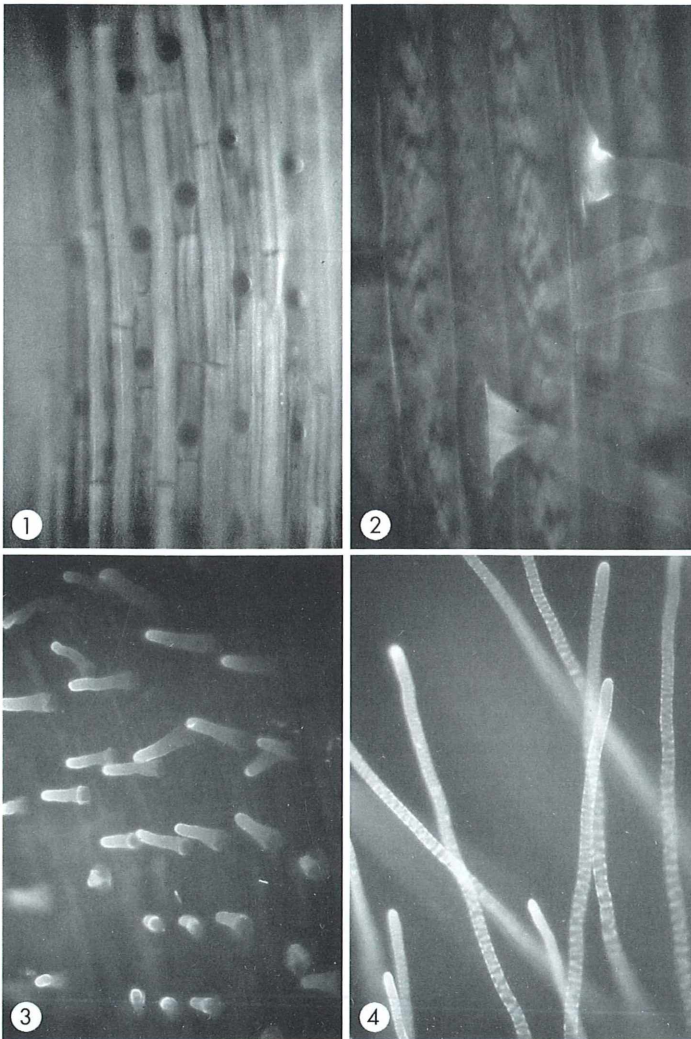


Abb. 1: Trichoblasten und Atrichoblasten; 3 Tage alte Wurzel, 4 Stunden nach einer Pulsmarkierung mit Tinopal. Die danach gebildeten Wurzelhaare sind ungefärbt. Vergr. 160fach. – Abb. 2: Außenwände der Trichoblasten und Atrichoblasten mit Querstrukturen; 2 Tage alte Wurzel, 4 Stunden nach Pulsmarkierung mit Tinopal. Vergr. 390fach. – Abb. 3: Junge Wurzelhaare; 2 Tage alte Wurzel. Vergr. 160fach. – Abb. 4: Wurzelhaare mit Bänderung; 4 Tage alte Wurzel, Tinopal-Färbung. Vergr. 160fach.

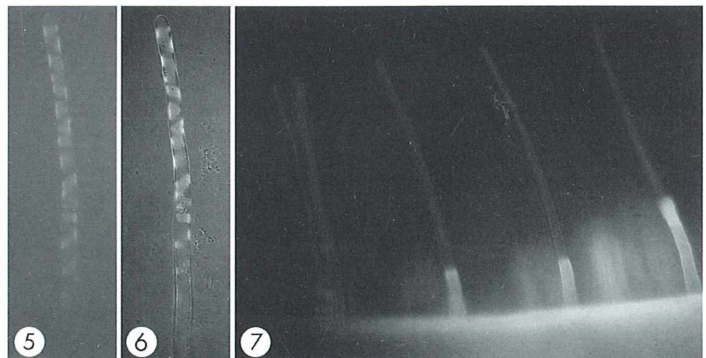
eine mehr oder weniger deutliche Querstruktur, oft fast in der Form einer Zickzack-Bänderung (Abb. 2). Auch hier handelt es sich um eine Wurzel mit Pulsmarkierung. Man beobachtet eine solche Querbänderung aber auch in normal herangewachsenen und gefärbten Wurzeln von Kresse. Allerdings erscheinen oft die Außenwände der Rhizodermis-Zellen im Wurzelhaarbereich recht homogen (Abb. 3). Abbildung 3 zeigt ein weiteres, wichtiges Detail. Die Wände der Wurzelhaare sind viel stärker gefärbt als die der Rhizodermis-Zellen selbst, auch bei Wurzelhaaren, die älter sind als hier. Dabei sind die Wände dieser kurzlebigen Zellen sehr zart und enthalten wohl nur wenig Zellulose. Diese scheint aber gut für den Aufheller zugänglich zu sein. Die Wurzelhaare sind ja für die Stoffaufnahme spezialisiert und lassen auch den Farbstoff leicht eindringen.

### ***Tinopal macht Strukturanomalien in Wurzelhaaren sichtbar***

Die meisten Wurzelhaare haben eine glatte, gleichmäßig gefärbte Zellwand, die bei noch wachsenden Haaren an der Spitze besonders intensiv mit Tinopal angefärbt wird. Bei Keimlingen, die in senkrecht gestellten Petrischalen auf feuchtem Papier angezogen wurden und deren Wurzelhaare sich dann größtenteils in die Luft erstrecken, gibt es jedoch nicht selten auch Wurzelhaare mit anders strukturierten Wänden. Diese Wurzelhaare sehen im Hellfeld ganz normal aus. Nach einer Tinopal-Färbung hat ihre Wand aber stark fluoreszierende Bänder oder große Flecken, die immer scharf gegen die Umgebung abgegrenzt sind (Abb. 4, 5, 6). Selte-

ner findet man einen körnigen Belag (Abb. 9). Bei diesen Strukturen handelt es sich nicht um Callose, die in Pollenschläuchen mehr oder weniger regelmäßige Wandverdickungen bilden kann (Hepler et al., 2001), denn sie reagieren nicht mit Anilinblau. In seltenen Einzelfällen kann sich ein Stückchen eines solchen Fleckes als feines Häutchen teilweise von der Wand ablösen, bleibt aber immer mit ihr verbunden. Es ist so zart, dass es im Phasenkontrast und im Interferenzkontrast nicht sichtbar ist. Sowohl bei den Flecken und Bändern als auch besonders bei den abgelösten Häutchen kann sich bei längerer Bestrahlung mit dem kurzwelligen Licht die Intensität der Fluoreszenz verringern. Diese mit Tinopal färbbaren Strukturen liegen also auf der Außenseite der Wurzelhaarwand. Ein Wurzelhaar hat gewöhnlich gar keine solche Flecken und Bänder oder hat sie überall. Wurzelhaare mit diesen Anomalien stehen meist auf der Wurzeloberfläche in Gruppen zusammen, sind manchmal aber auch einzeln zwischen normalen Haaren zu finden. Sehr junge Wurzelhaare haben nur selten diese Flecken. Versuche, mit denen geprüft werden sollte, ob diese Anomalien Folgen eines Trockenstress oder einer mechanischen Störung sind, brachten keine klaren Ergebnisse. Eine schlüssige Erklärung für ihre Entstehung und ihre Natur kann daher nicht gegeben werden. Wahrscheinlich sind sie nicht Ausdruck einer Zweischichtigkeit der Wurzelhaarwand, wie sie von Peterson und Farquhar (1990) postuliert wird. In den Wänden der Pollenschläuche vom Tabak gibt es periodische Bänder und Ringe aus Arabinogalaktan-Proteinen (Hepler et al., 2001); vielleicht sind sie mit den Strukturen in den Kresse-Wurzelhaaren vergleichbar.

**Abb. 5: Wurzelhaar mit Bänderung; 6 Tage alte Wurzel, Tinopal-Färbung. Vergr. 100fach. – Abb. 6: Wie Abbildung 5. Zusatzbeleuchtung mit Hellfeldlicht. – Abb. 7: Wurzelhaare 3 Stunden nach einer Pulsmarkierung mit Tinopal, 3 Tage alte Wurzel. Vergr. 115fach.**





### **Tinopal macht Wachstumsprozesse sichtbar**

Nach einer kurzen Pulsmarkierung wachsen die jüngeren Wurzelhaare nahezu ohne Störung weiter (Abb. 7). Der neu gebildete Wandbereich ist ungefärbt und scharf gegen den älteren abgegrenzt. Wenn in der Zeit nach dem Tinopal-Bad neue Wurzelhaare gebildet werden, sind diese im Gegensatz zu den Außenwänden ganz ungefärbt (Abb. 1) oder sie fluoreszieren nur an der Basis (Abb. 2).

Wie die Pulsmarkierung unmittelbar demonstriert, wachsen die Wurzelhaare also mit Spitzenwachstum. Das war durch mehr indirekte Beobachtungen schon lange bekannt. Mit einer ähnlichen Pulsmarkierung haben Roberts und Uhnak (1998) nachgewiesen, dass in Suspensionskulturen von *Zinnia*-Zellen manche Zellen eine Art von lokalem Wachstum haben. Allerdings sind bei diesen Zellen die neu gebildeten Wandregionen nicht scharf von den alten getrennt.

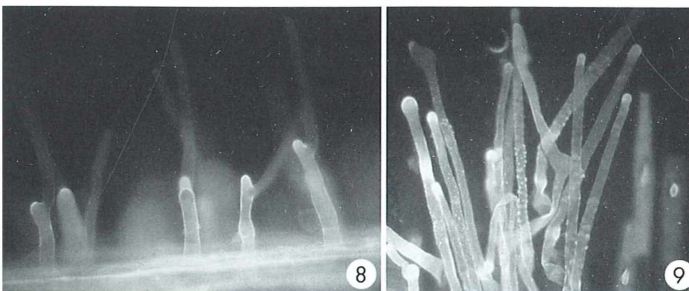
Bei den Kresse-Wurzelhaaren wird durch das Tinopal-Bad und die nachfolgende Waschung das Wachstum sicherlich vorübergehend unterbrochen. Aus der Länge der ungefärbten Wandbereiche ergeben sich daher eher zu niedrige Werte für die Wachstumsgeschwindigkeit. Die Wurzelhaare von Abbildung 7 sind in drei Stunden knapp 120 µm gewachsen, etwas langsamer als für *Arabidopsis* (Wymer et al., 1984: 70–90 µm), und für Radieschen (Cooper and Brown, 1981: 50–1000 µm) angegeben.

### **Tinopal stört das Wachstum von Wurzelhaaren**

Wenn die Färbung der Wurzelhaare auf 15 Minuten ausgedehnt wird, kommt ihr Wachstum vorübergehend zum Stillstand. Die Synthese, der Transport und die Sekretion von Wandma-

terial gehen aber vorerst weiter. Apikal häufen sich Polysaccharide an, die mit Tinopal gefärbt werden, wobei aber die Zellulose keine Mikrofibrillen bildet (Haigler et al., 1980, 1982; Schnepf, 2005a und b). Diese anormalen Polysaccharide werden also nicht in eine wachsende Wand eingebaut werden, sondern sie werden an eine sich nicht in der Fläche vergrößernde Wand angelagert und verdicken so die Kuppen. Die Folge davon ist, dass das Wurzelhaar später in der Erholungsphase nicht an der Spitze weiter wachsen kann, sondern dass subapikal ein neuer Auswuchs entsteht, der natürlich ungefärbt ist (Abb. 8). Ähnliche subapikale Auswüchse erzeugte Meekes (1985) bei Wurzelhaaren des Hornfarns (*Ceratopteris thalictroides*) durch Färbungen mit Calcofluor oder Congorot. Beide Farbstoffe verhindern wie Tinopal die Kristallisation der Zellulose. Es ist bemerkenswert, dass sich diese seitlichen Auswüchse der Kresse-Wurzelhaare in dieselbe Richtung hin orientieren, in der das Wurzelhaar vor der Behandlung wuchs, dass sie also senkrecht zur Wurzeloberfläche weiter wachsen.

Eine längere Einwirkung von Tinopal (24 Stunden oder mehr nach Vorkultur auf feuchtem Papier) stoppt das Wachstum eines Wurzelhaares irreversibel. Oft ist es dann apikal aufgebläht (Abb. 9) und/oder es wird in der Kuppe stark lichtbrechendes Material abgelagert (Abb. 10), das von Tinopal gefärbt wird (Abb. 11), also wenigstens teilweise aus  $\beta$ -gebundenen Polysacchariden besteht. Ähnliche Beobachtungen machten Cooper und Brown (1981) bei Wurzelhaaren von Radieschen (vergl. auch Meekes, 1985). Es kann aber auch vorkommen, dass nach einem wenige Minuten dauernden Tinopal-Bad die Spitze vieler Wurzelhaare so erweicht ist, dass sie bei der anschließenden Weiterbehandlung platzen. Dabei tritt dann oft Material aus, das mit Tinopal gefärbt ist.

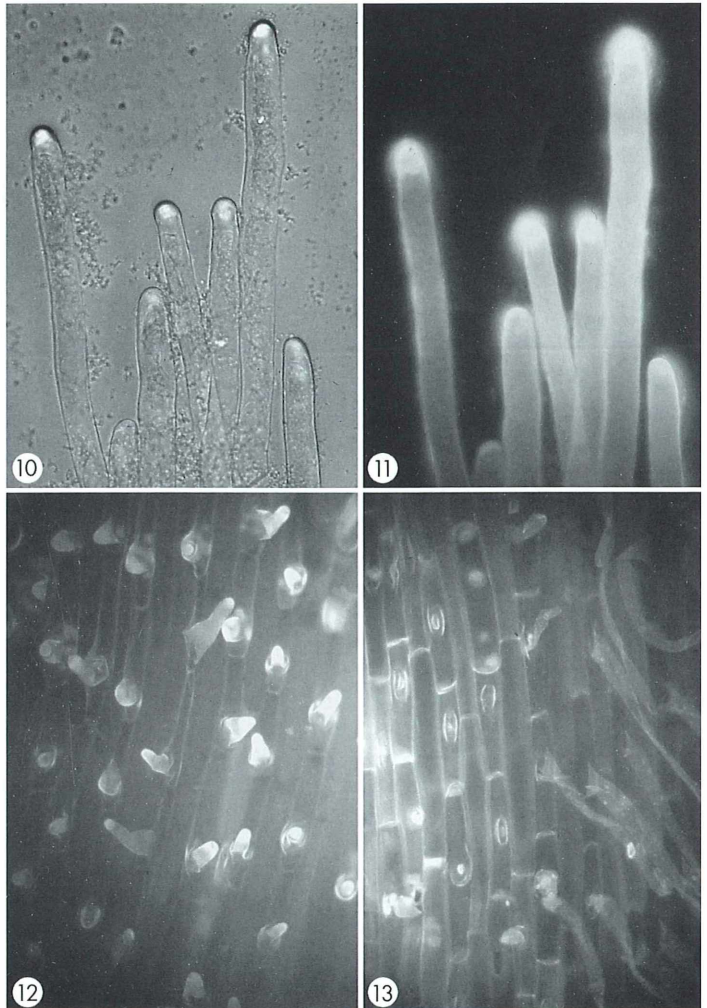


**Abb. 8: Wurzelhaare 4 Stunden nach einer 15 Minuten langen Tinopal-Pulsmarkierung, 3 Tage alte Wurzel. Vergr. 115fach. – Abb. 9: Wurzelhaare mit apikalen Aufblähungen und körnigen Wandbelägen nach 24 Stunden Tinopal-Färbung, 3 Tage alte Wurzel. Vergr. 115fach.**

### ***Tinopal stört die Bildung von Wurzelhaaren***

Junge, gerade sich vorwölbende Wurzelhaare wachsen in einer Tinopal-Lösung nicht recht weitert (Abb. 12). Das Wachstum ist aber nur in Bereichen in direktem Kontakt mit der Flüssigkeit gehemmt. In Abbildung 13 gibt es eine ganz scharfe Grenze zwischen Trichoblasten mit normal ausgewachsenen Wurzelhaaren und solchen, bei denen die Entwicklung bei einer winzigen Vorwölbung stehen geblieben ist. Nur die waren wohl von der Tinopal-Lösung benetzt. Hierzu muss allerdings erwähnt werden, dass auch bei Wurzeln, die nur in Leitungswasser eingetaucht sind, Wachstum und Wurzelhaarbildung verzögert sind. Beides verläuft aber sonst weitgehend normal.

Eine Keimung in einer Tinopal-Lösung führt hingegen häufig zu Anomalien in der Morphogenese der Wurzelhaare. In Abbildung 14 ist die Wurzelhaar-Entwicklung auf einem ganz frühen Stadien stehen geblieben. Mit Tinopal gefärbte Polysaccharide haben sich in der Zellmitte zu einem runden Kissen zusammengefügt, dort wo sich das Wurzelhaar ausstülpfen würde, was aber hier unterblieben ist. Die lokale und polare Ausrichtung der Synthese, des Transportes und der Ausscheidung von Wandmaterial ist also nicht beeinflusst. Dieses Material ist auffällig grobflockig. Bei anderen Wurzeln bilden sich anstelle der Wurzelhaare unregelmäßig geformte Vorwölbungen. In vielen Wurzeln von Pflänzchen, die direkt in einer Tinopal-Lösung keimten oder, besser



**Abb. 10:** Wurzelhaare mit stark lichtbrechenden Kuppen nach 24 Stunden Tinopal-Färbung, 2 Tage alte Wurzel. Hellfeld. Vergr. 310fach. –

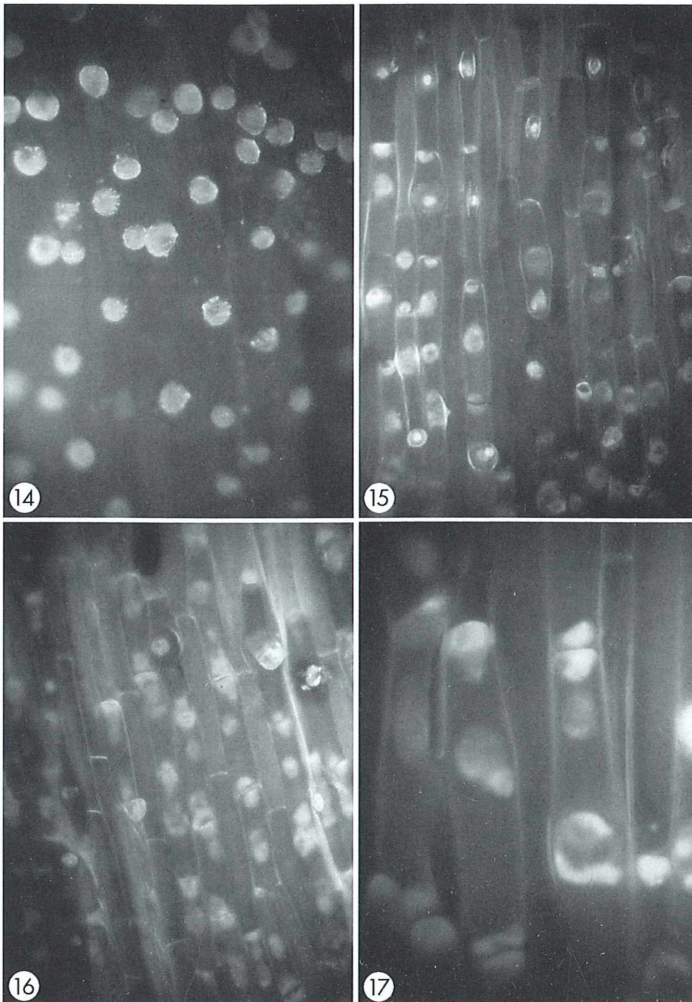
**Abb. 11:** Wie Abbildung 10, Fluoreszenzmikroskopie. –

**Abb. 12:** Hemmung des Wurzelhaarwachstums durch 24 Stunden Färbung mit Tinopal, 2 Tage alte Wurzel. Vergr. 160fach. – **Abb. 13:** Scharfe Grenze zwischen gehemmt (links) und nicht gehemmt (rechts) Wurzelhaarwachstum, Aussaat in Tinopal, 2 Tage alte Wurzel. Vergr. 160fach.



noch, die nach einem Tag Vorkultur auf feuchtem Papier in Tinopal überführt worden waren, findet man in den Trichoblasten außer dem Kissen aus Tinopal-positivem Material in der Zellmitte noch weitere kissenförmige Ablagerungen von Polysacchariden. Diese Ablagerungen liegen vor allem an den Zellenden (Abb. 15, 16, 17), gelegentlich sogar dann, wenn die Wurzelhaar-Ausstülpung schon gerade begonnen hat. Diese zusätzlichen Ablagerungen gibt es fast ausschließlich nur in den Trichoblasten. Sie sind immer recht klar umgrenzt, nie diffus über die ganze Außenwand verteilt. Man findet sie besonders nahe der Grenze zum Hypokotyl. Die in ihrer Entwicklung durch Tinopal gestörten Trichoblasten bilden auch dann keine Wurzelhaare mehr aus,

wenn die Keimlinge auf feuchtem Papier weiter kultiviert werden und ihr Wachstum fortsetzen. Bei der Bildung eines Wurzelhaares folgen mehrere Teilschritte aufeinander (Schiefelbein, 2000; Carol and Dolan, 2002). 1. Die Rhizodermiszellen differenzieren sich in Trichoblasten und Atrichoblasten. 2. Die Wurzelhaarbildung wird initiiert, wobei der Ort des Auswuchses festgelegt wird. 3. Es entsteht eine erste kleine Ausstülpung, wobei die Zellwand lokal angesäuert, aufgelockert und verdünnt wird, gleichzeitig aber auch schon etwas Wandmaterial deponiert wird. 4. Diese Ausstülpung wächst mit Spitzenwachstum zum Wurzelhaar heran. 5. Das Wachstum wird beendet. Jeder dieser Teilschritte wird durch bestimmte Gene kontrolliert, die bei *Arabidopsis* teilweise



**Abb. 14:** Wurzelhaarbildung initiiert, aber kein Wurzelhaarwachstum. Aussaat in Tinopal, 2 Tage alte Wurzel. Vergr. 160fach. – **Abb. 15:** Wurzelhaarbildung initiiert, aber kein Wurzelhaarwachstum. In mehreren Trichoblasten zusätzliche kissenförmige Ablagerungen von Wandmaterial. Aussaat in Tinopal, 2 Tage alte Wurzel. Vergr. 160fach. – **Abb. 16:** Wurzelhaarbildung initiiert, aber kein Wurzelhaarwachstum. In vielen Trichoblasten zusätzliche kissenförmige Ablagerungen von Wandmaterial. Keimung auf feuchtem Papier (1 Tag), Färbung mit Tinopal (1 Tag), Weiterkultur auf feuchtem Papier (2 Tage). Vergr. 160fach. – **Abb. 17:** Wurzelhaarbildung initiiert, aber kein Wurzelhaarwachstum. In Trichoblasten polare kissenförmige Ablagerungen von Wandmaterial. Keimung auf feuchtem Papier (1 Tag), Färbung mit Tinopal (1 Tag). Vergr. 360fach.

schon identifiziert sind (Schiefelbein, 2000; Cho and Cosgrove, 2002).

Auf die wichtige Rolle von Calcium-Gradienten (Wymer et al., 1997; Hepler et al., 2001), Actinfilamenten und Mikrotubuli (Baluska et al., 2000; Sugimoto et al., 2000; Mathur, 2004) und polar verteilten Proteinen und Lipiden (Vissenberg et al., 2001; Mathur, 2004; Fischer et al., 2004) bei diesen Prozessen kann hier nicht näher eingegangen werden. Betont werden muss allerdings, dass Tinopal die Entwicklung der Wurzelhaare stört, obwohl es nicht in den Protoplasten eindringt, sondern außerhalb der Plasmamembran die Kristallisation der Zellulose verhindert (Roberts et al., 2004). Es ist eine offene Frage, wie dadurch (im Protoplasten) die örtliche Festlegung des Auswuchses gestört wird (es können mehrere Kissen aus Wandpolysacchariden entstehen), und wie das Auswachsen und das Weiterwachsen an der Wurzelhaarspitze gehemmt werden. Anfangs werden noch extrazelluläre Wandpolysaccharide an den richtigen Stellen angelagert (nicht eingelagert), also die apikale Zellulose-Synthese und wohl auch die Exocytose von Golgi-Vesikeln geht noch weiter (siehe auch Meekes, 1986). Die Wand wird aber dort nicht gedehnt, also anscheinend auch nicht aufgelockert. Auch bei der Entwicklung von tracheidalen Elementen kann die extraplasmatische Störung der Fibrillen-Kristallisation auf cytoplasmatische Strukturen wie beispielsweise Mikrotubuli wirken (Roberts et al., 2004).

## Danksagung

Ich danke Herrn Priv.-Doz. Dr. M. Braun, Bonn, für Literaturhinweise.

## Literaturhinweise

Baluska, F., Salaj, J., Mathur, J., Braun, M., Jasper, F., Samaj, J., Chua, N.-H., Barlow, P. W., Volkmann, D.: Root hair formation: F-actin dependent tip growth is initiated by local assembly of profilin-supported F-actin meshworks accumulated within expansin-enriched bulges. *Develop. Biol.* 227, 618–632 (2000).

Carol, R. J., Dolan, L.: Building a hair: tip growth in *Arabidopsis thaliana*. *Phil. Trans. R. Soc. London, B. Biol. Sci.* 357, 815–821 (2002).

Cho, H. T., Cosgrove, D. J.: Regulation of root hair initiation and expansin gene expression in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 14, 3237–3253 (2002).

Cooper, K. M., Brown, R. M. Jr.: Growth of radish root hairs in substances which alter cellulose synthesis. *J. Cell Biol.* 91, 146a (1981).

Fischer, U., Men, S., Grebe, M.: Lipid functions in plant cell polarity. *Curr. Opin. Plant Biol.* 7, 670–676 (2004).

Haigler, C. H., Brown, R. M. Jr., Benziman, M.: Calcofluor White ST alters the in vivo assembly of cellulose microfibrils. *Science* 210, 442–450 (1980).

Hepler, P. K., Vidali, L., Cheung, A. Y.: Polarized cell growth in higher plants. *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* 17, 159–87 (2001).

Mathur, J.: Cell shape development in plants. *Trends Plant Sci.* 9, 583–590 (2004).

Meekes, H. T. H. M.: Inhibition and recovery of cell wall formation in root hairs of *Ceratopteris thalictroides*. *J. exp. Bot.* 37, 1201–1210 (1986).

Peterson, R. L., Farquhar, M. L.: Root hairs: specialized tubular cells extending root surfaces. *Bot. Rev.* 62, 1–40 (1996).

Roberts, A. W., Frost, A. O., Roberts, E. M., Haigler, C. H.: Roles of microtubules and cellulose microfibril assembly in the localization of secondary cell-wall deposition in developing tracheary elements. *Protoplasma* 224, 217–229 (2004).

Roberts, A. W., Uhnak, K. S.: Tip growth in xylogenesis suspension cultures of *Zinnia elegans* L.: Implications for the relationship between cell shape and secondary-cell-wall pattern in tracheary elements. *Protoplasma* 204, 103–113 (1998).

Samaj, J., Baluska, F., Menzel, D.: New signalling molecules regulating root hair tip growth. *Trends Plant Sci.* 9, 217–220 (2004).

Schiefelbein, J. W.: Constructing a plant cell. The genetic control of root hair development. *Plant Physiol.* 104, 1525–1531 (2000).

Schnepf, E.: Optische Aufheller: Leuchtende Werkzeuge für die Mikroskopie. Teil 1: Mechanismen und Substrate der Fluorochromierung. *Mikrokosmos* 94, 175–180 (2005a).

Schnepf, E.: Optische Aufheller: Leuchtende Werkzeuge für die Mikroskopie. Teil 2: Entdeckungen mit optischen Aufhellern. *Mikrokosmos* 94, 235–241 (2005b).

Sugimoto, K., Williamson, R. E., Wasteneys, G. O.: New techniques enable comparative analysis of microtubule orientation, wall texture, and growth rate in intact roots of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 124, 1493–1506 (2000).

Vissenberg, K., Fry, S. C., Verbelen, J.-P.: Root hair initiation is coupled to a high localized increase of xyloglucan endotransglycosylase action in *Arabidopsis* roots. *Plant Physiol.* 127, 1125–1135 (2002).

Wymer, C. L., Bibikova, T. N., Gilroy, S.: Cytoplasmic free calcium distribution during the development of root hairs of *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 12, 427–239 (1997).



## Kurze Mitteilung

### Zellwucherungen bei verwundeten Pappelstämmen

Beschädigungen an den Stämmen von Bäumen kommen nicht selten vor. Wenn die Verletzung bis zum Holzkörper durchgeht, dann entstehen am Wundrand Kallusgewebe. Dies sind ungeordnete Zellwucherungen, die schließlich zum Abschluss der Wunde beitragen, sodass das innere Gewebe geschützt wird. Das Wort Kallus ist von dem lateinischen Wort *callus*, das heißt verhärtete, verdickte Haut, Beule, Schwielen, abgeleitet. Der Ablauf der Wundkallusbildung kann lichtmikroskopisch gut verfolgt werden. Das zu untersuchende Wundgewebe wird mit Hilfe von Meißel und Rasierklinge abgelöst und in 4×4×4 mm große Würfelchen unterteilt, sodann in einer 3,7%igen Lösung von Formalin in Phosphatpuffer fixiert, in Propylalkohol dehydriert und in Glykolmetacrylat (Technovit 7100) eingebettet. 6 µm dicke Querschnitte werden mit einem Mikrotom hergestellt, 1,5 Stunden lang in Giemsa gefärbt und in Euparal auf dem Objektträger eingebettet.

Bei der Bildung von parenchymatischem Wundkallusgewebe eines Pappelstammes wurden zwei verschiedene Strategien der Kallusbildung beobachtet: Die eine ist durch vier Teilschritte charakterisiert: 1. Bildung von parenchymatischem Gewebe an den Wundrändern, gefolgt von 2. der Bildung eines Kambiums (eines Teilungsgewebes; vom lateinischen Wort *cambiare* = wechseln) innerhalb der parenchymatischen Zone als tangentielle Ausdehnung des ungestörten Gefäßkambiums, 3. Entstehung von radial orientiertem Xylem (Gefäßteil) und Phloem (Siebteil), und 4. von der Bildung von Kambialzellen mit Parallelorientierung zur Wundkante hin.

Es gibt aber eine zweite Strategie der Wundkallusbildung, welche in drei Teilschritte unterteilt werden kann: 1. Die Bildung von parenchymatischen Zellen an den Wundkanten, 2. die Entstehung eines neuen Wundkambiums innerhalb des differenzierten Phloemgewebes, gefolgt von 3. der Bildung von Wundxylem- und Wundphloemzellen (Abb. 1), welche die Tendenz haben, die Wunde seitlich abzudecken. Diese Wundzellen entstehen durch Dedifferenzierung der reifen sekundären Phloemzellen, gefolgt von einer Redifferenzierung in kambiales Gewebe.

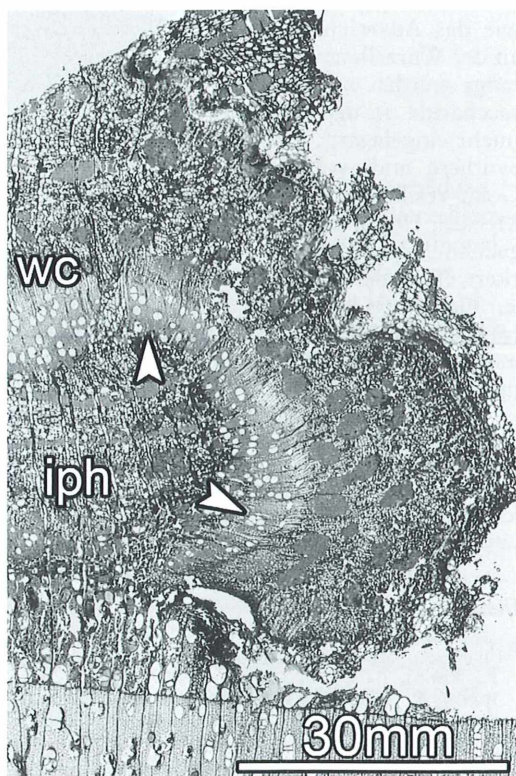
Beide Strategien können in der gleichen Verwundung und am gleichen Baumstamm vor-

kommen. Welche Rolle Hormone und/oder Wundhormone bei der Abdeckung verwundeter Flächen und der Lage des Wundkambiums spielen, ist bislang noch nicht klar.

#### Literaturhinweis

Frankenstein, C., Schmitt, W., Watkuw, C., Eckstein, E.: Wound callus formation – a microscopic study on poplar (*Populus tremula* L × *Populus tremuloides* Michx.). *Journal of Applied Botany and Food Quality* 79, 44–51 (2005).

H. F. Linskens, Nijmegen



**Abb. 1:** Querschnitt durch das laterale Ende der Wundkante, 42 Tage nach der Verwundung eines Pappelstammes. Lichtmikroskopie. Die Bildung des Wundxylems (Pfeile) und der Wundphloemzellen erfolgt durch das Wundkambium (WC); eingeschlossen ist das innere Phloem (iph). Foto freundlicherweise überlassen von Dr. Claus Frankenstein, Zentrum Holzwirtschaft, Universität Hamburg.

Mikrokosmos  
5/2005

510543  
Bibliothek des OÖ.  
Landesmuseums

Museumstraße 14  
4020 Linz

1

(6)

300229

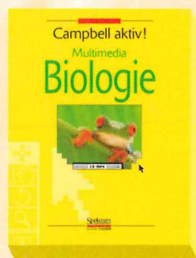
te Exemplare!

Bestellen Sie

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

www.elsevier.de

### ▶ Multimediale Ergänzung zum Buch



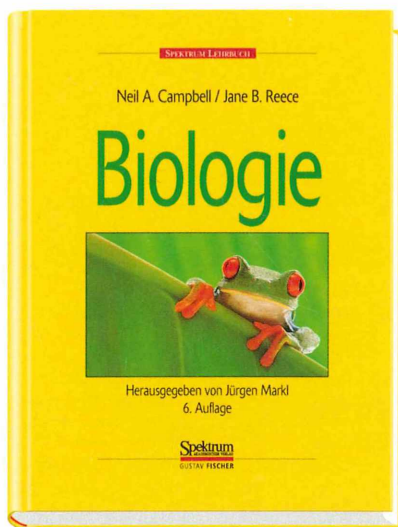
#### Dazu: **Campbell Aktiv! Multimedia-Biologie.**

Die multimediale Ergänzung zum Buch – mit interaktiven Lernmodulen, Grafiken des Buches u. v. m.

**Ideal für Selbststudium und Unterrichtsgestaltung.**

6. Aufl. 2004, 2 CD-ROM's,  
€ 60,- / sFr 96,-  
ISBN 3-8274-1527-6

**Der Bio-Trainer (Buch + CD-ROM im Paket):**  
€ 130,- / sFr 208,-  
ISBN 3-8274-1453-9



#### Neil A. Campbell / Jane B. Reece / Jürgen Markl **Biologie**

Campbell's *Biologie* veranschaulicht die komplette Biologie mit all ihren Teilfächern: Biochemie, Zellbiologie, Genetik, Mikrobiologie, Evolution, Biodiversität, Botanik, Zoologie und Ökologie – farbig und lebendig. Das gewichtige Buch begleitet jeden Biologie-Studenten wie auch Tausende von Biologie-Interessierten als zuverlässiger Begleiter durch Studium, Schule und zu Hause.

#### **! Vier Kilogramm Qualität!**

„Die 6. Auflage des Campbell ‚Biologie‘ ist 1606 Seiten dick und etwa vier Kilo schwer. Mit ihm können Sie ihren Dozenten erschlagen, falls er sie durch die Prüfung fallen lässt. (...) Das wichtigste bei einem Lehrbuch ist

### ▶ Der Traum eines jeden Biologie-Studierenden und Biologie-Lehrenden!

6. Aufl. 2003, 1.606 S., 1.673 Abb., geb.  
€ 90,- / sFr 144,-; ISBN 3-8274-1352-4

der Stil; der des Campbell ist lesbar und flüssig. (...) Eine Unzahl von Fotos und Abbildungen, im Durchschnitt zwei auf jeder Seite, machen die 6. Auflage des Campbell zur Augenweide. Vom australischen Riesenregenvurm bis zur Asselspinne schaut Sie alles mit großen Augen an. (...) Vom Campbell/Reece wurden von der ersten deutschen Auflage in fünf Jahren über 50 000 Exemplare verkauft. (...) Gottseidank verkaufen sich manchmal auch gute Bücher.“

#### **Laborjournal**

„Mehr noch, der Leser wird am Ende biologisches Denken gelernt haben, und das ist den Autoren zugute zu halten, die neben den Ergebnissen auch den faszinierenden (und oftmals mühseligen) Weg der Forschung beschreiben. (...) Doch das Wichtigste ist, dass mit diesem Buch nicht nur bei Experten der Spass an der Biologie geweckt wird.“

#### **Biologen Heute**

**Wissen was dahinter steckt. Elsevier.**