II 90372/97,4

ELSEVIER
URBAN & FISCHER

MIKROKOSMOS

Heft 4
97. Jahrgang
Juli 2008

www.elsevier.de/mikrokosmos

ISSN 0026-3680

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

MIKROKOSMOS Zeitschrift für Mikroskopie

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

Mitteilungsorgan für den Arbeitskreis Mikroskopie im Freundeskreis Botanischer Garten Köln, Arbeitskreis Mikroskopie im Naturwissenschaftlichen Verein zu Bremen, Arbeitskreis Rhein-Main-Neckar, Berliner Mikroskopische Gesellschaft e.V., Mikroskopie-Gruppe Bodensee, Mikroskopischer Freundeskreis Göppingen im Naturkundeverein Göppingen 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

193 *Paraquadrula discoides* – Ein seltener Kalkbildner unter den Testaceen
Chaim Glück

201 Mit dem Exkursionsmikroskop am Mittelmeer
Marine Preziosen: Radiolarien
Rudolf Drews

207 Mikroskopische Studien an Atmungsorganen
Siegfried Hoc

214 Einsatz digitaler Spiegelreflexkameras in der Mikrofotografie – Ein Erfahrungsbericht
Gerd Günther

221 Erweiterte Techniken zur Software-gestützten dreidimensionalen Rekonstruktion und Schärfeoptimierung mikrofotografischer Bilder
Jörg Piper

230 Der Ritt auf der Welle – Totale Interne Reflexionsmikroskopie (TIRFM)
Annett Burzlaff

232 Metamiktisierung und Korrosion – Mikroskopische Kristallzerstörungen bei akzessorischem Zirkon
Robert Sturm

238 Die Blüte des Gilbweiderichs – Öldepot und Nachtquartier
Hans Brogmus und Erich Lüthje

243 Mikrofotografie im Wandel der Zeit – Der TTL-gesteuerte digitale Mikroblitz für analoge und digitale Kameras mit ausgelagerter Blitzröhre im Doppelkollektor
Hans Jürgen Steinkohl

249 Inkohärent, kohärent, partiell kohärent – Zum mikroskopischen Auflösungsvermögen
Teil 3: Abbe'sche Betrachtungsweise
Hinrich Husemann

Rubriken

200, 206, 242
Buchbesprechungen

229
Kurze Mitteilung

213, 220
Nachrichten

254
Aus den Arbeitsgemeinchaften

255
Mikro-Markt

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

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

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

Umschlagabbildung: Ansammlung von *Dileptus anser*, dargestellt im differentiellen Interferenzkontrast.
Siehe Artikel G. Günther, S. 214–220.

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

Paraquadrula discoides – Ein seltener Kalkbildner unter den Testaceen

Chaim Glück

***Paraquadrula discoides* gehört zu den sechs seltenen beschalten Amöben der Gattung *Paraquadrula* aus der Familie der Testacealobosia, die ihre Schale aus selbst synthetisierten Kalkplättchen aufbaut (Idiosomen). Penard hatte diese Schalenamöbe 1893 erstmals beschrieben. 1932 schuf Deflandre die Gattung *Paraquadrula*, um diese Gattung von *Quadrulella* abzugrenzen, die ihre Schale aus Siliciumplättchen aufbaut.**

Mit durchschnittlich 30 µm Durchmesser (± 5 µm) bewohnt *Paraquadrula discoides* als kleinere Art typischerweise Waldmoose. Decloitre (1961) fand sie in Moosen feuchter Grotten und Heinis (1910) in feuchten Moosen auf Jurakalk in der Umgebung von Basel. Ihre Schale ist rundlich, seitlich deutlich abgeplattet und besteht aus circa 80 quadratischen, 5–6 µm messenden, durchsichtigen Kalzitplättchen, die bei mikroskopischer Betrachtung einen wogenden Lichtschein erzeugen (Abb. 1). Penard (1893) verglich *P. discoides* in Frontalansicht mit einem Schachbrett. Im Polarisationsmikroskop weisen sie zwischen gekreuzten Nicol-Prismen Doppelbrechung auf. Das terminale Pseudostom ist im Querschnitt oval (Abb. 2). Lobopodien dienen der Fortbewegung und der Nahrungsaufnahme (Abb. 3 und 4). Mittels breiter Epipodien wird die Zelle an die Schaleninnenwand geheftet. *P. discoides* besitzt einen Kern vom vesikulären Typ mit einem großen Nukleolus (Kernkörperchen). In Kernnähe arbeiten alternierend zwei sich gegenüberliegende kontraktile Vakuolen. Die Zyste von enzystierten Tieren ist rund, von variablem Radius, mit einem girlandenförmig gewellten Rand (Abb. 5).

Kalkbildner mit quadratischen Strukturen sind in der Testaceenwelt eher die Ausnahme. Entsprechend selten sind deren Fundorte. Ein solcher befindet sich an der Südflanke der Rigi, wo *P. discoides* ausschließlich entlang dem Altdorferbach zahlreich anzutreffen ist (im Durchschnitt 12 Individuen pro 4 cm^2 Moos). Die Rigi befindet sich in der Zentralschweiz an der Nahtstelle zwischen Mittelland und Alpen. Geologisch handelt es sich um eine Ansammlung kalkreicher Schutt- und Geröllablagerungen als Folge der Alpenfaltung. An der Südseite herrscht relativ mildes Klima mit geringen Temperaturschwankungen. Von Nordwinden geschützt werden die unteren Höhenlagen durch die Rückstrahlung des Vierwaldstätter Sees zusätzlich erwärmt. Warme Föhnwinde stauen sich über dem Seebecken und tragen zur Verlängerung der Vegetationsperiode bei (Frey, 1988). Zahlreiche kleine Bodenquellen am Berghang sorgen längere Zeit des Jahres für feuchte Sickerstellen, wo calziphile (kalkliebende) Moose wachsen. Allerdings versiegen diese Quellen während Schönwetterperioden in der Regel nach zwei bis drei Wochen.

In der vorliegenden Arbeit möchte ich über die Lebensweise und das Habitat von *P. discoides* sowie über deren Abhängigkeit von Umweltfaktoren berichten.

Material und Methode

Anlässlich von 27 Begehungen der Schlucht des Altdorferbaches oberhalb Vitznau (Schweiz) zwischen März 2002 und Mai 2007 wurden insgesamt 52 Mal Moose vor Ort mit der Faust ausgepresst und die Flüssigkeit in 500-ml-Gläsern aufgefangen. Die Gläser wurden jeweils datiert und der Standort der Entnahmestelle nach folgenden Kriterien schriftlich festgehalten: 1) Feuchtigkeitsgrad (0 = trockene Moose, + = wenige Tropfen auspressbar, ++ = 10–20 ml auspressbar, +++ = 30–150 ml, jeweils bezogen auf eine Handvoll Moose). 2) Moosart. 3) Gestein (Nagelfluhfels, Kalkfels). 4) Beschattung (+ = Moos auf freistehenden Felsen, ++ = höchstens halbtags sonnenexponiert, +++ = ganztags im Schatten von Bäumen). 5) Meereshöhe. 6) Be-

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

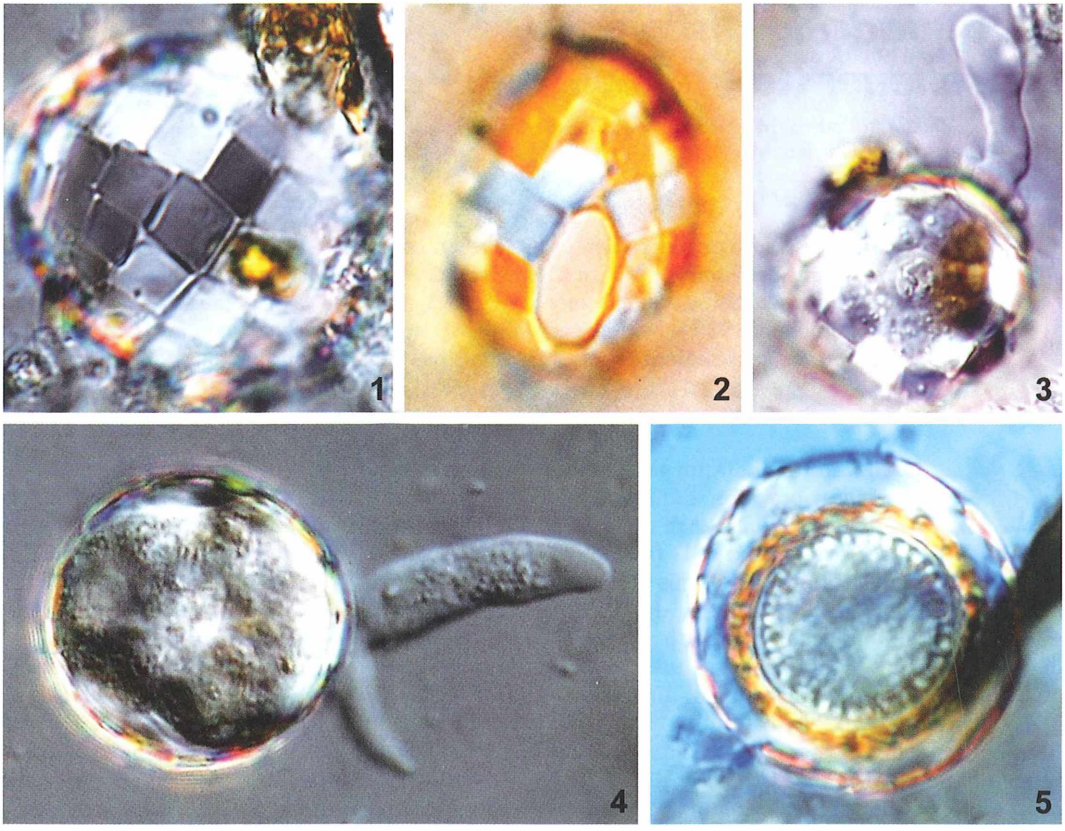


Abb. 1: *Paraquadrula discoides* in Frontalansicht. Vergr. 1000fach. – Abb. 2: Endständiges, ovales Pseudostom. Vergr. 1000fach. – Abb. 3 und 4: *P. discoides* verfügt über 1–3 Lobopodien mit meist körnchenreichem Endoplasma. Vergr. Abb. 3 1000fach, Abb. 4 1000fach. – Abb. 5: Raue Zyste von *P. discoides* in Frontalansicht mit girlandenförmig gewelltem Rand. Vergr. 1000fach.

stimmung der Wasserhärte und des CO_2-Gehaltes des Wassers aus den Sickerquellen. 7) Niederschlagsmenge (Durchschnitt ermittelt über das Bulletin Meteo Schweiz während des Monats vor jeder Probeentnahme). Die mikroskopische Untersuchung erfolgte mittels differenziellem Interferenzkontrast (Leica DMLB) bei 1.000facher Vergrößerung. Es wurden die plasmahaltigen und leeren Schalen gezählt, die Anzahl der Zysten und Teilungsfiguren erfasst, die Begleitfauna identifiziert und der Inhalt der Nahrungsvakuolen beurteilt.

Abiotische Faktoren

Die Untersuchungsresultate zeigen, dass das Vorkommen von *P. discoides* sowohl mit der Verfügbarkeit von hartem Quellwasser hoher $CaCO_3$-Konzentration als auch mit einer bestimmten Niederschlagsmenge korreliert (Tab. 1). Der durchschnittliche $CaCO_3$-Wert im Wasser von fünf Sickerquellen, die sich am Hang über den calziphilen, von *Paraquadrula* besiedelten Moosen befinden, beträgt 181 mg/l (± 5 mg); der Durchschnittswert für CO_2 liegt im gleichen Wasser bei 3,5 mg/l (± 0,3 mg). Auch Schönborn (1966) fand *P. discoides* in einem Tümpel mit kalkreichem Wasser auf den Spitzbergen.

Des Weiteren fällt auf, dass *P. discoides* nur in calziphilen Moosen anzutreffen ist (Tab. 2). Die Fundorte befinden sich fast ausschließlich an schattigen Orten auf feuchten Kalkfelsen (Tab. 3–5). Am zahlreichsten waren die Tiere auf einer Höhenstufe zwischen 530 und 630 m

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

Tabelle 1: *Paraquadrula* und durchschnittliche Niederschlagsmenge der den Probeentnahmen vorangehenden vier Wochen (Entnahme an drei schattigen Orten).

Paraquadrula / Niederschlagsmenge	plasmahaltig	enzystiert	symmetrische Teilungsfigur	asymmetrische Teilungsfigur	leer
durchschnittlich (±15%)	19	12	8	7	4
überdurchschnittlich (>115%)	39	27	25	3	5
unterdurchschnittlich (<85%)	11	22	2	15	18

Tabelle 2: Besiedlung calziphiler Moosarten durch *Paraquadrula discoides*.

P. discoides / Moosarten	plasmahaltig	enzystiert	in Teilung	leer
Neckera crispa (n = 5)	10	4	0	5
Hylocomnium splendens (n = 5)	3	0	0	3
Ctenidium molluscum (n = 7)	7	5	5	0
Cratoneuron commutatum (n = 6)	18	12	8	4
Tortella tortuose (n = 4)	9	6	6	4
Scapania aequilpbia (n = 5)	18	10	12	0

(n = Probenanzahl)

Tabelle 3: *Paraquadrula discoides* in Abhängigkeit vom geologischen Untergrund.

P. discoides / Untergrund	plasmahaltig	enzystiert	in Teilung	leer
Nagelfluhfelsen* (n = 14)	12	5	7	5
Kalkfelsen (n = 14)	28	20	16	8

(n = Probenanzahl)

* Nagelfluh ist ein Konglomeratsgestein und gehört geologisch zur Molasse. In einer verbackenen Masse sind abgerundete Gesteinsbrocken eingeschlossen. An der Rigi ist die Nagelfluh häufig anzutreffen.

Tabelle 4: *Paraquadrula discoides* in Abhängigkeit vom Beschattungsgrad der Habitate.

P. discoides / Beschattungsgrad	plasmahaltig	enzystiert	in Teilung	leer
+ (n = 12)	0	0	0	0
++ (n = 12)	4	6	10	10
+++ (n = 12)	25	17	12	4

+ = Moos auf freistehenden Felsen, ++ höchstens halbtags sonnenexponiert, +++ ganztags im Schatten von Bäumen

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

Tabelle 5: *Paraquadrula discoides* in Abhängigkeit vom Feuchtigkeitsgrad des Habitats.

Feuchtigkeitsgrad \ *P. discoides*	plasmahaltig	enzystiert	in Teilung	leer
0 (n= 8)*	0	0	0	1
+ (n= 8)	0	0	0	3
++ (n= 8)	10	36	20	16
+++ (n= 8)	98	48	40	20
+++ (n = 12)	25	17	12	4

* angefeuchtet und danach ausgepresst

0 trockene Moose, + wenige Tropfen auspressbar, ++ 10–20 ml auspressbar, +++ 30–150 ml, jeweils bezogen auf eine Handvoll Moose

Tabelle 6: *Paraquadrula discoides* in Korrelation zur Meereshöhe.

Höhe über dem Meeresspiegel \ *P. discoides*	plasmahaltig	enzystiert	in Teilung	leer
530–630 (n = 8)	38	28	19	14
630–730 (n = 8)	14	10	2	10
730–830 (n = 8)	6	0	0	2
830–930 (n = 8)	2	0	0	2
930–980 (n = 8)	0	0	0	0

über dem Meeresspiegel (Tab. 6). Andere Fundorte konnten bisher in der gesamten Rigi-Region nicht entdeckt werden. Dies deutet darauf hin, dass sich die biogeografischen Faktoren, die bei der Entwicklung und Vermehrung von *P. discoides* eine wesentliche Rolle spielen, in engen Grenzen bewegen. Deshalb handelt es sich bei *P. discoides* um eine so genannte stenopotente Thekamöbe, deren Vitalität sich nur in einem schmalen Toleranzbereich abspielt. Die Populationsgröße entlang dem Altdorferbach scheint ausreichend zu sein, um auch ungünstigere Zeiten zu überstehen. Nach der extremen Sommerhitze im Jahr 2003 kam es in Folge der Trockenheit zu einem erheblichen Absterben der Population. Während der nachfolgenden Monate mit überdurchschnittlichen Niederschlagsmengen war der Vorzustand nach 6 Monaten wieder erreicht.

Bei den untersuchten Moosen handelt sich um den überwiegenden Anteil der entlang des Altdorferbaches wachsenden Arten. Es handelt sich durchwegs um calziphile Moose, wobei in *Scapania aequilobia*, einem Bioindikator für hohe Kalkkonzentrationen, die höchste Anzahl *Paraquadrula discoides* nachgewiesen werden konnte.

Biotische Faktoren

Was die Wechselwirkungen zwischen anderen Organismen anbetrifft, so ist es interessant zu vermerken, dass in den Moosproben nur sehr selten oder gar keine Fressfeinde wie *Nebela* oder *Heleopera* vorkommen (Tab. 7). Als steter Begleiter von *P. discoides* ist die ebenfalls calziphile *Hyalosphenia insecta* zu verzeichnen. Diese Beobachtung hatte schon Bonnet in seiner Publikation aus dem Jahre 1989 festgehalten. Er beschreibt diese Erscheinung sogar als *Hyalosphenietum insectae*-Assoziation.

Nahrungsaufnahme

Deflandre konnte sich 1932 noch nicht sicher zur Beschaffenheit der Nahrung von *P. discoi-*

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

Tabelle 7: Begleitfauna.

Organismen	Häufigkeit (Anzahl pro ausgepresster Moosprobe)
Actinophrys vesiculata	12
Blepharisma sp.	11
Bryocamptus minutus	14
Centropyxis aerophila	9
Cyclidium glaucoma	8
Difflugia lucida	23
Euglypha rotunda	9
Halteria sp.	13
Hyalosphenia insecta	24
Nebela bohemica	6
Phryganella acropodia	19
Quadrulella symmetrica	18
Trigonopyxis arcula	4
Trinema enchelys	28
Bärtierchen	16
Milben	8

des äußern. Meisterfeld postulierte 2002, dass *P. discoides* herbivor sei. Aufgrund der transparenten Schale können im Zytoplasma meistens kugelige Algen von 5 bis 8 µm Durchmesser nachgewiesen werden, die als Bestandteil der Mikroflora in den betreffenden Moosen vorkommen (Abb. 6). In der Regel sind diese semiterrestrischen Algen von einer Gallerthülle umgeben, weshalb man sich fragen muss, wie *P. discoides* an die einzelnen Zellen herankommt. Es gelang mir mehrmals zu beobachten, wie *P. discoides* zielsicher auf diese in Gallerthüllen eingelagerten Algenzellen zusteuert, als bestände eine chemotaktische Anziehung auf die Gallerthüllen hin. Sobald *P. discoides* genügend nahe an die Gallerte herangekrochen ist, bohrt sie mit einem ihrer Pseudopodien ein Loch in die Gallerte, die sich an der Kontaktstelle mit dem Pseudopodium zusehends verflüssigt, sodass sie sich eine, zwei oder drei Algenzellen ohne Mühe aus dem Gallertlager einverleiben kann. Daneben können im Zytoplasma bisweilen auch Kieselalgen beobachtet werden, aber nie tierisches Material, sodass die Feststellung von Meisterfeld bestätigt werden kann.

Fortpflanzung und Enzystierung

Aus den Untersuchungsresultaten geht hervor, dass während regenreicher Perioden in den Moosproben vorwiegend unauffällige Tiere mit zwei bis drei lebhaften Pseudopodien und deutlich erkennbaren Nahrungsvakuolen im Zytoplasma nachweisbar sind. Hingegen dominieren während niederschlagsarmen Zeiten die typischen rauen Zysten von *P. discoides*, die in Seitenansicht quadratisch sind (Abb. 7), überdies vereinigte Individuen, zum Teil gleicher, zum Teil unterschiedlicher Größe, Pseudostom auf Pseudostom (Abb. 8–10). Mal sind beide Schalen plasmahaltig, mal nur eine und schließlich befindet sich in einer der beiden Schalen nur noch eine Zyste. Während der Regenzeit sind Teilungsvorgänge geradezu symptomatisch. Es geht in ähnlicher Weise vonstatten, wie dies zum Beispiel Gruber (1881) an *Euglypha alveolata* beobachtet hatte: *Bereitstellung der Schalenplättchen, Hervorquellen des Zytoplasmas aus der Mutterschale, Bildung einer "Knospe", in diese dringen die Schalenplättchen ein, die sich an ihrer Oberfläche in gewisser strenger Anordnung aneinander lagern und sich verkitten* ... Meine langjährigen Beobachtungen deuten darauf hin, dass die Teilungsvor-

Abb. 6: Zwei semiterrestrische Algen im Zytoplasma. Gut erkennbar eine kontraktile Vakuole. Vergr. 1000fach. – Abb. 7: In Seitenansicht ist die raue Zyste annähernd quadratisch. Vergr. 1000fach.

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

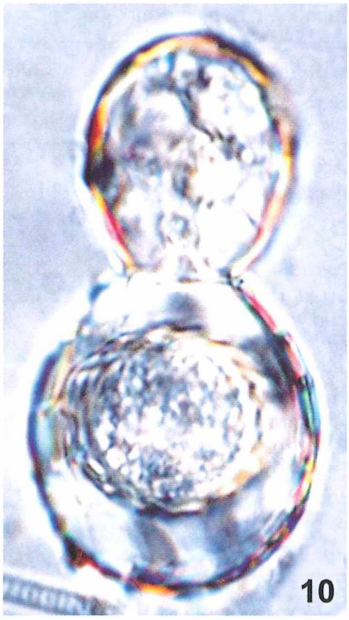


Abb. 8: Abortive Teilungsfigur während einer Trockenperiode. Die Mutterzelle hat sich enzystiert. Vergr. 1000fach. – Abb. 9: Je nach dem Zeitpunkt des Beginns der Trockenzeit können die Tochterschalen gleich groß wie die Mutterschalen sein. Vergr. 1000fach. – Abb. 10: Hier hat sich die Mutterzelle noch vor der plasmogamischen Rückverschmelzung enzystiert. Vergr. 1000fach.

gänge bei *P. discoides* nach Sonnenuntergang deutlich zunehmen, und dass die Teilungsfrequenz in den Herbstmonaten ein Maximum erreicht.

In der Regel sind bereits 48 Stunden nach Beendigung des Regenwetters Teilungsanomalien erkennbar, indem die Knospe sich nicht mehr ausreichend entwickelt, zu klein bleibt und aus dem Tochterindividuum eine abortive Form (asymmetrische Teilungsfigur) entsteht. Das Plasma in der zu klein geratenen Schale wandert stets zurück, sodass es zur plasmogamischen Rückverschmelzung im Mutterindividuum kommt, gefolgt von einer Zystenforma-

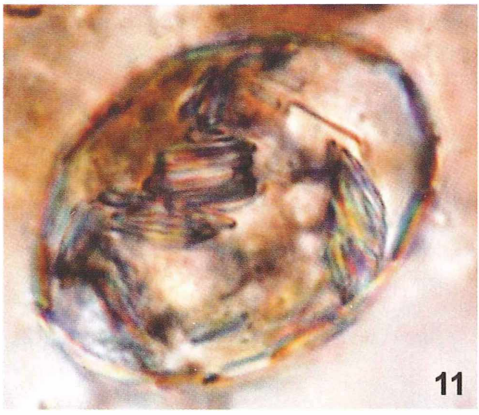


Abb. 11: Vor der Teilung werden die Idiosomen in der Mutterzelle gespeichert und dann in die Plasmaknospe transportiert. Vergr. 1000fach. – Abb. 12: Beginn einer unauffälligen Teilung durch Bildung einer Knospe. Rechts eine leere Schale einer *Hyalosphenia insecta*. Vergr. 400fach.

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

tion. Die soeben beschriebene plasmogamische Rückverschmelzung hat Schönborn bereits 1965 in einer Rohkultur mit *P. discoides* nachgewiesen.
Nach der Kernteilung verharrt der zweite Kern bei trockenem Wetter stets im Mutterindividuum. In den letzten fünf Jahren ist es mir nie gelungen, eine Karyogamie zu beobachten. Bei einsetzendem Regen exzystieren die Mutterzellen und setzen nach Aufbereitung der Reserveplättchen zum erneuten Teilungsprozess an (Abb. 11 und 12). Bei anhaltendem Regen können wieder unauffällige Teilungen registriert werden, wobei der Kern fast stereotyp erst nach Beendigung der Schale ins Tochterindividuum wandert.
Die Tatsache, dass die meisten Autoren in ihren Publikationen relativ häufig von Zysten berichten, könnte auch damit zusammenhängen, dass man üblicherweise eher bei trockenem Wetter unterwegs ist. Deflandre (1952) bezeichnete die Zysten bei *P. discoides* nicht ganz zu Unrecht als Schutzzysten. Tatsächlich wird die Zyste bei *P. discoides* von einer derben Haut umgeben, was vor Verdunstung während Trockenperioden gut schützen dürfte.

Diskussion

Lüftenegger und Foissner (1991) ist es gelungen, bei *Paraquadrula irregularis* eine Karyogamie mittels Silberimprägnation nachzuweisen. Leider konnte der weitere Verlauf in den Präparaten nicht beobachtet werden, sodass unklar bleibt, ob es sich um eine Karyogamie von Mutter- und Tochterzellen handelte, oder ob es sich sogar um zwei verschiedene Zellen handelte, was einer echten Kopulation gleichkäme. Dazu bemerkte Schönborn (1966), dass bei einer Kernverschmelzung sich die Zahl der Chromosomen verdoppeln müsste, sodass im Entwicklungskreis irgendwann eine Reduktionsteilung stattfinden sollte. Eine solche Chromosomenreduktion ist aber in der gesamten Thekamöben-Literatur nie beobachtet worden. Valkanov (1965) wies darauf hin, dass eine Reihe von Autoren wie zum Beispiel Penard, Rhumbler und Cash bei der Fortpflanzung der Testaceen geschlechtliche Vorgänge vermuteten, was sie mit Konjugation bezeichneten, wobei ein Austausch von Kernen oder Kernteilen stattfinden würde. Solche geschlechtlichen Vorgänge werden von Grospietsch (1958) in seinem Bestimmungsbuch der Wechseltierchen klar in Abrede gestellt.
Die hier vorgestellten Ergebnisse machen deutlich, dass *P. discoides* an der Südflanke der Rigi entlang dem Altdorferbach zum häufigsten Moosbewohner gehört. Die Umweltfaktoren in diesem Habitat dürften für deren Vitalität optimal sein. Außerhalb der Altdorferbachschlucht ist *P. discoides* nicht mehr nachweisbar, was auf seine eingeschränkte ökologische Potenz hinweist. Die Fortpflanzung von *P. discoides* scheint stark von klimatischen Faktoren abhängig zu sein. Nur ab einer bestimmten Niederschlagsmenge können unauffällige Zweiteilungen beobachtet werden. Bei zunehmender Trockenheit kapseln sich die Tiere mittels typischer Zystenbildung ab, und es können unvollständige Teilungsfiguren beobachtet werden. Die hohe Individuenzahl hängt zumindest teilweise auch mit einem Mangel an anderen Moos bewohnenden räuberischen Testaceen zusammen. Meine Beobachtungen bestätigen, dass *P. discoides* rein herbivor ist.

Danksagung

Für das rege Interesse am Fortschreiten dieser Untersuchung und für die Hilfsbereitschaft mannigfacher Art möchte ich Herrn Dr. W. Schönborn, Jena, meinen herzlichen Dank abstatten. Desgleichen schulde ich Herrn Dr. R. Meisterfeld, Aachen, für die wertvolle Literatur meinen besten Dank. Meine beiden Schwestern, Blanche und Selene, waren mir verschiedentlich behilflich, ihnen beiden gilt mein gebührender Dank.

Literaturhinweise

Bonnet, L.: Données écologiques sur quelques Hyalospheniidae et Paraquadrulidae (Thécamoebiens) des sols (première partie). Bull. Soc. Hist. Nat., Toulouse 125, 17–22 (1989).
Decloitre, L.: Le genre *Paraquadrula* (Thekamoebina). Int. Rev. ges. Hydrobiol. 46, 321–330 (1961).
Deflandre, G.: *Paraquadrula* nov. gen. *irregularis* (Archer). Conjugaison et enkistement. Comp. Rend. Séances Soc. Biol. 109, 1346 (1932).
Deflandre, G.: Thécamoebiens (Rhizopoda testacea). In: P.- P. Grassé (ed.): Traité de Zoologie I, fasc. 2, 97–148, Masson et Cie, Paris 1953.
Frey, R.: Rigi. Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft Luzern, 30. Band, Luzern. Grafisches Unternehmen Willisauer Bote, Willisau 1988.
Grospietsch, Th.: Wechseltierchen (Rhizopoden). Kosmos Verlag, Franckh, Stuttgart 1958.
Gruber, A.: Der Teilungsvorgang bei *Euglypha alveolata*. Zeitschrift für Wiss. Zool. 35, 431–439 (1881).

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

Heinis, F.: Systematik und Biologie der moosbewohnenden Rhizopoden, Rotatorien und Tardigraden der Umgebung von Basel. Archiv Hydrobiol. Planktonkd. 5, 89–166 und 217–256 (1910).
Lüftenegger, G., Foissner, W.: Morphology and biometry of twelve soil testate amoebae (Protozoa, Rhizopoda) from Australia, Africa and Austria. Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Zool.) 57, 1–16 (1991).
Meisterfeld, R.: Order Arcellinida Kent. In: Lee, J. J., Leedale, D. F., Bradbury, P. (eds.): An illustrated guide to the protozoa, 2nd ed., pp. 827–860. Society of Protozoologists, Allan Press, Lawrence, Kansas 2002.
Penard, E.: *Pelomyxa palustris* et quelques organisms inférieurs. Arch. de Sciences Phys. et Nat. 29, 165 (1893).
Penard, E.: Faune rhizopodique du bassin du Léman. Kündig, Genève 1902.
Schönborn, W.: Beobachtungen an der Zellteilung von *Paraquadrula* (Testacea). Limnologica 3, 235–238 (1965).
Schönborn, W.: Beschalte Amöben (Testacea). Die Neue Brehm Bücherei. A. Ziemsen Verlag, Wittenberg Lutherstadt 1966.
Schönborn, W.: Beitrag zur Ökologie und Systematik der Testaceen Spitzbergens. Limnologica (Berlin) 4, 463–470 (1966).
Valkanov, A.: Über die Fortpflanzung der Testaceen (Rhizopoda-Testacea). Izvestia na zoologicleskiye Institut, S. Muzei, Sofiya 22, 5–49 (1965).
Witterungsberichte der Jahre 2002 bis 2007: Eidgenössisches Departement des Innern (E.D.I.), Bundesamt für Meteorologie und Klimatologie Meteo Schweiz; Krähbühlstrasse, 8044 Zürich.

Verfasser: Chaim Glück, Flossenmatt 12, CH-6045 Meggen, Schweiz

Buchbesprechung

Haeupler, H., Muer, Th.: Bildatlas der Farn- und Blütenpflanzen Deutschlands, 2. Auflage. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart 2007, 789 Seiten, gebunden, rund 4.050 Farbfotos, 140 Detailzeichnungen, € 49,90, ISBN 978-3-8001-4990-2.

Dieses gewichtige Standardwerk genießt seit seinem Erscheinen im Jahre 2000 einen ausgezeichneten Ruf. Was gab es da noch zu verbessern?
In Zahlen: Aus 3.900 Farbfotos wurden rund 4.050, verbunden mit einem Zuwachs um die Seiten 719–749. Im Einzelnen konnten circa 2.800 Änderungen vorgenommen werden. So erwiesen sich, wie die Autoren in anerkennenswerter Offenheit vermerken, 33 Fotos der 1. Auflage als falsch und wurden durch richtige ersetzt (bei der Fülle der Aufnahmen ein Fehlerquotient unter 1 Prozent!).
Ein Blick in medias res: Unverändert bleiben die Bildtafeln und der Aufbau des beschreibenden Textes – Name der Pflanze und Autor, deutscher Name, dann (immer noch herb wie ein Kräuterlikör und gewöhnungsbedürftig) die verschlüsselten Daten zu floristischem Status, Lebensform, Blattausdauer, Verbreitung u. a., in der Neuauflage allerdings rascher zu erschließen durch einen Blick auf den vorderen Innendeckel. Danach folgen morphologische Kurzbeschreibungen (oftmals mit guten Angaben besonders bei kritischen Arten) für eine sichere Bestimmung. Gewiss eignet sich das 2,6 Kilogramm schwere Opus eher zur Überprüfung und Verifizierung am Schreibtisch denn als Vademecum. Es ergänzt damit in idealer Weise etwa den einschlägigen 3. Band des Rothmalers (*Exkursionsflora, Atlasband*).
Prächtige Fotos, exzellente Druckqualität; feinste Farbabstufungen bei Blüten und Grüntönen – diese „komplette Ikonographie der deutschen Flora" ist eine Augenweide! Für knapp 50 € dürfte nichts Vergleichbares auf dem Markt sein.

Erich Lüthje, Kiel

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

Mit dem Exkursionsmikroskop am Mittelmeer Marine Preziosen: Radiolarien

Rudolf Drews

Gewöhnlich assoziieren wir mit dem Begriff Radiolarien sofort die Kreis- oder Typenplatten fossiler Radiolarienskelette von Barbados, oder wir denken an die wundervollen Darstellungen in Ernst Haeckels *Kunstformen der Natur*. Ein Aufenthalt am Mittelmeer bietet jedoch einen Höhepunkt im Dasein eines Mikroskopikers: Selbst einmal Radiolarien zu erbeuten – und dazu sogar lebende!

Obgleich schon mehrfach im MIKROKOSMOS über Radiolarien berichtet wurde, wird die Thematik erneut aufgegriffen, insbesondere um auch einmal den natürlichen Farbaspekt dieser Einzeller zu dokumentieren.

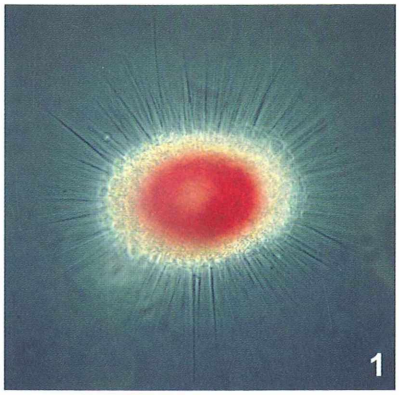
Die Technik

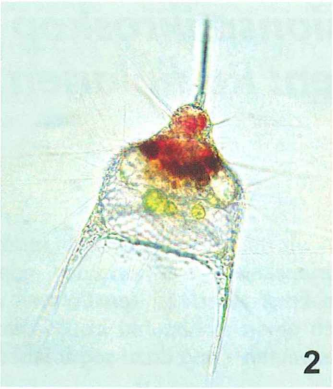
Für den Fang der Radiolarien wurde ein Plankton-Wurfnetz (Maschenweite 65 µm) verwendet. Der Fangort war die Felsküste im Süden Mallorcas. Besonders nach länger andauerndem ablandigen Wind war die Ausbeute an selteneren Formen ergiebig, da diese aus größerer Wassertiefe heraufbefördert wurden. Der Fang wurde in einem vollständig mit Seewasser gefüllten Thermosgefäß sofort zum Mikroskopierplatz gebracht und dort mit einem kleinen Planktonsieb konzentriert. Mit der Pipette wurde eine kleine Planktonprobe (die natürlich außer Detritus noch etliche andere Organismen enthielt) entweder in eine Objektträgerküvette oder auf einen Objektträger mit Deckglasstützen gebracht. Auf diese Weise wurden die Stacheln der Radiolarien vor dem Zerdrücken geschützt.
Nachteilig wirkte sich dieses Verfahren natürlich für die volle Leistungsausnutzung der Objektive höherer Maßstabszahl aus. Auch die räumliche Ausdehnung der Radiolarien stellte die fotografische Erfassung des gesamten Organismus vor Probleme. Es wurden für die Dokumentation die Objektive 16×, 20× und 40× benutzt sowie eine kleine Digitalkamera mit einem fest angebrachten Okular.

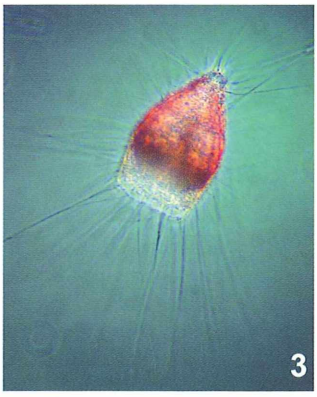
Formen und Zellbau

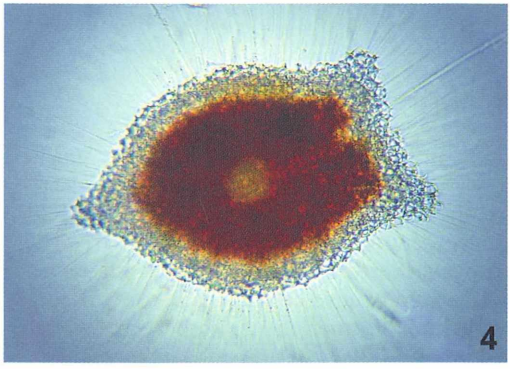
In einem Zeitraum von dreimal sechs Wochen in verschiedenen Jahren konnten mindestens dreißig bis vierzig verschiedene Arten beobachtet werden, von denen die Acanthareen am häufigsten vertreten waren. Polycystineen (Abb. 1–4) waren ebenso selten wie besonders große und schöne Formen der Acanthareen. Vertreter anderer Radiolariengruppen kamen nicht vor. Die Größen lagen (inklusive Skelettnadeln) zwischen 65 und 470 Mikrometern.
Radiolarien sind ausgesprochene Planktonformen mit verschiedenen Einrichtungen, welche das Schweben im Wasser ermöglichen: Oberflächenvergrößerung durch Nadeln, Stacheln, poröse Skelette und vakuolisiertes Cytoplasma; Senkung des spezifischen Gewichts durch Einlagerung von Öltropfen. Allen Radiolarien gemeinsam sind zahlreiche, jeweils von einem Achsenstab gestützte und daher starre Axopodien (Abb. 1, 4, 9, 12). Auch Heliozoen besitzen sie, weshalb man Radiolarien und Heliozoen früher in die Gruppe Actinopodeen zusammenfasste. Weiterhin ist eine von Poren durchbrochene Membran aus organischem Material zwischen Endo- und Ektoplasma für Radiolarien bezeichnend. Sie ist bei lebenden Formen nur schwer zu erkennen und bedarf ebenso wie die Zellkerne zur Sichtbarmachung einer speziellen Anfärbung. Das membranumhüllte Endoplasma wird Zentralkapsel genannt. Diese enthält die üblichen Zellorganellen wie Kern (einer bis viele), Mitochondrien und Golgi-Apparat. Hinzu kommen symbiontische Algen aus der Gruppe der Dinoflagellaten (hier Zooxanthellen genannt), Pigmente, Fett-

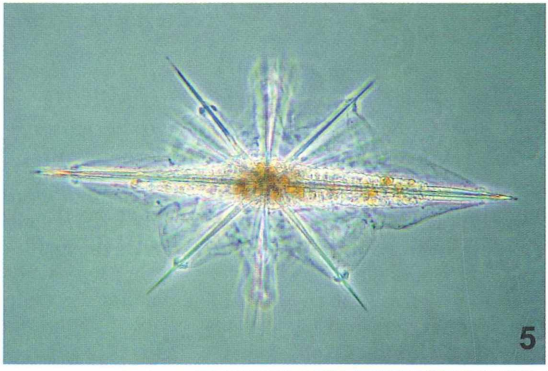
© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

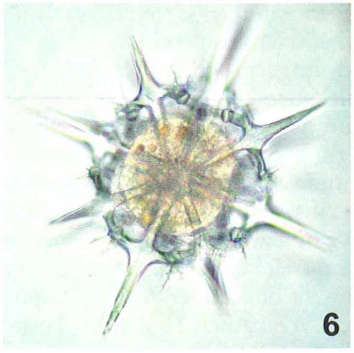


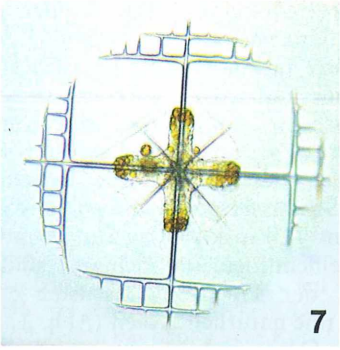


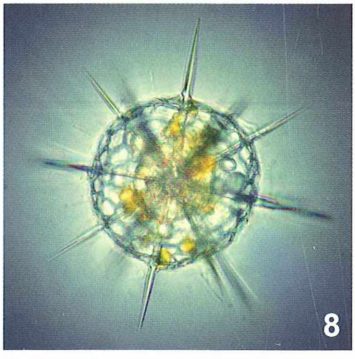


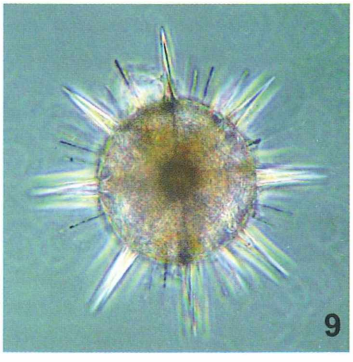


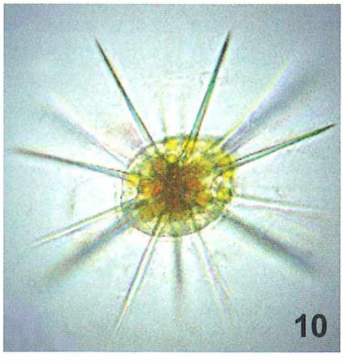


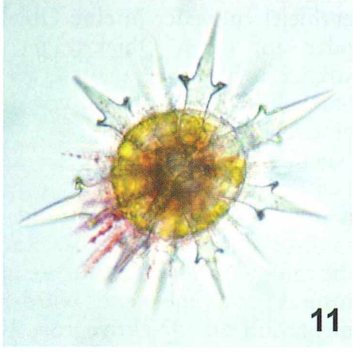












© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

kügelchen und andere Stoffwechselprodukte. Die Stacheln der Acanthareen sowie die Axopodien nehmen hier ihren Ausgang.
Das Ektoplasma ist mehr oder weniger stark vakuolisiert (Abb. 5, 13, 14, 18, 19). Durch die Membranporen steht es mit dem Endoplasma in Verbindung. Es kann ebenfalls Fettkugeln enthalten, und es ist der regelmäßige Sitz der Zooxanthellen bei den Polycystineen (Abb. 2). Sofern zusätzlich Filopodien vorkommen, haben diese hier ihren Ursprung. Auch die vielgestaltigen Kieselskelette, mit denen wir den Begriff Radiolarien verbinden, sind Produkte des Ektoplasmas.

Polycystineen

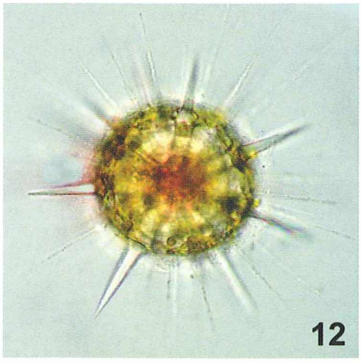
Die Polycystineen zeichnen sich durch ein Skelett aus Siliziumdioxid (Kieselsäure, Quarz) aus. Es ist bei den Spumellariden (Peripyleen) radiärsymmetrisch gebaut und besteht aus einer oder mehreren konzentrischen Gitterkugeln, welche die allseitig und gleichmäßig perforierte Zentralkapsel umgeben. In der Gruppe der Spongodisciden ist das Skelett von schaumiger Struktur (Spongoidschale; Abb. 1 und 4). Die Nasselariden (Monopyleen; Abb. 2 und 3) haben ein konisches, korbähnliches Skelett, und ihre Zentralkapsel besitzt nur eine Öffnung. Die Zooxanthellen der Polycystineen befinden sich ausschließlich im Ektoplasma. Außer Axopodien kommen auch Filopodien vor.
Weil Siliziumdioxid nicht wasserlöslich ist, sind die Skelette fossil erhalten. Hier ist der Aufbau der Skelette gut zu erkennen, während bei den lebenden Formen Plasmabestandteile, Stoffwechselprodukte und Zooxanthellen den Einblick in das Innere weitgehend verwehren.

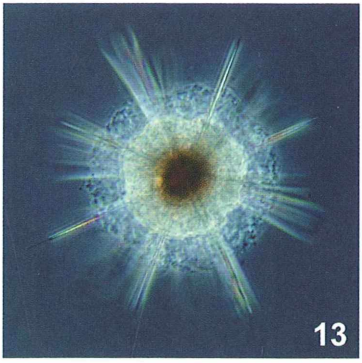
Acanthareen

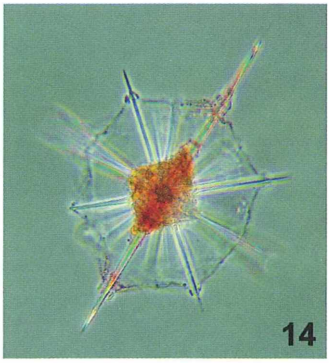
Das Skelett der Acanthareen ist häufig ein Gebilde aus Nadeln, welche strahlenförmig und gleichmäßig von einem Zentrum aus ihren Ursprung nehmen. Es ist nicht so einfach, diese zu zählen. Meistens sind es 10 oder 20. Nach Haeckel können es auch 16 oder mehr als 20 sein. Ihre Verteilung folgt dem so genannten Müller'schen Gesetz (Abb. 21). Zwanzig Nadeln sind derart angeordnet, dass die Verbindungslinien zwischen jeweils vier Nadelspitzen fünf Parallelkreise bilden. Die Nadeln des einen Kreises stehen zu denen des Nachbarkreises um 45 Grad versetzt. Haeckel schreibt: *Die zwanzig Stacheln sind hier immer dergestalt zwischen den beiden Polen einer stachellosen vertikalen Hauptachse verteilt, dass sie fünf Gürtel von je vier Stacheln bilden; die vier Stacheln jedes Gürtels sind gleich weit voneinander und auch gleich weit von demselben Pol entfernt und alternieren so mit denen der benachbarten Gürtel, dass alle zwanzig zusammen in vier Meridianebenen liegen, die sich unter Winkeln von 45 Grad schneiden.* Wenn man den Äquatorgürtel betrachtet, so liegen hier vier Stacheln in einer Ebene; senkrecht darauf steht die Hauptachse. Die Formenvielfalt der Acanthareen ergibt sich aus der Abwandlung der Nadellängen und -dicken und aus dem Querschnitt. Dieser kann rund, elliptisch, vierkantig oder zweischneidig sein. Seitliche Nadeläste

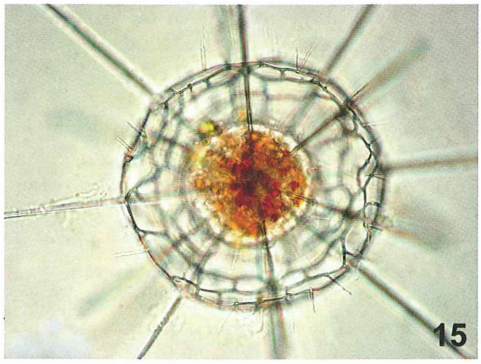
◄ Abb. 1–4: Polycystineen. Abb. 1 und 4: Spongoide Polycystineen (Spongodisciden) mit zahlreichen Axopodien. Abb. 2 und 3: Nasselariden mit Axo- und Filopodien. In Abbildung 2 sind die symbiontischen Algen gut zu erkennen. – Abb. 5: Acantharee mit zwei besonders langen Stacheln in der Äquatorebene. Myophrisken an den Stachelenden spannen das zarte Ektoplasma. – Abb. 6: Gitterkugel (Acantharee) aus derben Skelettelementen. Im Innern zeichnet sich heller die Zentralkapsel ab. – Abb. 7: Eine häufig abgebildete flächig gebaute Acantharee. Jeder der vier Hauptstacheln kann bis zu vier Seitenäste tragen, die wie hier miteinander zu einem Gitter verbunden sind. Im Innern umgibt die Zentralkapsel kreuzförmig die Basis der Hauptstacheln. Gut erkennbar sind die gelbbraunen kugeligen Zooxanthellen. – Abb. 8: Gitterkugel (Acantharee) mit ektoplasmatischen Öltropfen und ekto- und endoplasmatischen Zooxanthellen. – Abb. 9: Gitterkugel (Acantharee) im Phasenkontrast. Mehrere Axopodien sind gut zu erkennen, ebenso die Begrenzung der Zentralkapsel. – Abb. 10: Diese Acantharee sowie die in Abbildung 5 dargestellte gehören zu den häufig anzutreffenden Formen. Das zarte Ektoplasma ist schnell vergänglich, während das robustere Endoplasma im mikroskopischen Präparat länger erhalten bleibt. – Abb. 11: Gitterkugel (Acantharee) mit 12 robusten, ungewöhnlich geformten Hauptstacheln.

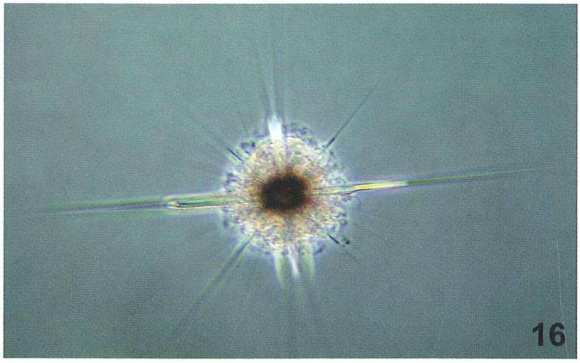
© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

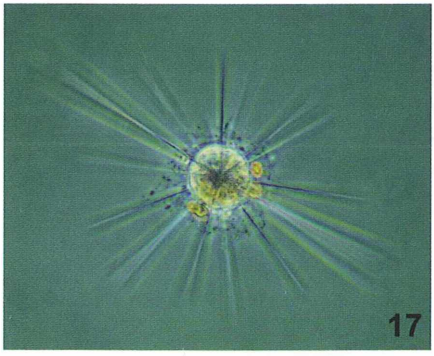


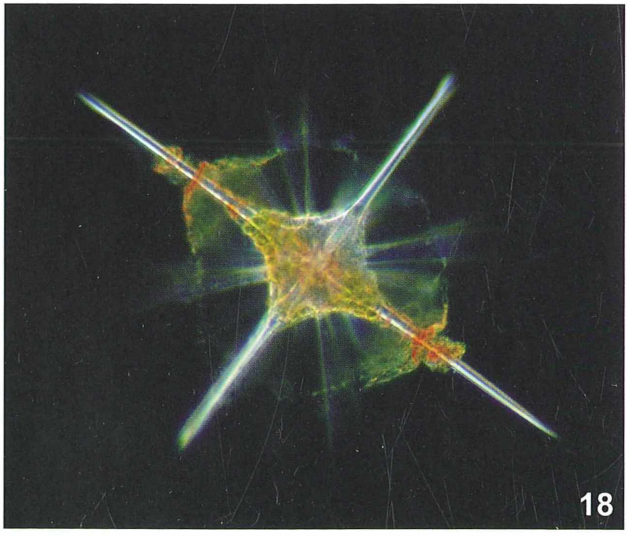


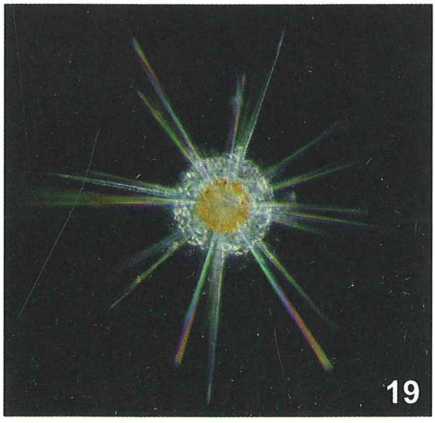


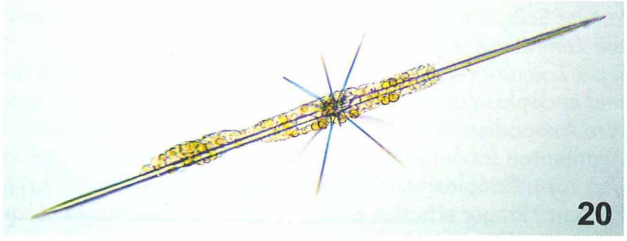












© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

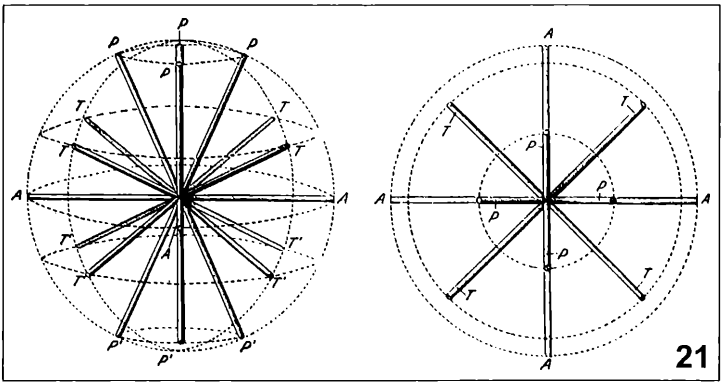


Abb. 21: Zeichnerische Verdeutlichung des Müller'schen Gesetzes (aus Kühn, 1926).

können mit benachbarten verschmelzen und insgesamt zum Aufbau einer Gitterkugel führen (Abb. 6, 8, 12, 15). Die Gruppe der Phractopeltiden hat zwei Gitterkugeln. Aber auch hier stoßen die Nadeln im Zentrum zusammen. Somit handelt es sich auch hier um Acanthareen.

Die Skelettsubstanz der Acanthareen ist Strontiumsulfat. Da es sich im Wasser auflöst, gibt es keine Fossilien. Lebendes Plasma, das alle Skelettteile umhüllt, dient als Auflösungsbarriere. Junge Individuen besitzen nur einen Kern, ältere viele. Die Zooxanthellen liegen meistens innerhalb der Zentralkapsel. Sie kommen aber ebenso wie Öltropfen auch im Ektoplasma vor. Das Endoplasma kommuniziert durch Fortsätze, welche die Poren der Zentralkapselmembran durchdringen, mit dem Ektoplasma. Auch die Axopodien bedienen sich dieser Durchlässe und treten durch das Ektoplasma nach außen.

Eine Besonderheit einiger Acanthareen sind die so genannten Myophrisken (Abb. 5 und 22). Es sind dies Bündel quergestreifter kontraktiler Fibrillen, die am distalen Nadelteil und an der Plasmaaußenmembran (Cortex) angeheftet sind und an die Rundumbefestigung eines Zeltdaches erinnern.

Durch Kontraktion dieser Fibrillen wird das Volumen des vakuolenreichen Außenplasmas vergrößert, was zu einer Änderung des spezifischen Gewichts des Radiolars führt. Im Frischpräparat sind die Myophrisken oft kontrahiert

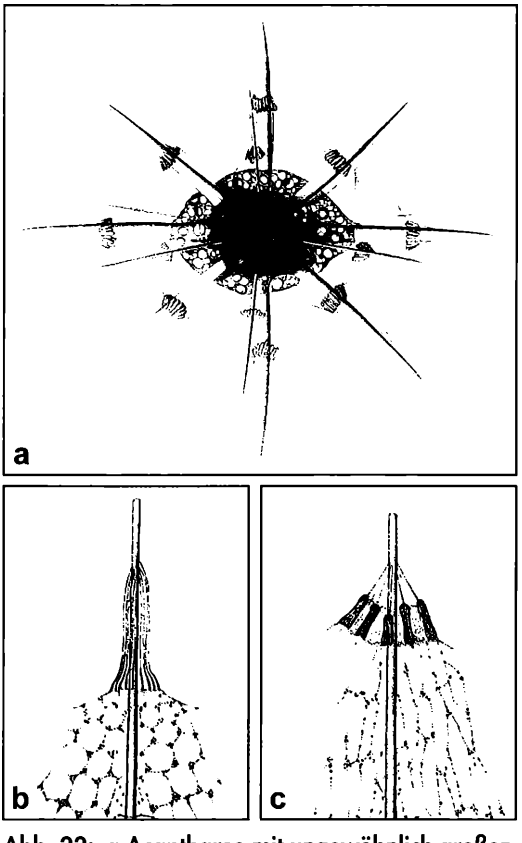


Abb. 22: a Acantharee mit ungewöhnlich großen Myophrisken (aus Popofsky, 1904). Myophrisken im entspannten (b) und kontrahierten Zustand (c) (aus Kühn, 1926).

◄ Abb. 12–20: Weitere Acanthareen. Sichtbar sind Axopodien in Abbildung 12 und 16. Das Gitter in Abbildung 15 trägt feine bedornte Nadeln auf der Oberfläche. Das Ektoplasma in den Abbildungen 13, 17 und 19 ist stark vakuolisiert. Die Nadeln in Abbildung 19 irisieren. In Abbildung 20 sind deutlich die Zooxanthellen in der langgestrecken Zentralkapsel zu erkennen. In Abbildung 14 sind die Myophrisken sichtbar.

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

und haben sich von der Stachelanheftung gelöst. Sie liegen dann meistens ungeordnet als stäbchenförmige Partikel in Nadelnähe umher. Nur unter glücklichen Umständen sieht man noch die natürliche Konstruktion. Die Myophrisken selbst werden durch das Plasma gehalten, welches die gesamte Nadel überzieht und am Ende eine längliche Kappe (Stachelscheide) bildet.
Über Lebensweise und Lebenskreislauf der Radiolarien weiß man noch wenig, da man sie nicht kultivieren kann. Bekannt ist, dass sie Cysten und Schwärmer bilden.

Literaturhinweise

Haeckel, E.: Die Radiolarien. Zweiter Teil der Monografie der Radiolarien. Verlag von Georg Reimer, Berlin 1887.

Hausmann, K., Hülsmann, N., Radek, R.: Protistology. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Berlin 2003.

Hofrichter, R. (Hrsg.): Das Mittelmeer, Bd. II/1: Bestimmungsführer. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2003.

Kühn, A.: Morphologie der Tiere in Bildern, 2. Heft Protozoen; 2. Teil: Rhizopoden. Verlag von Gebrüder Bornträger, Berlin 1926.

Larink, O., Westheide, W.: Coastal Plankton. Verlag Dr. Friedrich Pfeil, München 2006.

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

Popofsky, A.: Die Acantharia der Planktonexpedition. Teil 1: Acanthometra. In: Ergebnisse der Planktonexpedition der Humboldtstiftung, Bd. III. Verlag von Lipsius und Tischer, Kiel und Leipzig 1904.

Westheide, W., Rieger, R.: Spezielle Zoologie, Teil 1: Einzeller und Wirbellose Tiere. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1996.

Verfasser: Rudolf Drews, Str. 366, Nr. 3, 13503 Berlin, E-Mail: opalinaebony@t-online.de

Buchbesprechung

Godet, J.-D.:
Bäume und Sträucher bestimmen und nachschlagen.
Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart 2007, 216 Seiten, gebunden, über 1300 Farbfotos, € 19,90, ISBN 978-3-8001-5354-1.

Den kenne ich doch schon? – Richtig: Die Originalausgabe dieses Bestimmungsschlüssels ist bereits 1987 im Arboris Verlag Hinterkappelen (Schweiz) erschienen und dem deutschen Leser vom Neumann-Neudamm-Verlag (Melsungen) 1989 angeboten worden. Nun hat nach 21 Jahren auch der Ulmer-Verlag das Werk des Biologielehrers und Naturfotografen Jean-Denis Godet unverändert herausgebracht – allein schon dies ist eine Empfehlung!
Genau besehen ist das Buch der Schlussstein einer Tetralogie: Die Bände *Bäume Mitteleuropas in den 4 Jahreszeiten, Knospen und Zweige* sowie *Blüten einheimischer und wichtiger fremdländischer Baum- und Straucharten* stellten bereits wichtige freistehende Baumarten und deren Kennzeichen im Herbst- bis Vorsommeraspekt vor. Der Abschlussband soll ein sicherer Begleiter für das Sommerhalbjahr sein.
Für die Bestimmung sollen das bloße Auge oder eine gute Lupe genügen. Unter dieser Voraussetzung sind Blätter und Nadeln der Gehölze detailgetreu in Farbfotos dargestellt. Über 260 Gehölzarten werden im Hauptteil jeweils auf einer Doppelseite präsentiert: Links in Übersichtsfotos mit Angaben zum Blatt (Länge, Aussehen der Spreite, Blattende, Spreitenbasis, Blattrand, Ober-/Unterseite, Anordnung am Spross) und zum Standort, rechts auf noblem Schwarz per Großaufnahme Blattober- und -unterseite. Bei den Nadelhölzern treten Aufnahmen vom Ansatz am Zweig hinzu.
In dieses fotografische Arboretum führt ein Bestimmungsschlüssel. Auch hier stehen im Kleinbildformat die Blattformen hilfreich neben den Beschreibungen. In wenigen Fällen ergänzen Schemazeichnungen die Texte zu den Blatttypen (Einführung). Als *Freistehende Baumarten* stellt Teil 2 des Bandes die 23 wichtigsten Baumarten in ausführlichen Porträts vor (Aussehen, Standort, Verbreitung, Mythologie, Geschichte). Dabei beeindrucken Makrofotos kleiner und kleinster Blüten (Pyramidenpappel, Silberweide u.a.) und dürften manchen MIKROKOSMOS-Leser an seine Stereolupe und sein Mikroskop locken! Verwundert nimmt man bisweilen wahr, dass der Fotograf mit dem Schattenwurf etwas sorglos umgeht (Blüte der Birne, Nr. 317, 318, Kirsche, Nr. 333, 334). Dem Zweck schadet das freilich nicht.
Im Gegenteil – dieser Band ist ein motivierender Führer und Helfer für den nächsten Gang ins Freie und zu den „verkappten" Arboreten unserer Parks und Friedhöfe.

Erich Lüthje, Kiel

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

Mikroskopische Studien an Atmungsorganen

Siegfried Hoc

Je nach ihrem Lebensraum haben die Tiere ganz unterschiedliche Atmungsorgane entwickelt. Im Wasser wird über die Körperoberfläche oder über Kiemen geatmet, ersteres zum Teil auch an Land. Lungenatmenden Fischen wurde es möglich, das feste Land zu erobern. Bei den an Land lebenden Wirbeltieren zeigt sich eine immer feinere Verästelung des Atemorgans, was seine Funktionskapazität verbessert. Das Mikroskop ermöglicht an leicht zugänglichen Atmungsorganen Einblicke in ihren Aufbau und ihre Evolution.

Bei dem Begriff Atmung denkt der Physiologe in erster Linie an die Gewebsatmung. Im Vordergrund steht die Sauerstoff-Versorgung des Gewebes. Ihre weiteren Funktionen sind Abtransport von Kohlendioxid und Regulation der Wasserstoffionen-Konzentration. Die Gewebsatmung hängt im hohen Grad von der Durchblutung des Gewebes ab; hier überschneitet sich die Physiologie der Atmung mit der des Blutkreislaufes.

Diese „innere Atmung" wird durch die „äußere Atmung", das ist bei Säugetieren die Lungenatmung, ergänzt. Sie sättigt das Blut mit Sauerstoff und stellt den optimalen CO_2-Druck ein und reguliert damit auch die Wasserstoffionen-Konzentration. Die äußere Atmung umfasst die Haut-, Schleimhaut- und Kiemenatmung sowie die Belüftung der Lungen und den Gasaustausch über das respiratorische Epithel.

Viele Wasserorganismen wie beispielsweise Medusen, aber auch die Regenwürmer (Ringelwürmer, Anneliden), vollziehen die gesamte äußere Atmung über das Epithel der Körperoberfläche. Sie atmen über die Haut. Einige Ringelwürmer haben aber auch spezielle Atemorgane hervorgebracht; sie treten in dieser Tiergruppe phylogenetisch zum ersten Mal auf. Der Wattwurm *Arenicola marina* zum Beispiel trägt auf dem Rücken zahlreiche Büschelkiemen, stark durchblutete Anhänge, welche die respiratorisch funktionierende Oberfläche vergrößern (Abb. 1). Solch eine „Lunge" brauchen Tiere, die in einer O_2-armen Umgebung leben.

Atmen durch Mund und Haut

Über die Haut atmen auch noch manche Fische, allerdings nicht mehr ausschließlich, sondern neben der Kiemenatmung. Die an Land lebenden Vertebraten besitzen Lungen. Trotzdem reichen die primitiven Lungen niederer Wirbeltiere nicht aus, weshalb auch sie auf die Hautatmung zurückgreifen – zum Beispiel der Wasserfrosch, dessen Atemweise sich leicht beobachten lässt: In schnellem Rhythmus schlägt die Kehlhaut vor und zurück, und nur in größeren Abständen wird eine Schluckbewegung ausgeführt. Diese Kehl-Oszillationen sind nicht mit einem Gasaustausch in der Lunge verbunden. Während der Schwingungen wird Luft durch die Nasenlöcher eingezogen, in der Mundhöhle herumgewirbelt und durch die Nase wieder ausgestoßen. Indessen verschließt der Kehlkopf die Atemwege. Die Mundschleimhaut ist reich durchblutet und mit einem respiratorischen Epithel ausgekleidet; sie dient als zusätzliches Atemorgan (Abb. 2). Hier liegt die für viele Amphibien charakteristische Mundhöhlen-Atmung vor. Die Lunge wird beim Schluckakt zwar auch mit Luft gefüllt und wieder entleert, aber sie ist sehr einfach gebaut und ihre Kapa-

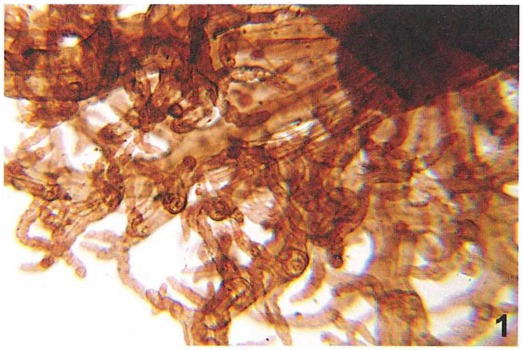
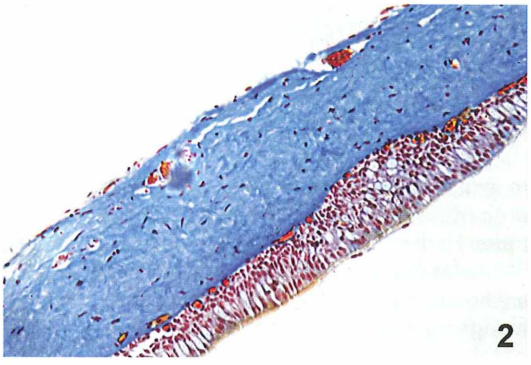


Abb. 1: Büschelkiemen des Wattwurms *Arenicola marina*, Boraxkarmin-Färbung, Vergr. 25fach.

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



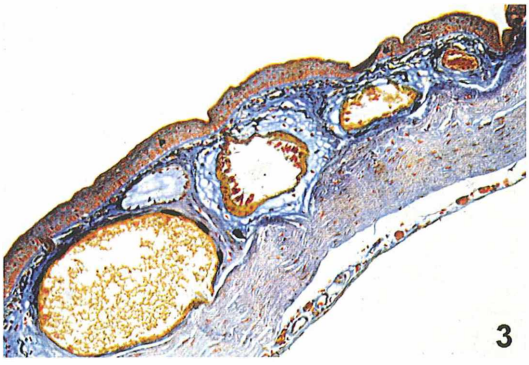


Abb. 2: Rachendach eines Frosches, Querschnitt, Azan-Färbung, Vergr. 100fach. – Abb. 3: Haut eines Frosches, Querschnitt, Azan-Färbung, Vergr. 100fach.

zität reicht nicht aus. Der Frosch verfügt noch über eine dritte Atmungsweise – die über die Haut. Die weiche, nackte Haut der Amphibien erfordert allerdings eine Umgebung mit hoher Luftfeuchtigkeit (Abb. 3).
Je höher Wirbeltiere organisiert sind, desto mehr schwindet die Rolle der Hautatmung. Die Epidermis ist ja nun auch meistens mit Schuppen, Federn oder Haaren besetzt, oder die Haut besitzt ein dickes Korium (Hornhaut).

Wassertiere brauchen Kiemen

Kiemen sind Ausstülpungen der Haut oder des hinteren Darmabschnittes und werden von einem dünnen, stark durchbluteten Epithel überzogen. Diese zarten Gebilde würden an Land schnell austrocknen; sie sind daher nur für die Atmung im Wasser geeignet (Abb. 4). Manche Fische atmen auch durch tiefe Abschnitte des Darms. So schwimmt der Schlammpeizger *(Misgurnus fossilis)*, der wegen seiner Empfindlichkeit gegenüber atmosphärischen Einflüssen auch als Wetterfisch bezeichnet wird, regelmäßig an die Oberfläche, um eine Portion Luft zu schnappen und hinunterzuschlucken. Hinter dem Magen dieses Fisches befindet sich eine Ausbuchtung, die als Luftreservoir dient. Ein dichtes Netz von Blutkapillaren überzieht den mittleren und hinteren Teil des Darmtraktes und sorgt so für den Gasaustausch. Die Verdauung bleibt auf den vorderen Darmabschnitt beschränkt. Der Kot wird in Schleimballen verpackt am respiratorischen Darmepithel vorbeigeführt. Diese Einrichtung dient dem Überleben in der Zeit, wo das meist kleine und sumpfige Wohngewässer des Schlammpeizgers austrocknet und der Fisch im Schlamm vergraben überdauern muss.
Das Austrocknen der Gewässer wird für viele tropische Fische zum Überlebensproblem. Sie

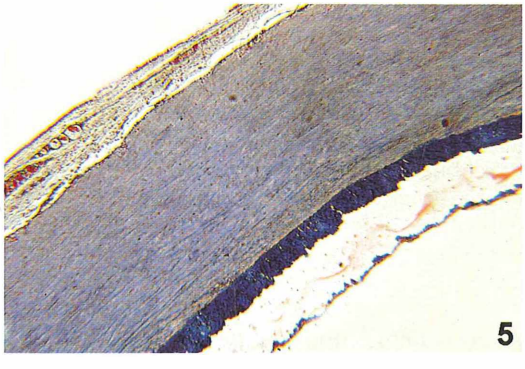


Abb. 4: Kiemen der Schleie *(Tincatinca)*, Längsschnitt, Hämatoxylin-Eosin-Färbung, Vergr. 25fach. – Abb. 5: Schwimmblase eines Karpfens *(Cyprinus)*, Querschnitt, Azan-Färbung, Vergr. 50fach.

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

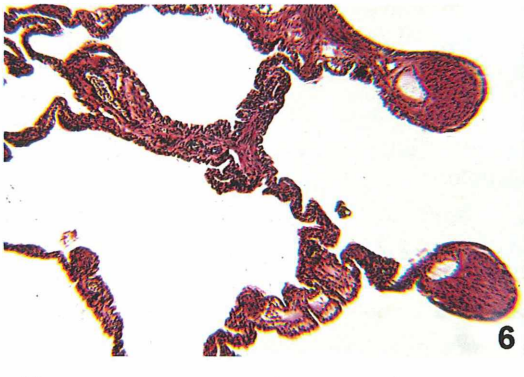
besitzen daher häufig akzessorische Atmungsorgane, mit denen sie zusätzlich zur Kiemenatmung atmosphärische Luft aufnehmen können. Meistens handelt es sich dabei um Auswüchse des Schlunds (Pharynx) oder der Kiemenkammer. Kletterfische und Labyrinthfische asiatischer und afrikanischer Gewässer haben derartige Zusatzlungen entwickelt.

Vom Wasser aufs Land

Die Kletterfische und Labyrinthfische sind atmungsphysiologisch deshalb so bemerkenswert, weil vor vielen Millionen aus ihnen die ersten Landwirbeltiere hervorgegangen sind. Der Schritt vom Wasser auf das Land war in erster Linie ein Atmungsproblem.
Ein Modell für diesen Wandlungsablauf findet man in den tropischen Lungenfischen. An ihnen hat sich die bei vielen Fischen vorhandene Schwimmblase, die normalerweise als hydrostatisches Organ dient (Abb. 5), zu einer echten paarigen Lunge umgebildet. Die Innenwand ist reich mit Blutgefäßen versorgt und die Oberfläche durch Falten erheblich vergrößert. Als adulte Tiere atmen diese Fische durch ihre einfachen Lungen, im Larvenstadium aber noch durch äußere Büschelkiemen.
Diese „Schwimmblasen-Lungen", wie sie auch der Alligatorfisch *Lepistoteus tristoechus* besitzt, sind über einen Gang – den Ductus pneumaticus – mit dem kopfwärts gelegenen Speiseröhren-Abschnitt verbunden. Bei Fischen des tieferen, freien Wassers, etwa dem Karpfen (*Cyprinus* spec.) ist der Ductus pneumaticus verschlossen. Die Blase wird über eine Drüse, die reich mit Kapillaren versorgt ist, mit Gas gefüllt und entleert.

Vom Fisch zum Lurch

In der Atmung und in manch anderer Hinsicht ähneln die Lungenfische bereits den Amphibien (Lurche). Auch diese Tiere besitzen im Larvenstadium, so wie die Kaulquappen der Frösche, äußere Kiemenbüschel. Erst im Zuge der Metamorphose entwickeln sich die Lungen: Die Kiemen werden dabei resorbiert. Aber bei den Amphibien ist die Innenfläche der Lungensäcke nur leicht gefaltet und nicht sehr reich mit Blutkapillaren versehen (Abb. 6). Daher ist die Kehl- und Hautatmung noch lebensnotwendig. Entfernt man einem Frosch die Lunge, so lebt er normal weiter; verhindert man aber die Hautatmung, muss er trotz intakter Lunge ersticken. Die einfachen Lungensäcke sind durch Septen gekammert; im Zentrum des Lungensackes bleibt ein großer Luftraum frei. Ganz glattwandig sind die Lungensäcke bei im Wasser lebenden (aquatischen) Formen wie dem Kamm-Molch.
Bei den zungenlosen (aglossen) Anuren wie der Wabenkröte *(Pipa pipa)* oder dem Krallenfrosch *(Xenopus laevis)* ist jeder der beiden Lungensäcke mit einem Gang zur Luftröhre (Trachea) verbunden. Er kann also bereits als außerhalb der Lungen liegender (extrapulmonaler) Bronchus aufgefasst werden. In seiner Wand treten Knorpelblättchen auf, was alle extrapulmonalen Bronchien auszeichnet.
Die Lunge der stärker als die Amphibien an das Landleben adaptierten Tiere ist natürlich weiter



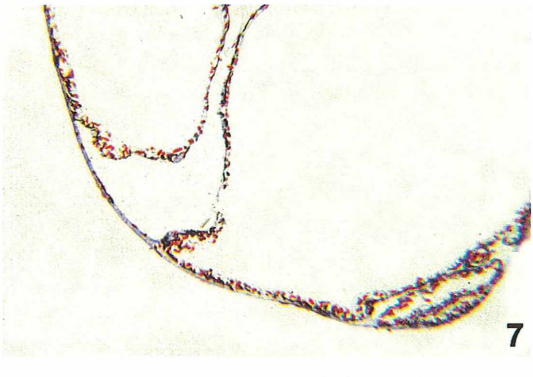


Abb. 6: Lunge eines Frosches, Querschnitt, Hämatoxylin-Eosin-Färbung, Vergr. 50fach. – Abb. 7: Lunge des Feuersalamanders *(Salamandra maculosa)*, Querschnitt, Azan-Färbung, Vergr. 50fach.

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

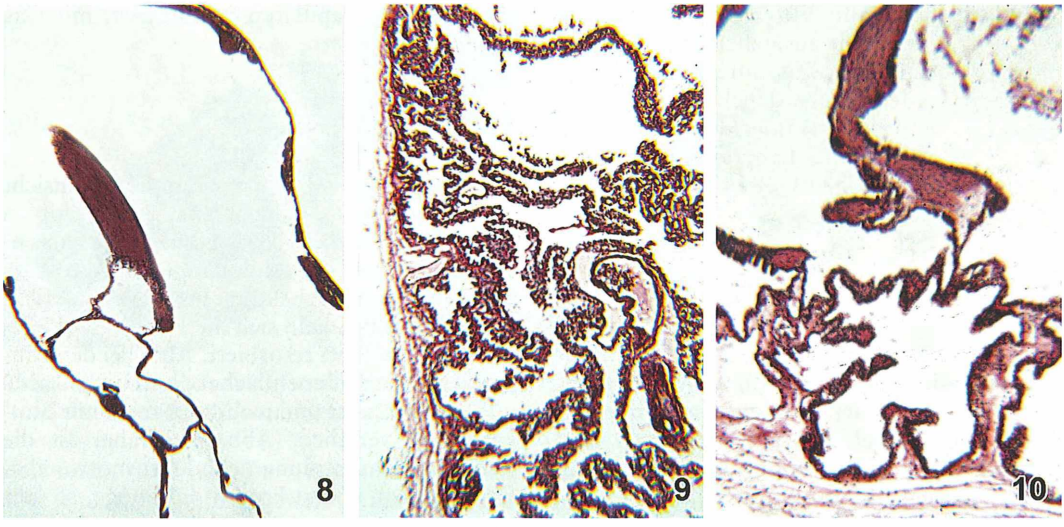


Abb. 8: Lunge einer Zauneidechse *(Lacerta agilis)*, Querschnitt, Vergr. 50fach. – Abb. 9: Lunge einer Kreuzotter *(Vipera berus)*, Querschnitt, Vergr. 50fach. – Abb. 10: Lunge der Griechischen Landschildkröte *(Testudo graeca)*, Querschnitt, Vergr. 50fach. Abb. 8–10 Hämatoxylin-Eosin-Färbung.

ausgebaut. Das gilt für alle Amniota, also Tiere mit einer Embryonalhülle (Amnionhülle), wie Reptilien und Vögel (Sauropsiden) und Säugetiere (Mammalia). Kennzeichnend für sie ist der Übergang von der Druckatmung mithilfe der Backen zur Saugatmung, die bewegliche Rippen voraussetzt. Dieser Saugatmungs-Mechanismus erlaubt, dass sich ein langer Luftweg mit Trachea und Hals bildet. Eine echte Luftröhre fehlt den Amphibien, da der große tote Luftraum ihrer Lunge mit dem Mechanismus der Druckatmung nicht vereinbar wäre.

Dennoch besitzen einige Reptilien, wie die Brückenechse *(Sphenodon)* sowie einige Eidechsen und Schlangen, eine einkammerige Sacklunge. Die Falten zwischen den Luftkammern, die Faveoli, enthalten wie bei den Amphibien stets zwei Kapillarnetze. Die Zwischenwände der Alveolen der Säugetierlunge besitzen dagegen nur ein Kapillarnetz, das mit zwei Austauschflächen in Kontakt steht (Abb. 7 und 8).

Schlangen atmen rechts

Viele Eidechsen, besonders Gekkos, haben Lungensepten, die Richtung Schwanzende hin (kaudal) niedriger werden und schließlich ganz verschwinden. Derartige nicht-respiratorische Aussackungen der Lunge sind besonders ausgeprägt bei Schlangen sowie bei Reptilien mit schlangenartiger Körperform (Blindschleichen). Bei Riesenschlangen hat nur das vordere Viertel der Lunge eine respiratorische Funktion. Die meisten Schlangen besitzen nur die rechte Lunge, die linke ist infolge der Anpassung an die lang gestreckte Körperform zurückgebildet (Abb. 9).

Große und stoffwechselintensive Reptilien, beispielsweise die Krokodile, vergrößern ihre Austauschfläche durch sich immer weiter aufzweigende Septen und Unterkammern bis in das zentrale Lungenlumen hinein. Das steigert natürlich die Atemleistung.

Die Mehrzahl der Land- und Sumpfschildkröten besitzt vier seitliche (laterale) und vier in der Mitte gelegene (mediale) Lungenkammern mit zentralem Lumen und weiterer Öffnung in einen in der Lunge liegenden (intrapulmonalen) Hauptbronchus hinein. Von den lateralen Kammern gehen zahlreiche Aussackungen nach kaudal, ventral und lateral aus, die keine Austauschfläche besitzen (Abb. 10).

Vögel sind Atmungsökonomen

Das am wirtschaftlichsten arbeitende Atmungsorgan weisen die Vögel auf. Es gliedert sich in Ventilationsapparat (die Luftsäcke) und Respirationsapparat (die Lungen). Die Lunge der Vögel ist volumenkonstant und wird durch den

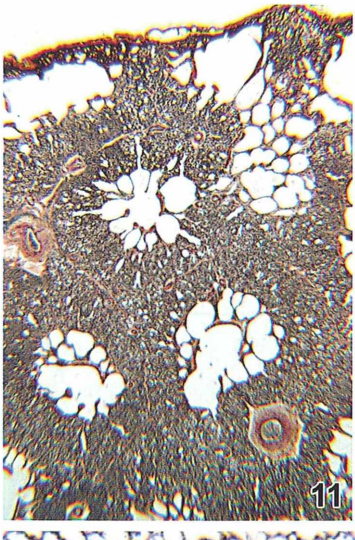
© Elsevier GmbH: Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

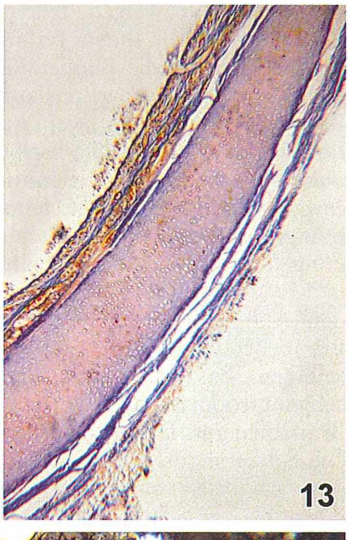
Blasebalgeffekt der Luftsäcke infolge Kontraktion der Rumpfmuskulatur beatmet. Sie besteht aus einer Vielzahl kommunizierender Respirationsräume, die in den Luftkapillaren der Parabronchien (Lungenpfeifen) eine extrem vergrößerte Austauschfläche besitzen (Abb. 11).

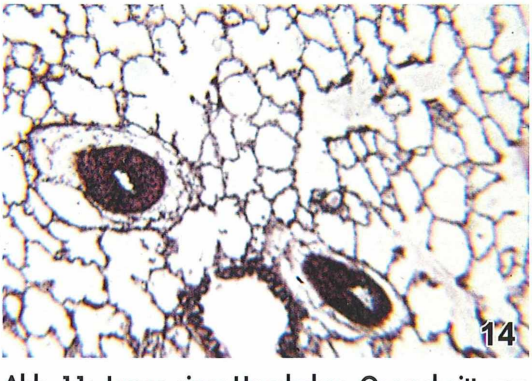
Die Vogellunge wird der Länge nach von einem intrapulmonalen Hauptbronchus durchzogen, der kaudal direkt in den abdominalen Luftsack übergeht. Von ihm zweigen unmittelbar nach dem Eintritt in die Lungen vier Sekundärbronchien (Ventrobronchien) ab, die sich weiter verästeln. Aus den Sekundärbronchien gehen auch Parabronchien ab (Bronchien III. Ordnung). Diese bilden starrwandige, beiderseits offene Röhren, die in ihrem Anfangsteil untereinander verbunden sind.

Die Parabronchien werden von einem sehr niedrigen Epithel ausgekleidet und von Maschen glatter Muskulatur umgeben. Das Respirationsgewebe dieser Lungenpfeifen besteht aus Netzen von Luftkapillaren, welche die Blutkapillaren umgeben. Durch diese Konstruktion ist die Austauschfläche pro Volumeneinheit Lungengewebe der Vögel etwa zehnmal größer als die der Säugetiere. Die Luftsäcke sind mit den größeren Bronchien verbunden und im ganzen Körper verteilt; sie erstrecken sich sogar bis in die Knochen hinein, wo sie das Knochenmark ersetzen. Diese Konstruktion reduziert zugleich das Gewicht des Skelettes erheblich, was für die Flugfähigkeit wichtig ist.

Der Atemapparat der Vögel ist so angelegt, dass eine nur sehr niedrige Atemfrequenz not-







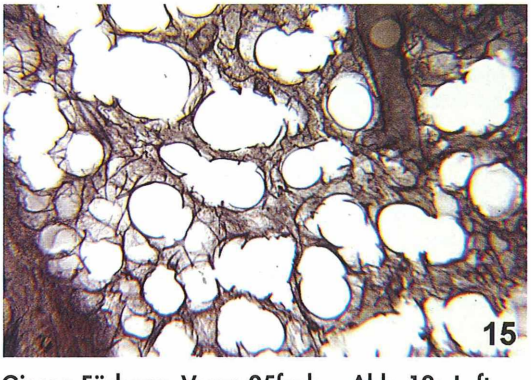


Abb. 11: Lunge eines Haushuhns, Querschnitt, van-Gieson-Färbung, Vergr. 25fach. – Abb. 12: Luftröhre (Trachea) einer Hauskatze, Hämatoxylin-Eosin-Färbung, Querschnitt, 50fach. – Abb. 13: Bronchus eines Menschen, Azan-Färbung, Querschnitt, Vergr. 25fach. – Abb. 14: Lunge eines Kaninchens, Azan-Färbung, Querschnitt, Vergr. 50fach. – Abb. 15: Lungenalveolen des Menschen, Resorzinfuchsin-Färbung, Querschnitt, Vergr. 50fach.

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

wendig ist (der Pelikan macht vier Atemzüge in der Minute), und dass ein Aufsteigen in sehr große sauerstoffarme Höhen möglich ist.

Alveolen nur bei Säugetieren

Das Innere der Säugetierlunge ist vollständig in kleine Kammern, die Alveolen, aufgeteilt. Sie werden von einem Bronchialbaum durchzogen. Diese Konstruktion vergrößert die Oberfläche des respiratorischen Epithels erheblich: Beim Menschen beträgt sie rund 150 m^2. Abgeleitet wird die Säugetierlunge von einer vielkammerigen Reptilienlunge mit intrapulmonalem Hauptbronchus, wie sie die rezenten Krokodile besitzen.

Die extrapulmonalen Hauptbronchi, die von der Trachea abzweigen, teilen sich in weitere Bronchi auf. Mit ihnen verlaufen bei Vögeln und Säugetieren die Blutgefäße des Lungengewebes aus dem Körperkreislauf (Abb. 12). Das Bronchialsystem hat zwei Aufgaben: Es ist Luftweg und ein mechanisch festes Verspannungssystem. In seiner Funktion als Luftweg erwärmt es die Atemluft, feuchtet sie an und reinigt sie. Die Luft muss auch an den Verzweigungen der Bronchien wirbelfrei strömen und in Menge und Geschwindigkeit reguliert werden (Abb. 13).

Ein mehrreihiges Flimmerepithel mit einer einreihigen Basalzellschicht und eingestreuten schleimproduzierenden Becherzellen kleidet die Bronchien aus. Darüber liegt eine doppelte, flache Schleimhaut. Direkt am Epithel ist sie serös, produziert also ein Enzym enthaltendes, dünnflüssiges Sekret, während die obere Lage mukös ist, also einen zähflüssigen Schleim produziert. Innerhalb der serösen Flüssigkeitsschicht bewegen sich wellenförmig die Cilien des Flimmerepithels und transportieren so den darüber liegenden Schleim Richtung Luftröhre. Dieses Transportband schafft Fremdkörper wie Staub und Bakterien wieder hinaus.

Auf das Epithel folgt die Basalmembran, dann die Gewebsschicht des Stratum proprium, in dem das Kapillarnetz liegt, dessen strömendes Blut die Atemluft aufwärmt. Die Muskelschicht (Muskularis) ist zwischen den beiden Enden des Hufeisenknorpels ausgespannt. Sie reguliert die lichte Weite der Bronchien. Durch die Muskelschicht ziehen die Ausführungsgänge der Bronchusdrüsen, die unter der Muskularis liegen. Auch sie produzieren seröse und muköse Sekrete. Nach außen schließt die Tunica fibrocartilaginea, die Faserhaut, das Ganze ab. Sie besteht aus elastischen und kollagenen Fasern und Knorpelstückchen mit dazwischen liegendem lockeren Binde- und Fettgewebe.

Das respiratorische Grundelement der Säugetierlunge sind die Alveolen. Die Zwischenwände benachbarter Alveolen (Interalveolarsepten) besitzen, anders als die aller Nichtsäuger unter den Vertebraten, nur ein Kapillarnetz, von dem aus sich der Gasaustausch nach beiden Seiten in die angrenzenden Alveolen vollzieht. Die Zahl der Alveolen beträgt beim Menschen etwa 400 Millionen (Abb. 14 und 15).

Alveolarepithel und Alveolarkapillaren sind durch eine Basalmembran getrennt – verschmolzen aus der Basallamina der Alveolen-Endothelzellen und des Kapillarendothels. Die Blut-/Luftschranke, über welche die Atemgase durch Diffusion ausgetauscht werden, ist daher nur 0,3 bis 1 µm dick.

Danksagung

Die Mikrofotografien fertigte Josef Häckl, Brucker Straße 16A, 82275 Emmering, an.

Literaturhinweise

Duncker, H.-R.: Die leistungsfähigsten Lungen haben die Vögel. Spiegel der Forschung der Universität Gießen 1, (1983).
Feder, M. E., Burggren, W. B.: Hautatmung bei Wirbeltieren. Spektrum der Wissenschaft, Januar 1986, 86–95.
Heilauer, D.: Die Vogellunge – Einbahnstraße für die Atemluft. MPG-Spiegel 3, 19–21 (1976).
Kaestner, A.: Lehrbuch der Speziellen Zoologie. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1996.
Keidel, W. D. (Hrsg.): Kurzgefasstes Lehrbuch der Physiologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1972.
Kükenthal, W., Krumbach, Th.: Handbuch der Zoologie. Band 8 (Die Lunge/Die Atmung). Walter de Gruyter Verlag, Berlin 1956.
Lübbers, D. W., Luft, U. C., Thews, G., Witzleb, E.: Oxygen transport in blood und tissue. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1968.
Roth, G., Wake, D. B.: Lungenlose Salamander. Bild der Wissenschaft 2, 124–128 (1983).
Scheid, P., Shams, H.: Höhenflug von Vögeln. Naturwissenschaftliche Rundschau 48, 413–418 (1995).
Silbernagel, S. Despopoulos, A.: dtv-Atlas der Physiologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1979.
Starck, D.: Vergleichende Anatomie der Wirbeltiere. Springer Verlag, Berlin 1978.
Tammeling, G. J., Quanjer, Ph. H.: Physiologie der Atmung. Pmi-pharm-und-medical-Information-Verlag, Frankfurt 1984.

Verfasser: Dipl. Biol. Siegfried Hoc, Donaustraße 1a, 82140 Olching.

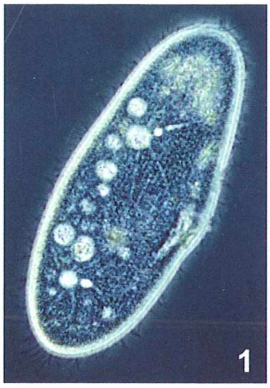
© Elsevier GmbH. Alle Rechte vorbehalten; http://www.elsevier.de/

Nachricht

Protisten des Jahres

Das kennen wir seit vielen Jahren: Die Pflanze des Jahres und das Tier des Jahres. Hier und da haben wir vielleicht auch mitbekommen, dass es beispielsweise eine Orchidee, eine Staude, eine Heilpflanze oder gar eine Giftpflanze des Jahres gibt. Gleichermaßen mangelt es nicht an einem Fisch, Insekt, Schmetterling oder Weichtier des Jahres. Wie gesagt, das ist bekannt.

Hätte man aber auch gedacht, dass es einen Protisten, also einen Einzeller des Jahres geben könnte? Wohl kaum! Aber dem ist so. Seit dem Jahr 2006 gibt es die Idee, einen Einzeller des Jahres zu benennen. 2007 war dann das Pantoffeltierchen *Paramecium* Einzeller des Jahres (Abb. 1), und in diesem Jahr ist es der Ciliat *Tetrahymena* (Abb. 2). Beide wurden von der *Deutschen Gesellschaft für Protozoologie* wegen ihrer großen Bedeutung in Forschung und Lehre – bis hin in den Grundschulunterricht – als die jeweiligen Jahresfavoriten bekannt gegeben (www.protozoologie.de).



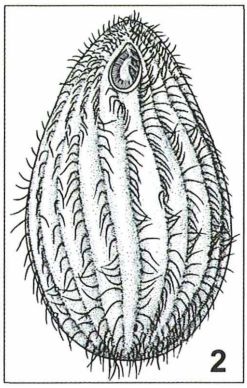


Abb. 1: *Paramecium*, der Einzeller des Jahres 2007. – Abb. 2: *Tetrahymena*, Einzeller des Jahres 2008.

Die *Sektion Phykologie* (Algenkunde) der *Deutschen Botanischen Gesellschaft* hat, nachdem sie im vergangenen Jahr den Seetang *Laminaria* zu Ehren hat kommen lassen, in diesem Jahr den einzelligen Protisten *Micrasterias* (Abb. 3) als Alge des Jahres ausgelobt (www.dbg-phykologie.de). Schaut man sich diese Desmidiacee an, muss man nicht lange grübeln, warum ausgerechnet diese Algengattung ausgewählt wurde. Es ist einfach ihr ästhetisches Aussehen, dass selbst langjährige Mikroskopiker immer wieder erneut in Begeisterung versetzt. Und es dürfte wohl kaum einen Mikrofotografen geben, der sich nicht gefordert fühlt, wenn ihm ein Vertreter dieser Gattung unter das Objektiv kommt.

Der MIKROKOSMOS trägt mehr oder weniger unbewusst zum Jahr der kleinen Sterne, wie *Micrasterias* vom Griechischen ins Deutsche übersetzt heißt, bei, da in verschiedenen Heften dieses Jahrgangs *Micrasterias*-Artikel erschienen und erscheinen werden. Man darf gespannt sein, welche Einzeller im kommenden Jahr die Gewinner sein werden.

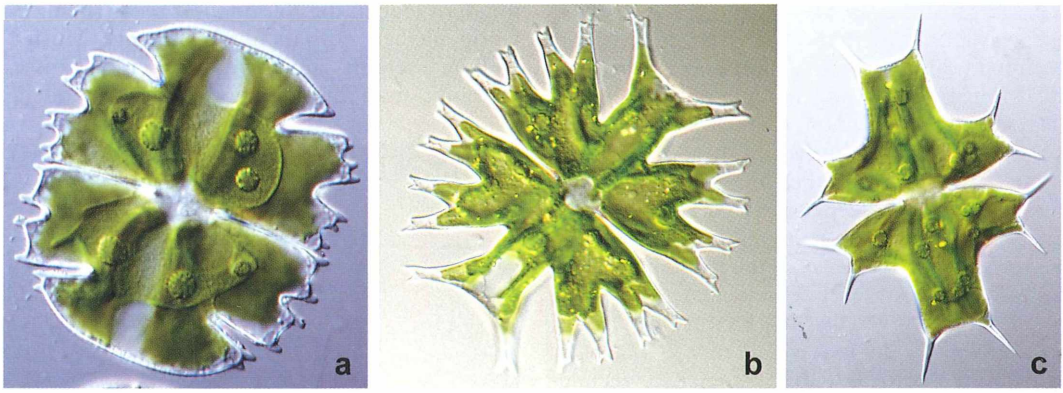


Abb. 3: Verschiedene Arten der Algengattung des Jahres *Micrasterias*: a *M. truncata*. b *M. furcata*. c *M. ceratofera* (Fotos: Monika Engels, Hamburg).

Redaktion MIKROKOSMOS

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

Einsatz digitaler Spiegelreflexkameras in der Mikrofotografie – Ein Erfahrungsbericht

Gerd Günther

In den vorangegangenen Ausgaben des MIKROKOSMOS wurde das Thema digitale Mikrofotografie vielschichtig und tiefgreifend beleuchtet. Adaptionen wurden beschrieben, Grundlagen dargelegt. Dieser Erfahrungsbericht stellt eine Adaptionslösung vor, mit der digitale Spiegelreflexkameras ergonomisch an Mikroskope angepasst werden können.

Die stürmische Entwicklung der digitalen Fotografie bringt auch im Marktsegment der digitalen Spiegelreflexkameras (DSLR) laufend Produktneuheiten zu immer attraktiveren Preisen. Auch im Bereich der mikrofotografischen Dokumentation zeigt sich eine Tendenz hin zur Verwendung von DSLRs. Dabei gilt es, die Vor- und Nachteile dieser Kameraklasse gegen die Kompaktkameras oder proprietären Kameraaufsätze für Mikroskope sorgfältig abzuwägen. Es wird nicht beabsichtigt, die einzelnen Dokumentationsverfahren zu vergleichen oder zu bewerten. Es wird lediglich der Lösungsweg des Autors für die mikrofotografische Dokumentation vorgestellt.

Ein zentrales Entscheidungskriterium für die Auswahl einer digitalen Kamera bleibt der Sensor. Im digitalen Fotomarkt gibt es zurzeit zwei grobe Tendenzen: Der Bereich digitaler Kompaktkameras ist gekennzeichnet durch immer höhere Pixelzahlen bei immer kleiner werdenden Sensoren. Der Bereich der DSLRs bleibt natürlich nicht verschont von der Erhöhung der Bildpunkte, allerdings ist die Tendenz moderater und die Sensoren sind bedeutend größer. Sensoren von Kompaktkameras mit Pixelmaßen von etwa 2 × 2 µm haben physikalisch bedingt wesentlich schlechtere Rauschwerte als diejenigen der DSLRs mit Pixelmaßen von etwa 7 × 7 µm bei APSC Sensoren (APSC = Advanced Photo System Classic). Die rechnerisch 12fache Fläche der APSC Sensoren bedingt einen deutlichen Vorsprung bezüglich des Signal-Rauschverhältnisses, da die Verstärkung des Sensorsignals analog erfolgt. Abbildung 1 zeigt die verschiedenen Sensorgrößen im Vergleich zum Kleinbildfilm. Die Sensoren in der Größe APSC finden dabei die größte Verbreitung (z. B. bei Pentax, Nikon, Canon), 4/3 Zoll Sensoren finden Verwendung in Kameras mit dem neu gerechneten Four Thirds Standard (Olympus, Leica, Lumix). Das ungewöhnliche Format 1/1,8 Zoll findet weite Verbreitung bei Kompaktkameras (z. B. Canon Powershot A620).

Die Einstellung der Filmempfindlichkeit (ISO Wert) ist gleichbedeutend mit einem Verstärkungsfaktor für den Analogverstärker hinter dem Schieberegister des Sensorchips. Das unvermeidliche Rauschen wird entsprechend mit verstärkt. Ohne immer komplexere Algorithmen für die Rauschunterdrückung wären die steigenden Pixelzahlen nicht zu bewältigen. Sämtliche Rechenschritte in diesem Bereich mindern jedoch die Bildqualität teils erheblich. Übrig bleiben unbrauchbare, flächige Muster. Abhilfe schafft nur ein größerer Sensor. Schränkt man die Kamerawahl auf Modelle

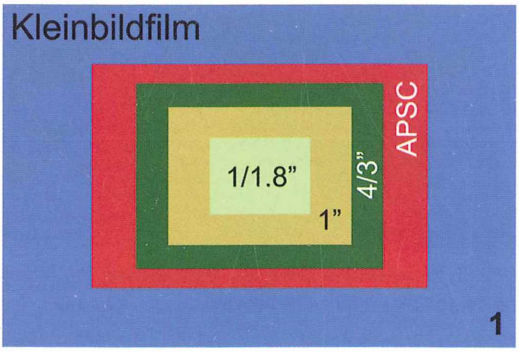


Abb. 1: Sensorgrößen gängiger Digitalkameras im Vergleich zum Kleinbildfilm.

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

mit wechselbaren Objektiven ein, bleiben nur DSLRs übrig. Ausnahme ist die Leica M8, eine Messsucherkamera mit Wechselobjektiven und 18 × 27 mm großem Sensor.

Mikroskoptechnik

DSLRs können an alle Arten von Mikroskopen adaptiert werden. Hier soll allerdings nur von Mikroskopen mit Unendlich-Optik berichtet werden, wobei das Bild hinter der notwendigen Tubuslinse bereits auskorrigiert ist. Ein Okular mit kompensatorischer Wirkung muss entfallen. Es liegt nahe, dieses reelle Zwischenbild direkt auf einen Lichtsensor zu projizieren.

Kamerawahl

Ausgehend von einer Okularadaption einer Nikon CP 990 (Günther, 2002) sollte eine Dokumentationslösung gefunden werden, die dem Stand der aktuellen Kameratechnik entsprechende Verbesserungen versprach. Kurz gesagt: Mehr Pixel bei möglichst großem Sensor, weniger Linsen. Die Entscheidung fiel zugunsten einer DSLR, da nur hier entsprechend große Sensoren zu finden waren. Weitere wichtige Kriterien für die Kamerawahl hinsichtlich mikroskopischer Dokumentation kommen hinzu:

1. *Auslöseverzögerung.* Insbesondere bei der Dokumentation schneller Wasserbewohner ist eine möglichst geringe beziehungsweise keine Auslöseverzögerung wünschenswert. Hier sind die DSLRs im Vorteil, weil der Kamerachip nur für die Erfassung des Bildes nach Öffnen des Verschlusses zuständig ist.

2. *Synchronisation externer Blitzgeräte.* Nicht alle Kompaktkameras bieten die Möglichkeit, externe Blitze direkt galvanisch zu synchronisieren. DSLRs haben hier mehr Möglichkeiten. Zumindest lassen sich über den Blitzschuh immer Blitze synchron auslösen.

3. *Fernauslöser.* Nicht nur bei der Dokumentation planktischer Organismen ist es entscheidend, im richtigen Moment verzögerungsfrei fernauslösen zu können. Zweckmäßig wird hierbei ein Fußauslöser benutzt. DSLRs mit Infrarotbedienung fallen dann bereits durch das Auswahlraster. Das Infrarotprotokoll bedingt eine spürbare Verzögerung. Es kommen nur Kameras in Frage, die den Anschluss eines kabelgebundenen Auslösers bieten. Eine Modifikation für den Anschluss eines Fußtasters ist dabei meist problemlos möglich.

4. *Format des Sensors.* Die optische Bestimmung des aufgenommenen Bildausschnittes bei Adaption an ein Mikroskop mit Endlich-Optik erfolgt mit passenden Projektiven. Für die Anpassung an die verschiedenen Chipgrößen stellen die Mikroskophersteller nicht immer passende Projektive zur Verfügung (Piper, 2007). Für Mikroskope mit Unendlich-Optik werden von den jeweiligen Herstellern vorwiegend Adaptionslösungen für die firmenspezifischen proprietären Kameramodule angeboten. Adaptionslösungen für DSLRs sind die Ausnahme. Hinsichtlich der optimalen Sensorgrößen kann man sich an den Sensorgrößen orientieren, für die C-Mount Adapter ohne Optik angeboten werden. Der Fläche dieser Sensoren am nächsten kommen die DSLRs mit 4/3 Sensoren (17,3 × 13 mm). Die auf dem Sensor abgebildete Fläche des mikroskopischen Bildes entspricht näherungsweise derjenigen Größe, die auf den Standard-Okularstrichplatten für 1 Zoll Videoaufzeichnung oder für die Kleinbildfotografie vorgesehen waren. Kameras mit Sensorgröße APSC haben zu große Sensoren, wenn keine optische Anpassung erfolgen soll oder kann. Die Sensorfläche ragt in der Breite weit über den Bildkreis eines 10 × 22 Okulars hinaus (Abb. 2). Rand-

Abb. 2: Aufnahmeformate unterschiedlicher Sensorgrößen. Bildkreis entspricht einem Leica Okular 10×, SFZ 22. Der äußere Rahmen zeigt den Bereich, den ein APSC-Sensor aufzeichnet. Der innere Rahmen zeigt den Bereich, den ein Four-Thirds Sensor abdeckt.

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

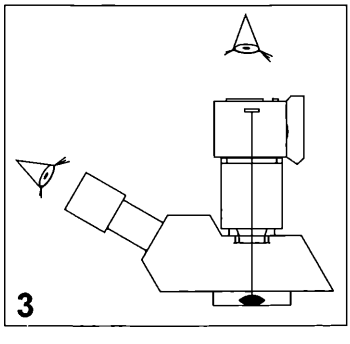
abschattungen und Sichtbarwerden anderer optischer Fehler sind die Folge dieser leichten Fehlanpassung.

5. Bilddatenformate. Die Aufzeichnung der Sensordaten der Kamera im RAW-Format (Rohdatenformat von engl. raw = roh) beherrschen alle DSLRs. Das RAW Format ist jedoch nicht allein Charakteristikum der DSLRs, auch Kompaktkameras beherrschen es. Einziger Nachteil hierbei ist der um den Faktor 10 erhöhte Speicherbedarf. Wenn möglich, sollte dieses Format jedoch bevorzugt werden, da hierbei die Helligkeits- und Farbinformationen der einzelnen Bildpunkte mit mindestens 12 bit Auflösung gespeichert werden. Im JPEG Format sind dies nur 8 bit Auflösung. Sofern keine weiteren Manipulationen an den Bilddaten vorgenommen werden sollen, reichen 8 bit aus. Bei Mikroskopaufnahmen sind jedoch häufig Anpassungen der Farbtemperatur oder anderer Parameter vorzunehmen, die erhebliche Neuberechnungen der gesamten Bildpunktwerte zur Folge haben. Liegen dann die Bildinformationen nur mit 8 bit Tiefe vor, kommt es häufig zu Tonwertabrissen oder größeren Lücken in den Farbwerten, sichtbar im Histogramm. Enthält das Bild größere Bereiche mit allmählichen Farbverläufen, entstehen nach einer umfangreichen Korrektur oft treppenförmige Farbsprünge, die unangenehm auffallen.

Adaption

Digitale Spiegelreflexkameras können wie analoge Spiegelreflexkameras an vorhandene Mikroskope adaptiert werden. Eine Anpassung der Projektivoptik an den kleineren Sensor der digitalen SLR ist jedoch erforderlich, es sei denn, man verwendet eine Vollformat DSLR. Diese Adaptionen haben allesamt einige Nachteile hinsichtlich der Bedienerfreundlichkeit. Zunächst ist die relativ große Bauhöhe der Gesamteinrichtung zu nennen. Die Kamera mit den Schwingungen verursachenden Bauteilen ist in großem Abstand zum Mikroskopstativ montiert. Der lange Hebel bedingt ein ungünstiges Resonanzverhalten, die Erschütterungen des Spiegels und insbesondere des Verschlusses werden wenig gedämpft. Dem kann nur wirkungsvoll durch separate Montage der Kamera an einem sehr stabilen Stativ begegnet werden. Diese Maßnahme macht den gesamten Aufbau sehr voluminös und schwer handhabbar. Ein weiterer Nachteil der vertikal ausladenden Adaption ist die schlechte Erreichbarkeit der Kamerabedienelemente. Der Kontrollmonitor ist häufig nur durch Ändern der Sitzposition einzusehen, auch für einen Spiegel zur Kontrolle muss der Bediener seine Körperhaltung ungewohnt verändern (Abb. 3).

Ein weiterer Nachteil dieser Kameraadaptionen für Mikroskope mit Endlich-Strahlengang sind die notwendigen Linsen in Kamerarichtung. Diese Mikroskope erfordern ein passendes Projektiv zur Korrektur der optischen Restfehler. Eine völlig andere Situation ergibt sich jedoch bei moderneren Mikroskopen mit Unendlichstrahlengang. Hierbei ist das Bild üblicherweise hinter der Tubuslinse optisch auskorrigiert. Spezielle Okulare oder Projektive sind nicht mehr erforderlich, die Tubuslinse könnte das Bild direkt auf den Kamerachip projizieren. Dies ist auch der Fall bei C-Mount Adaptern für Videokameras mit 1 Zoll Chipgröße. Diese Adapter mit dem Faktor 1 enthalten keine Optik. Aus diesen Überlegungen heraus wurde die folgende Ergo-DSLR Adaption entwickelt (der beschriebene Adapter ist beim Deutschen Patentamt unter dem Aktenzeichen DE202005013948U1 als Gebrauchsmuster eingetragen).



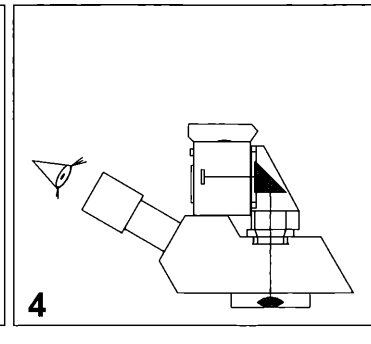


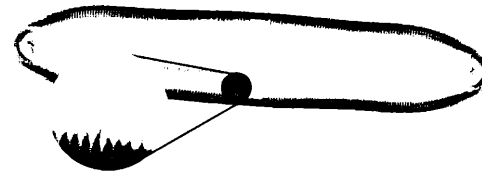
Abb. 3: Herkömmliche Adaption digitaler Spiegelreflexkameras an Mikroskope mit Unendlich-Optik. – Abb. 4: Ergonomische DSLR Adaption.

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

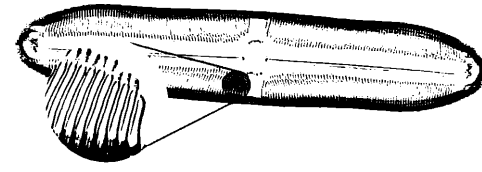
Hierbei wird die Kamera um 90° gedreht montiert. Der Strahlengang der Tubuslinse wird über ein 90° Prisma umgelenkt. Wenn die Brennweite der Tubuslinse groß genug ist, kann die Kamera mechanisch über dem trinokularen Tubus montiert werden (Abb. 4). Mit einer Brennweite der Tubuslinse von 200 mm bei Leica Mikroskopen der DM-Serien schwebt die Kamera wenige Millimeter über dem Trinokulartubus. Auch Zeiss Geräte mit einer Brennweite der Tubuslinse von 160 mm erlauben diese Montageweise. Olympus Mikroskope mit einer Brennweite der Tubuslinse von 180 mm sind ebenfalls geeignet. Für Nikon Mikroskope (200 mm Brennweite der Tubuslinse) liegen keine eigenen Erfahrungen vor. Die Vorteile der digitalen Fotografie können bei dieser Anbauweise wie gewohnt voll genutzt werden, da die Kamera in gewohnter Position unmittelbar in Augenhöhe des Benutzers liegt.
Alle Bedienelemente sind ohne Umdenken oder Ändern der Sitzposition des Mikrofotografen wie gewohnt erreichbar. Der Monitor der digitalen SLR ist unmittelbar einsehbar. Gerade die sofortige Kontrolle der Bildergebnisse ist schließlich der entscheidende Systemvorteil der digitalen Fotografie. Unter herkömmlichen Adaptionsgegebenheiten wird dieser Vorteil durch die ungünstige Lage des Monitors stark beschnitten. Einige der neueren digitalen Spiegelreflexmodelle bieten zwar auch eine so genannte Live-view Funktion, nicht alle Modelle bieten jedoch den dazu konsequenterweise nötigen schwenkbaren Monitor. Mit dieser Adaption lässt sich auch bei Kameramodellen wie der Leica Digilux 3 diese hilfreiche Vorschaufunktion ergonomisch nutzen (Abb. 8). Die Scharfstellung des Bildes geschieht bei dieser Ergo-DSLR Adaption ausschließlich über die Okulare. Die Parfokalität der Anordnung wird durch eine Längenvariation des mikroskopseitigen Anschlusses des Winkeladapters gewährleistet. Kameras mit Live-view Funktion sind dabei natürlich sehr hilfreich, aber auch ohne diese Funktion genügen einige Probeschüsse, um einen exakten Abgleich durchzuführen.

Mikroblitz

Neben zahlreichen Vorteilen der Verwendung von DSLRs in der Mikrofotografie haben diese Kameras einen gravierenden Nachteil: Der Spiegelschlag und insbesondere der Verschluss



5



6

Abb. 5: Erschütterungsbedingte Unschärfe. Pentax DSLR, Belichtungszeit 1/30 Sekunde, mit Spiegelvorauslösung. – Abb. 6: Präparat aus Abbildung 5, Blitzbelichtung.

erzeugen erhebliche Erschütterungen (Abb. 5). Eine besonders wirkungsvolle Maßnahme dagegen ist die Verwendung eines Elektronenblitzes. Die Leuchtzeiten können deutlich kürzer sein als die Dauer der Erschütterungen. Die im Hinblick auf die Kameravibrationen ungünstigen Belichtungszeiten des Systems Mikroskop plus Kamera brauchen beim Einsatz eines Blitzes nicht ausgespart werden (Abb. 6). Bedingt durch eine recht lange Nachleuchtdauer von Xenon-Blitzröhren ist die Leuchtdauer jedoch nicht beliebig kurz einstellbar. Daher ist es günstig, den Blitz auf den zweiten Verschlussvorhang der Kamera zu synchronisieren, falls möglich. Unschärfe durch zu langes Nachleuchten wird so vermieden.
Zur Realisation einer Mikroblitzeinrichtung wurde folgender Lösungsweg beschritten: Da bereits mehrere positive Erfahrungen hinsichtlich der Verwendung leistungsfähiger Leuchtdioden (LEDs) im mikroskopischen Strahlengang vorlagen, wurde kurzerhand die im externen Lampengehäuse befindliche 100 W Halogenlampe durch das System LED-Blitzröhre ersetzt. Leuchtdioden emittieren nahezu keine Wärmestrahlung. Dadurch ist es möglich, unmittelbar vor die LED eine Blitzröhre zu positionieren. Wird dieses System dort platziert, wo sich der Glühwendel der Halogenlampe befand, sind die Bedingungen der Köhler'schen Beleuchtung weitgehend eingehalten (Abb. 7).

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

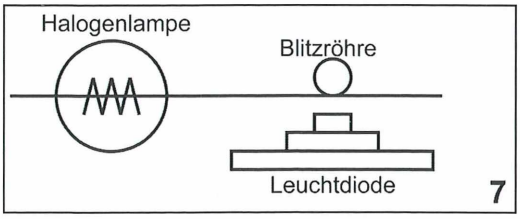


Abb. 7: Schematische Anordnung der Blitzröhre mit Leuchtdiode auf der Ebene der ersetzten Halogenlampe.

Durch die fehlende Nachleuchtträgheit der LED kann zusätzlich eine Stroboskopbeleuchtung mit integriert werden, die detaillierte Beobachtung schneller Bewegungsmuster ermöglicht. Hat das Blitzgerät noch einen Hochspannungs-Synchronkreis zur Verwendung an älteren Analogkameras mit X-Kontakt, muss ein Optokoppler in den Synchronkreis geschaltet werden, der das Synchronsignal der DSLR galvanisch vom Blitz entkoppelt. Erfolgt diese Maßnahme nicht, wird die Kamera nach wenigen Auslösungen stark beschädigt, da die Synchronspannungen bis 400 V die kameraseitigen Schaltkreise zerstören. Entsprechen die Blitzgeräte der ISO 10330, zum Beispiel die Geräte mit SCA 300 Adaptern älterer Metz Serien, können diese problemlos Verwendung finden.

Steuerung der Blitzbelichtung

Die TTL-Belichtungssteuerung analoger Kameras kann nicht problemlos ins digitale Zeitalter portiert werden. Ursächlich hierfür sind die völlig unterschiedlichen Reflexionseigenschaften von Film und Sensorchip. Soll eine vergleichbare Zuverlässigkeit und Handhabbarkeit erzielt werden, ist der Einsatz aktueller Systemblitzgeräte mit Vorblitzmessung zwingend erforderlich (Kreutz und Miller, 2008). Die Steuerung der Blitzintensität – letztlich der Blitzzeit – erfolgt bei der hier vorgestellten Realisation jedoch manuell. Der Sensor des Blitzcomputers wird durch einstellbare Widerstände in Form eines Potentiometers oder Stufenschalters mit entsprechenden Festwiderständen ersetzt. Ein in Reihe zum Stufenschalter geschaltetes Potentiometer ermöglicht die Variation der Blitzintensität um ± drei Lichtwerte.

Realisierte Adaptionsbeispiele

Neben einer Pentax *istDs DSLR, welche bereits seit über drei Jahren mit der beschriebenen Adaption erfolgreich eingesetzt wird, konnte im Januar 2007 eine Leica Digilux 3 dank der freundlichen Leihgabe der Firma Leica/Solms getestet werden. Aufgrund der abweichenden Auflagemaße des Four-Thirds Standards (38,85 mm) ergibt sich insgesamt eine ausgewogenere mechanische Adaption.

Bildbeispiele

Auch wenn die hier gezeigten Bildgrößen keine endgültige Beurteilung der Bildqualität zulassen, sollen dennoch Bilder einiger Kontrastie-

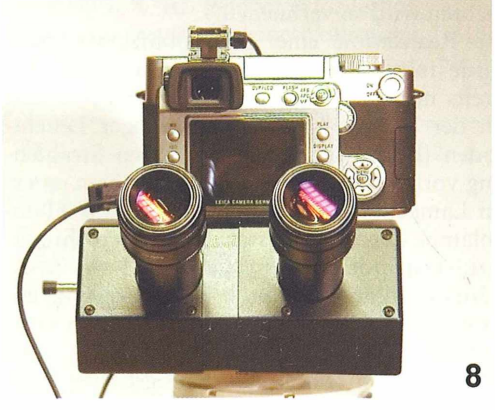


Abb. 8: Adaption Leica Digilux 3 am Leica DMLB. – Abb. 9: Adaption Pentax *istDs am Zeiss Axioskop 40.

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

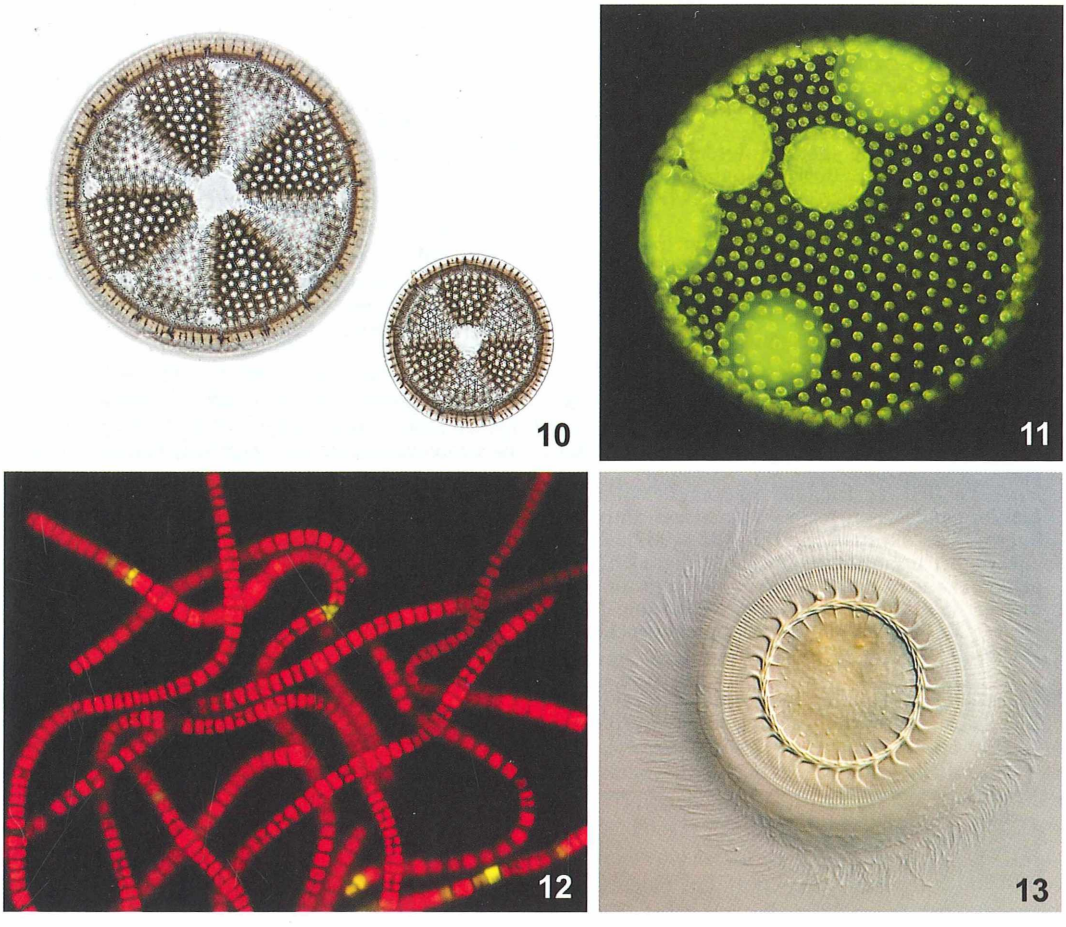


Abb. 10: Fossile Diatomeen, Hellfeld. – Abb. 11: *Volvox aureus* Kolonie, Dunkelfeld. – Abb. 12: *Klebsormidium* spec., Primärfluoreszenz bei Blauanregung. – Abb. 13: *Trichodina* spec., Differentieller Interferenzkontrast.

rungsverfahren kurz vorgestellt werden, um die Einsatzbandbreite der DSLRs zu dokumentieren (Abb. 10–14).

Fazit

Viele aktuelle DSLR Modelle eignen sich gut bis sehr gut für die mikroskopische Dokumentation. Abgesehen von den systembedingten Vibrationen durch Spiegelschlag und Verschluss ergeben sich keinerlei Nachteile gegenüber dem Einsatz anderer Konsumermarkt-Kameras. Insbesondere der flächenmäßig große Sensor prädestiniert eine DSLR für die Mikrofotografie. Optimale Anpassung an eine direkte Projektion des Bildes durch die Tubuslinse der Unendlich-Mikroskope bieten hierbei Kameramodelle mit Four-Thirds Sensoren. Der Vorteil der längeren Marktpräsenz der DSLRs kommt hinzu. Mit der gezeigten Adaption ergibt sich zusätzlich eine ergonomische Arbeitsweise, auch ohne den Einsatz eines die Kamerafunktionen fernsteuernden PCs.

Danksagung

Für die freundliche Unterstützung durch die Leica Camera AG, Solms, namentlich Frau Looke, bedanke ich mich an dieser Stelle ganz besonders.

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

Literaturhinweise

Günther, G.: Hardware und Software für Mikroskopiker. Die Adaption der Nikon Coolpix 990 und die Anwendung aktueller Programme zur Bildbearbeitung. Mikrokosmos 91, 231–239 (2002).
Henkel, K.: Artefakte in Mikrofotografien. Homepage der Mikroskopischen Vereinigung München e. V.: http://www.mikroskopie-muenchen.de (November 2003).
Husemann, H.: Wieviel Pixel benötigt man für ein Mikrofoto? Mikrokosmos 93, 75–80 (2004).
Kreutz, M.: Erfahrungen mit dem Mikroblitz-Doppelkollektor am Olympus BX-50. 6. Mikroskopie Tage Hagen, 1996.
Kreutz, M., Miller, M.: TTL-gesteuerte Mikroblitzfotografie mit der digitalen Spiegelreflexkamera Olympus E-400. Mikrokosmos 97, 158–163 (2008).
Piper, J.: Technische Realisation digitaler Mikrofotografie mit handelsüblichen Consumer-Digitalkameras. Teil 2: Digitale Spiegelreflexkameras, Elektronenblitz-Fotografie, zukünftige Entwicklungen. Mikrokosmos 96, 173–182 (2007).
Schubert, R.: Erfahrungen mit einer digitalen Spiegelreflexkamera für die Mikroblitzfotografie. Homepage der Mikroskopischen Vereinigung München e. V.: http://www.mikroskopie-muenchen.de (März 2005).

Verfasser: Gerd Günther, Knittkuhler Straße 61, 40629 Düsseldorf; E-Mail: gerd.guenther@rp-plus.de

euromex
MICROSCOPES HOLLAND

Mikroskope
Stereomikroskope
Mikrotome
Kaltlichtbeleuchtung
Refraktometer

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

Fordern Sie unseren Prospekt an

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

Nachricht

Verbesserter Klebegrund für größere Objekte

Kürzlich erschien im MIKROKOSMOS ein Artikel unseres Autors Eberhard Raap zur *Arretierung von Mikrofossilien bei der Präparation durch Schmelzfixierung* (Raap, 2008). Inzwischen entwickelte er ein verbessertes Rezept, das wir hiermit vorstellen möchten.

Er schreibt uns: *Durch weitere Untersuchungen an Klebegrundgemischen, die ich zwischenzeitlich durchgeführt habe, möchte ich für größere Mikrofossilien noch folgende Rezeptur ergänzend zu den bisherigen Angaben empfehlen:*
Stammlösung: 8 g Schellack der Marke ASTRA (ungebleicht) in 100 ml Isopropanol (wasserfrei) lösen.
Anwendungsgemisch: 6 ml Stammlösung (ASTRA-Schellack), 4 ml Äther und 4 ml n-Butanol zum Gebrauch vermischen.
Der Vorteil der Anwendung ist hierbei in der etwas höheren Schichtdicke sowie in der besseren Beständigkeit des ASTRA-Schellacks gegenüber dem Lösungsmittel des Einschlussharzes zu sehen.

Literaturhinweis

Raap, E.: Arretierung von Mikrofossilien bei der Präparation durch Schmelzfixierung. Mikrokosmos 97, 178–180 (2008).

Hersteller-und Lieferfirma für Schellack

Schellackwerk Stroever GmbH & Co. KG,
Auf der Muggenburg 11, 28217 Bremen,
Internet: www.stroever.de

Redaktion MIKROKOSMOS

KINDER STÄRKEN
PATE WERDEN

Sichern Sie
mit 31 Euro im Monat
das Leben eines Kindes.
Werden Sie Pate!
Rufen Sie uns an!
0180 33 33 300 (9 Cent/Min.)

Kindernothilfe e.V.
Düsseldorfer Landstraße 180
47249 Duisburg
www.kindernothilfe.de

KINDER NOT HILFE

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

Erweiterte Techniken zur Software-gestützten dreidimensionalen Rekonstruktion und Schärfeoptimierung mikrofotografischer Bilder

Jörg Piper

Begrenzte Tiefenschärfe stellt ein grundlegendes Problem in der Mikrofotografie dar, welches die fotografische Wiedergabe visueller mikroskopischer Eindrücke einschränkt. Bei jedem Mikroskop nimmt die Tiefenschärfe des abbildenden optischen Systems mit zunehmender Objektivvergrößerung überproportional ab. Tabelle 1 gibt einen orientierenden Überblick über die ungefähren fotografisch verwertbaren Tiefenschärfebereiche in Abhängigkeit von der Vergrößerung verwendeter Objektive (Hart, 2003).

Bei der direkten mikroskopischen Beobachtung können Begrenzungen der Tiefenschärfe durch kontinuierliches Betätigen der Mikrometerschraube kompensiert werden, so dass der Betrachter auch bei räumlichen Objekten, deren Schichtdicke deutlich über dem Tiefenschärfebereich der verwendeten Optik liegt, einen Eindruck von der Gesamtbeschaffenheit des Objektes gewinnen kann. In der konventionellen Mikrofotografie kann pro Foto jedoch nur eine definierte Schärfenebene fokussiert werden. Liegt die vertikale Ausdehnung des Objektes höher als der jeweilige Tiefenschärfebereich, ergeben sich daher unvermeidbare regionale Bildunschärfen.

Auf konventionellem Wege können diese Einschränkungen der räumlichen Darstellbarkeit überwunden werden, wenn anstelle eines Fotos ein Videofilm gedreht wird. Hier kann der Betrachter das Spiel des Mikroskopikers mit der Mikrometerschraube visuell nachvollziehen. Filmdokumente haben allerdings den prinzipiellen Nachteil, dass die Bildauflösung deutlich niedriger als die erreichbare Auflösung herkömmlicher Fotos liegt; dies gilt gleichermaßen für den analogen wie für den digitalen Bereich.

Alternativ besteht die Möglichkeit, von einem dreidimensionalen Objekt ein konventionelles Foto unter Verwendung eines möglichst gering vergrößernden Objektivs zu erstellen, um in einem separaten Schritt eine Ausschnittsvergrößerung anzufertigen. Je nach Objektbeschaffenheit können solche Ausschnittsvergrößerungen unter Aspekten der Tiefenschärfe zu besseren Gesamtresultaten führen, als wenn mit stärker vergrößernden Objektiven bei geringerer Tiefenschärfe konventionell fotografiert wird. Diese Methode der optischen Tiefenschärfeverbesserung ist mit grundsätzlichen Nachteilen behaftet. Der Zugewinn an Tiefenschärfe vollzieht sich auf Kosten der Bildauflösung, da das Auflösungsvermögen eines Objektivs mit abnehmender Vergrößerung sinkt. Zusätzlich stößt die Methode umso eher an ihre Grenzen, je größer die räumliche (vertikale) Ausdehnung des Objektes ist.

Die beschriebenen methodischen Limitierungen einer dreidimensionalen Fotodokumentation können mit Hilfe spezieller Bildbearbeitungs-

Tabelle 1: Objektivvergrößerung und Tiefenschärfe (nach Hart, 2003).

Objektiv-Vergrößerung	Numerische Apertur	Tiefenschärfe (µm)
4×	0,10	55,5
10×	0,25	8,5
20×	0,40	5,8
40×	0,65	1,0
80×	0,85	0,4
100×	0,95	0,19

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

software überwunden werden. Unlängst wurde ein instruktiver Erfahrungsbericht über diese Thematik publiziert (Günther, 2006).
In Ergänzung hierzu soll im vorliegenden Beitrag auf weitere spezielle Anwendungsaspekte der zur Verfügung stehenden Software und einige ergänzend einsetzbare Techniken eingegangen werden, welche die Qualität der erhältlichen Resultate zusätzlich steigern können.

Material und Methode

Eingesetzt wurden die beiden bereits von Günther (2006) beschriebenen Programme
Combine Z 5 (Hedley, 2006) und Helicon Focus (Danylo, 2006); zusätzlich getestet wurde die astrofotografische Software Registax (Berrevoets, 2006). Bearbeitet wurde Bildmaterial im gesamten lichtmikroskopischen Vergrößerungsbereich unter Verwendung von Stereo- und Lichtmikroskopen bei verschiedenen Beleuchtungsarten (Hellfeld, Dunkelfeld, Phasenkontrast, Polarisation, Interferenzkontrast, Auflicht).
Zunächst wurde die Leistungsfähigkeit der erwähnten Programme unter Aspekten der Ergebnisqualität und Verarbeitungsgeschwindigkeit vergleichend untersucht. Darüber hinaus wurden einige erweiterte Techniken zur zusätzlichen Qualitätsverbesserung evaluiert, welche in diesem Beitrag vorgestellt werden sollen (Double-Stacking, Bildüberlagerungen bei variabler Farbtemperatur, submikroskopische Detailvergrößerungen im monochromatischen Licht).

Ergebnisse

Die getesteten Programme basieren übereinstimmend auf dem Prinzip, dass mehrere Einzelaufnahmen einer Serie unterschiedlich fokussierter Einzelbilder so zu einem Gesamtbild überlagert werden, dass von jedem Einzelbild nur scharf abgebildete Anteile verwertet werden. Diese Überlagerungstechnik kann im gesamten lichtmikroskopischen Vergrößerungsbereich und bei allen getesteten Beleuchtungsarten mit Erfolg eingesetzt werden. Da die verschiedenen Programme mit unterschiedlichen Algorithmen arbeiten, können die erhältlichen Ergebnisse im direkten Vergleich programmabhängig variieren.

Combine Z 5

Combine Z 5 führt als Freeware bei nahezu allen Applikationen zu ausgezeichneten Ergebnissen; die Abbildungen 1–6 wurden mit dieser Software erstellt. Die Bildserie, welche als Scan des jeweiligen Objekts zu dessen 3D-Rekonstruktion verwendet werden soll, ist zunächst zu laden. Anschließend kann die automatisiert ablaufende Bildüberlagerung gestartet werden. Der Fortgang des Verarbeitungsprozesses wird in einem Textfeld angezeigt. Das resultierende optimierte Summationsbild ist abschließend als separate Bilddatei zu speichern.
Sofern die Größe der Einzelbilder etwa drei Megapixel nicht überschreitet, werden die Einzelbilder und das fertige Summationsbild jeweils im Vollbildmodus präsentiert.
Überschreitet die Größe der Einzelbilder drei Megapixel, lässt sich das Programm weiterhin einsetzen; allerdings werden die Einzelbilder und das resultierende Rekonstruktionsbild in diesem Fall nicht mehr visuell angezeigt. Das Programm informiert nur noch textbasiert über den Bearbeitungsfortgang. Das fertige Summationsbild kann daher erst nach seiner Speicherung mittels anderweitiger Software geöffnet und betrachtet werden.
Combine Z 5 bietet im Unterschied zu den sonstigen getesteten Programmen mehrere alternativ verwendbare Makros zur automatisierten Bearbeitung. In der Routine führt das Standard-Makro „Do Stack“ meist zu sehr gut verwertbaren Ergebnissen. Bei diesem Makro werden Farbgebung und Helligkeit der Einzelbilder gewichtet, die Zentrierung der Einzelaufnahmen optimiert und Artefakte eliminiert.
Der alternativ mögliche Befehl „Do Average and Filter“ verwendet eine modifizierte Filtermethode hinsichtlich Artefakten. Hierdurch können gegebenenfalls noch schärfere und kontrastreichere Resultate entstehen, welche dem Ergebnis des Standard-Makros bisweilen sichtbar überlegen sind.
Das Makro „Stack Only“ verzichtet auf Zentrierungskontrolle und weitergehende Modifikationen der Einzelbilder. Daher muss die jeweilige Bildsequenz exakt vorzentriert sein. Das resultierende Summationsbild ist meist weniger kontrastreich und von weicherer Kontur. Diese Variante der Überlagerung kann vorteilhaft sein, wenn das rekonstruierte Bild mit anderweitiger Bildbearbeitungssoftware nachbearbeitet werden soll.

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

Für die Speicherung des resultierenden Summationsbildes stehen zwei alternative Befehle zur Verfügung, „Safe Frame/Picture As" und „Safe Rectangle As" Wenn vor der Speicherung die Taste A gedrückt wird, werden randständige Artefakt-Säume, welche bei der Bildüberlagerung entstehen, beschnitten. Alternativ kann manuell mittels Mauszeiger ein beliebiger Bildausschnitt zur Speicherung festgelegt werden. Der jeweils gewählte Ausschnitt kann als „Rectangle" abgespeichert werden. Als „Frame" beziehungsweise „Picture" wird hingegen grundsätzlich das zugehörige Vollbild einschließlich eventueller Randsäume gespeichert. Die gleichzeitige Verwendung beider Speicherbefehle kann zur Schärfeoptimierung mittels „Double-Stacking" eingesetzt werden (siehe unten).

Helicon Focus

Die Arbeitsweise dieser Software entspricht prinzipiell Combine Z 5. Im Unterschied zu Combine Z 5 werden die Einzelaufnahmen der jeweiligen Bildsequenz jedoch als Miniaturbilder zur Auswahl angezeigt; weiterhin werden Einzelbilder, aktuelle Bearbeitungsphasen und fertige Resultate kontinuierlich visuell präsentiert, und zwar unabhängig von der Größe beziehungsweise Megapixelzahl der Einzelbilder (Testungen bis zu 8 Megapixeln).
Zur automatisierten Bildrekonstruktion bietet Helicon Focus nur einen Standardbefehl („Start"). Das Ergebnis, welches unter Beibehaltung der werksseitigen Voreinstellungen erhältlich ist, entspricht demjenigen des Makros „Do Stack" bei Combine Z 5. Die Abbildungen 7–8 veranschaulichen die Leistungsfähigkeit dieser Software bei monochromatischer Beleuchtung. Auf die deutlich schnellere Bearbeitungsgeschwindigkeit dieser Software und einige weitere anwendungsbezogene Vorteile, vor allem die intuitive Bedienbarkeit wurde bereits von Günther (2006) hingewiesen.

Registax

Dieses Freeware-Programm bietet neben einer automatisierten Überlagerung serieller Einzelbilder sehr weitreichende Bearbeitungsoptionen, steht allerdings hinsichtlich der erreichbaren Endergebnisse nach eigener Erfahrung im mikroskopischen Anwendungsbereich hinter Combine Z 5 und Helicon Focus zurück. Insgesamt erscheinen die Strukturen bei dieser Software weniger exakt rekonstruiert und durchgezeichnet. Darüber hinaus ergibt sich die Einschränkung, dass die Software nur Einzelbilder bis zu einer ungefähren Größe von 2 Megapixeln verarbeiten kann. Bei größerer Datendichte reagiert die Software nach ihrem Starten nicht. Andererseits bietet diese Software die Option, neben Standbildern auch AVI-Videosequenzen einzulesen und deren Einzelbilder zu einem Summationsbild zu überlagern.

Komponenten der Qualitätsverbesserung

Werden die erwähnten Programme (Combine Z5 und/oder Helicon Focus) eingesetzt, tragen verschiedene Komponenten zur qualitativen Verbesserung des resultierenden Summationsbildes bei. Evident ist die fundamentale Steigerung der Tiefenschärfe, welche bereits in dem erschienenen Beitrag von Günther (2006) ausführlich beschrieben wurde. Zusätzlich können Artefakte eliminiert oder verringert werden, wenn die Software diese bei der Bildrekonstruktion herausrechnet. Dies gilt beispielsweise für mögliche Rauschartefakte und Überstrahlungseffekte bei Dunkelfeldbeleuchtung. Bei Objekten mit sehr hohen Helligkeitskontrasten können ausgewogener belichtete Bilder mit verringerten über- oder unterbelichteten Anteilen realisiert werden, wenn eine Belichtungsreihe erstellt wird und die unterschiedlich belichteten Einzelaufnahmen anschließend überlagert werden.
Speziell bei hohen Vergrößerungen können Konturschärfe und Auflösung substanziell verbessert werden, wenn interessierende Details bei minimal variierender Fokussierung mehrmals fotografiert und die zugehörigen Einzelbilder anschließend überlagert werden. In diesem Fall können verbliebene punktuelle Restunschärfen seitens Software herausgerechnet werden. Auch physiologisch und technisch bedingte Einschränkungen der Fokussiergenauigkeit (Akkomodationsschwankungen des Auges, Restfehler bei der Justierung eines Fehlsichtigkeitsausgleiches, eingeschränkte Schärfe eines Monitors oder Kameradisplays etc.) können durch wiederholtes Fokussieren und Fotografieren mit anschließender Bildüberlagerung reduziert oder ausgeschaltet werden.
Die Vergrößerungsfähigkeit digitaler Aufnahmen wird grundsätzlich verbessert, da die Datendichte resultierender Summationsbilder auf Grund gesteigerter Bildinformation in der Regel höher liegt als bei den Einzelaufnahmen der zu-

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

gehörigen Bildsequenz. Je nach Informationsdichte des Objektes kann der Datenumfang des rekonstruierten Bildes auf das Zwei- bis Vierfache anwachsen.

Software-abhängige Einschränkungen

Von anderen Autoren wurde diskutiert, dass ein Mikroskop einer Stereolupe vorgezogen werden sollte, da bei Stereolupen während der Erstellung einer Bildserie ein Bildversatz möglich ist, den nicht alle Programme korrigieren können (Günther, 2006). Im Hinblick auf Helicon Focus kann dies auch nach eigener Erfahrung bestätigt werden. Combine Z 5 hingegen ist nach Maßgabe eigener Testungen sehr gut in der Lage, vorhandene Bildverschiebungen innerhalb einer Serie exakt zu korrigieren, so dass einwandfreie Rekonstruktionen möglich bleiben (Abb. 1 und 2).
Weitere Einschränkungen können sich programmabhängig bei Verwendung von monochromatischem Licht ergeben. In diesem Fall kann Combine Z 5 mit der Konturerkennung überfordert sein, so dass die Bildüberlagerung programmseitig vorzeitig unter Fehlermeldungen abgebrochen wird. Helicon Focus konnte hingegen alle getesteten monochromatischen Bilder ohne Probleme mit sehr guten Resultaten verarbeiten (Abb. 7 und 8).

Bearbeitungsgeschwindigkeit

Auf programmabhängige Unterschiede der jeweiligen Verarbeitungszeiten wurde bereits von Günther (2006) hingewiesen. Werden Bildsequenzen mit verschiedenen Rechnern unter Einsatz unterschiedlicher Programme und Verwendung unterschiedlicher Makros vergleichend verarbeitet, können mehrere mathematische Gesetzmäßigkeiten abgeleitet werden:
Wenn die Größe der Einzelbilder verdoppelt wird, verlängert sich die Verarbeitungszeit etwa auf das 2,0- bis 2,5fache.
Die Bearbeitungszeit verhält sich proportional zur Anzahl der zu verarbeitenden Einzelbilder.
Abbildung 9 zeigt beispielhaft Messergebnisse für Helicon Focus und zwei Makros von Combine Z 5, jeweils bezogen auf Einzelbilder unterschiedlicher Größe (2027 × 1520 und 3072 × 2304 dpi). Es ist ersichtlich, dass die ungefähre Bearbeitungszeit für eine Bildserie abgeschätzt werden kann, wenn die Anzahl der zu verarbeitenden Einzelbilder je nach Software, Makro und Bildgröße mit dem 3- bis 20-fachen multipliziert wird.
Die Vergleichsmessungen wurden mit zwei unterschiedlichen Computern durchgeführt. Zur Verfügung stand ein PC mit Pentium III-1333-Prozessor und Windows 98 SE, ein weiterer mit Pentium IV-1994-Prozessor und Windows XP; beide Rechner waren mit 512 MB RAM bestückt. Die erhältlichen Messwerte waren für die getesteten Applikationen bei beiden Rechnern identisch.

Erweiterte Techniken

Die Qualität der erhältlichen 3D-Rekonstruktionen kann auf verschiedene Weise weitergehend verbessert werden.

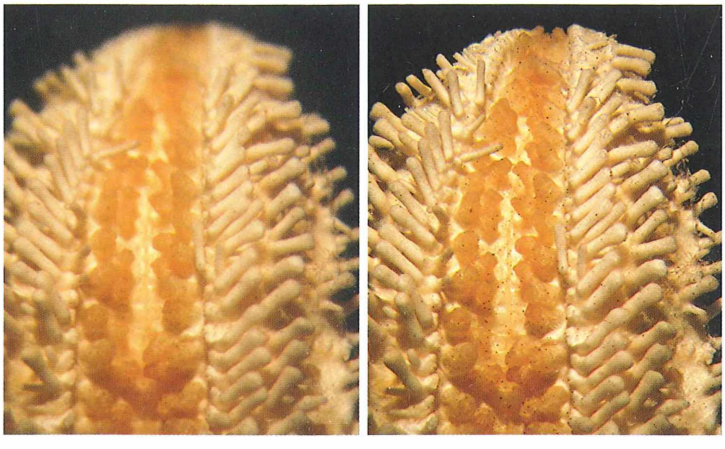


Abb. 1: Seestern-Arm, Länge ca. 25 mm, Stereomikroskop, Auflicht, Objektiv 1×, Okular 10×, 3D-Rekonstruktion aus acht Einzelbildern, Double-Stacking-Technik.

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

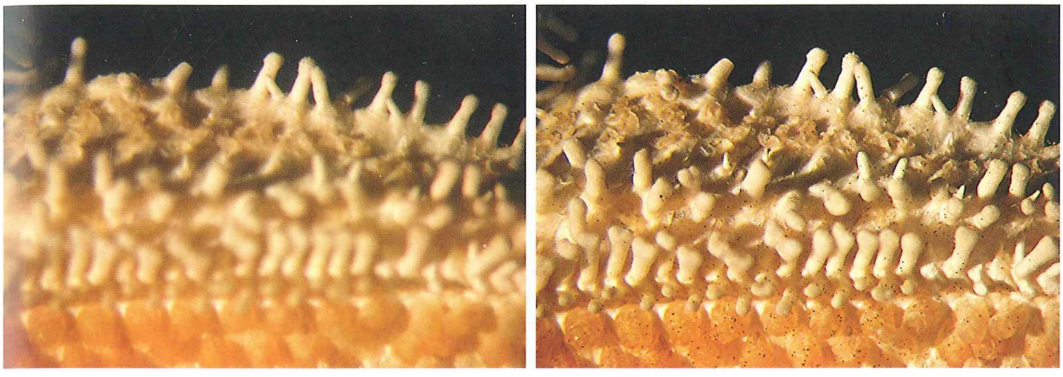


Abb. 2: Seestern aus Abbildung 1, Detailansicht, Stereomikroskop, Auflicht, Objektiv 4×, Okular 10×, 3D-Rekonstruktion aus sechs Einzelbildern, Double-Stacking-Technik.

Doppelte Bildüberlagerung („Double stacking")

Wenn Objekte mit besonders hoher Tiefenausdehnung zu fotografieren sind, kann das Rekonstruktionsergebnis gegebenenfalls Restunschärfen enthalten, auch wenn das Objekt lückenlos in zahlreichen Einzelbildern gescannt wurde. In diesem Fall kann die resultierende Bildschärfe weitergehend verbessert werden, wenn bei identischer Ansicht zwei separate Rekonstruktionen aus zwei separat erstellten Bildsequenzen durchgeführt werden. In einem zweiten Schritt können die beiden resultierenden Summationsbilder erneut überlagert werden. Das hieraus entstehende Rekonstruktionsbild zeigt meist eine nochmals sichtbar verbesserte Schärfe (Abb. 1).

Bei Verwendung von Combine Z 5 kann das Rekonstruktionsbild einer Serie zweifach abgespeichert werden, und zwar als „Frame/Picture" und als „Rectangle". Da diese beiden Speicheroptionen offenbar mit unterschiedlichen Algorithmen arbeiten, können die Schärfeebenen bei „Frame" und „Rectangle" leicht differieren. In solchen Fällen kann die Schärfe im Endergebnis ebenfalls sichtbar verbessert werden, wenn „Frame" und „Rectangle" in einem zweiten Schritt nochmals zu einem Summationsbild überlagert werden (Abb. 2).

Bildüberlagerungen bei variabler Farbtemperatur

Bei bestimmten Objekten, zum Beispiel ungefärbten vitalen Zellen im Phasenkontrast, können zusätzliche Farbkontraste zur Bildverbesserung beitragen, wenn von einem Objekt zwei Rekonstruktionsbilder bei unterschiedlicher Farbtemperatur erstellt werden, welche ihrerseits erneut überlagert werden, wie vorausgehend unter „Double stacking" beschrieben. Zwei separate Bildsequenzen eines Objektes können beispielsweise bei Glühlampenlicht und Blitzlichtbeleuchtung angefertigt werden. Diese Sequenzen und ihre Summationsbilder unterscheiden sich wesentlich in Farbtemperatur und Farbcharakteristik.

Werden die Summationsbilder beider Serien ihrerseits erneut überlagert, bewirken die Koinzidenzen von rot-gelbem Glühlampenlicht und blau-violettem Blitzlicht zusätzliche farbliche Kontrastierungseffekte, welche einer Solarisation ähneln. Auf diese Weise können feine Strukturen im submikroskopischen Grenzbereich, beispielsweise Membrantexturen des Zellrandes oder intrazelluläre Granulationen, deutlicher dargestellt werden (Abb. 6).

Bildüberlagerungen in monochromatischem Licht

Wenn auf mehrfarbige Darstellungen verzichtet werden kann, gewährleistet monochromatisches Grünlicht (Wellenlänge ca. 540 nm) aus technisch-physikalischen Gründen eine optimierte Bildschärfe. Potenzielle Restunschärfen auf Grund chromatischer Aberrationen im Bereich der Mikroskop- und Kameraoptik werden bei monochromatischer Beleuchtung vollständig eliminiert. Zusätzlich ergibt sich bei Digitalkameras im monochromatischen Grünlicht eine optimierte Auflösung und Konturschärfe, da die Pixel handelsüblicher Farbchips mehrheitlich auf Grünlicht ansprechen (50% Grün-

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

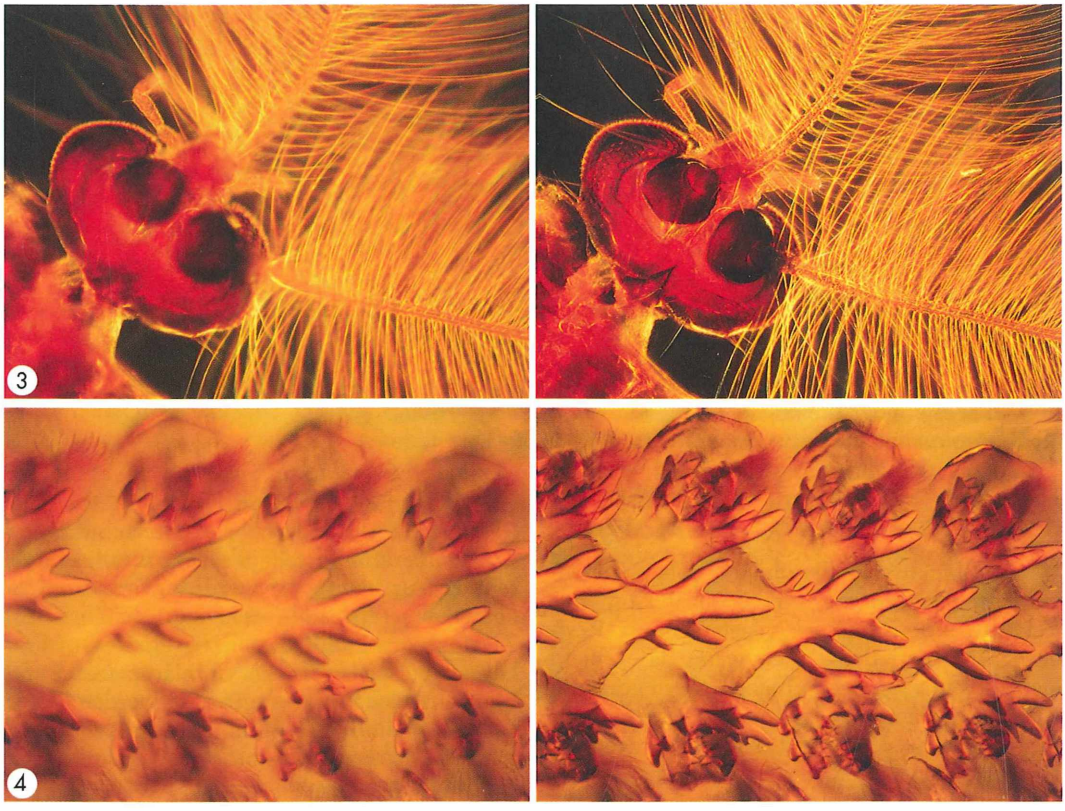


Abb. 3: Kopf einer Mücke, Detailansicht, Dunkelfeld, Objektiv 10×, Vario-Okular 10×, 3D-Rekonstruktion aus sieben Einzelbildern. – Abb. 4: Grillenmagen, Polarisation mit Lambda-Kompensatoren, Objektiv 16×, Vario-Okular 8×, 3D-Rekonstruktion aus 17 Einzelbildern.

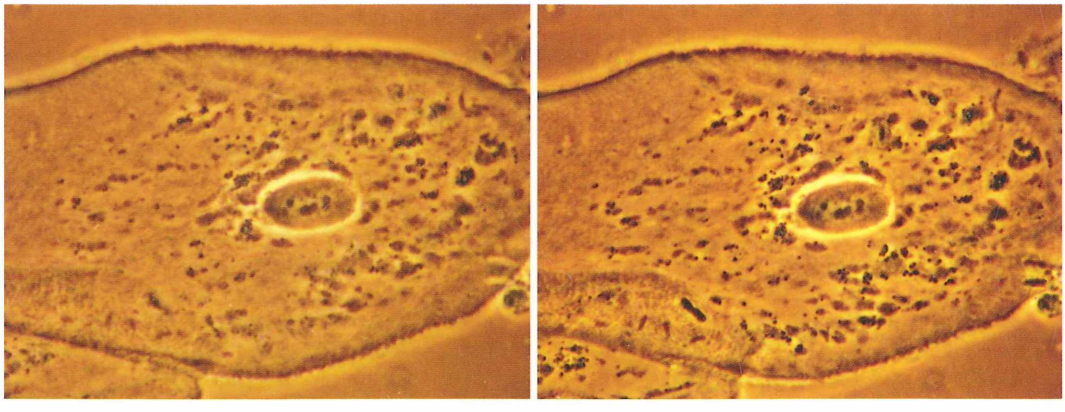


Abb. 5: Plattenepithelzelle der Mundschleimhaut, Vitalpräparat, ungefärbt, Phasenkontrast, Objektiv 100×, Vario-Okular 12,5×, 3D-Rekonstruktion aus 11 Einzelbildern.

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

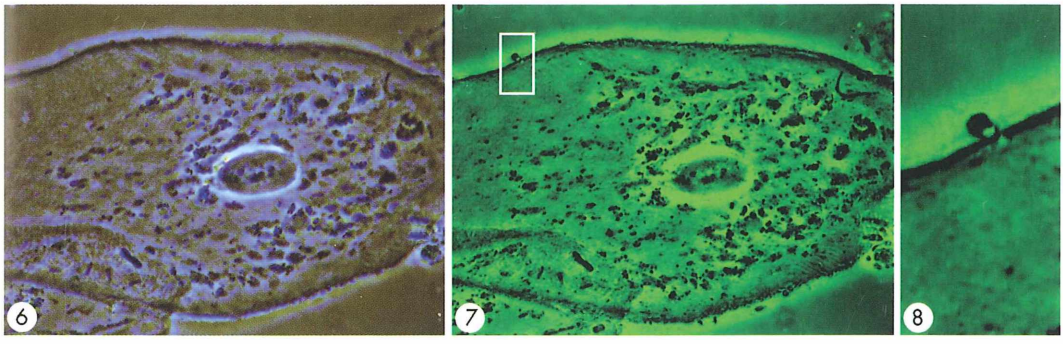


Abb. 6: Plattenepithelzelle aus Abbildung 5, Farbkontrastierung durch Überlagerung zweier Kunst- und Blitzlicht-Serien. – Abb. 7: Plattenepithelzelle aus Abbildung 5, Bildüberlagerungen im monochromatischen Grünlicht (Wellenlänge: 540 nm). – Abb. 8: Detail aus Abbildung 7 (siehe Rechteck), Membrantexturen des oberen Zellrandes. Schichtdicke der schwarz kontrastierten Grenzlinie ca. 40 nm.

licht, je 25% Rot- und Blaulicht). Auch die Diskriminierungsfähigkeit des menschlichen Auges ist im Grünbereich maximiert. Weitere Einzelheiten zu diesen Gesetzmäßigkeiten sind anderweitig publiziert (Altmann, 2003). Wenn von einem Objekt eine Bildsequenz in monochromatischem Grünlicht erstellt wird, kann das resultierende Summationsbild bei Vergleichsziehung zu konventioneller Weißlichtbeleuchtung von überlegener Qualität sein, so dass auch feine Strukturen im Grenzbereich der lichtmikroskopischen Darstellbarkeit sichtbar werden (Abb. 7 und 8).

Der Kontrastumfang kann bei streng monochromatischer Beleuchtung im Vergleich zu Weißlicht herabgesetzt sein. Wahrscheinlich auf Grund dieser Gegebenheiten kann die Software Combine Z 5 monochromatische Bilder nach eigener Erfahrung nicht verarbeiten. Für monochromatische Bildrekonstruktionen muss daher auf andere Programme, wie Helicon Focus, zurückgegriffen werden. Die schärfeoptimierten monochromatischen Summationsbilder können mittels konventioneller Bildbearbeitungssoftware nach ihrer Fertigstellung im Kontrast nachträglich gesteigert werden, vorzugsweise durch Veränderung der Gradationskurve beziehungsweise des Gradationshistogramms.

Diskussion

Mehrere aktuelle Computer-Programme ermöglichen eine rechnergestützte substanzielle Steigerung der Tiefenschärfe mikroskopischer Bilder. Die sonst in der Lichtmikroskopie üblichen Limitierungen der Fotodokumentation dreidimensionaler Objekte können auf diese Weise überwunden werden. Die erhältlichen Ergebnisse sind bei entsprechenden Objekten mit rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen vergleichbar, wie bereits von anderen Autoren eindrucksvoll gezeigt wurde (z.B. Günther, 2006). Als Vorteil kann herausgestellt werden, dass lichtmikroskopische Bildrekonstruktionen im Unterschied zur Raster-Elektronenmikroskopie eine Objektdarstellung in natürlicher Farbe ermöglichen.

Unabhängig von dieser fundamentalen Erhöhung der Tiefenschärfe können mit Hilfe der rechnergestützten Bildüberlagerung weitere wesentliche qualitative Verbesserungen erreicht werden:

- Artefakte können verringert oder vollständig eliminiert werden.
- Helligkeitsgegensätze können durch Überlagerung von Belichtungsmessreihen ausgeglichen werden.
- Visuelle Fokussierungenauigkeiten können durch Überlagerung mehrerer separat fokussierter Aufnahmen kompensiert werden.
- Strukturen im Grenzbereich der lichtmikroskopischen Darstellbarkeit können durch Überlagerung mehrerer Einzelaufnahmen deutlicher hervorgehoben werden.

Die beschriebenen erweiterten beziehungsweise ergänzend einsetzbaren Techniken (Double stacking, Verwendung von Lichtquellen unter-

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

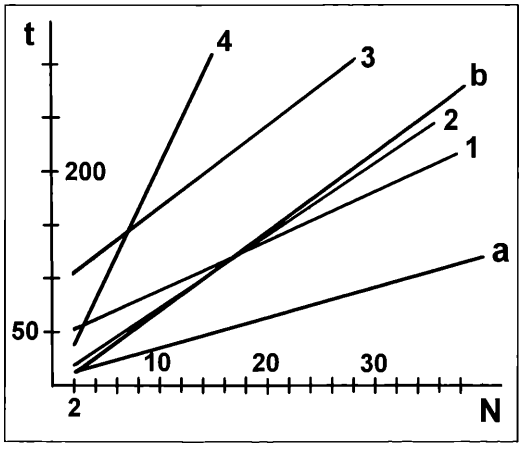


Abb. 9: Anzahl der Einzelbilder (N) und Bearbeitungszeit in Sekunden (t), Helicon Focus (Graph a und b), Combine Z 5 (Graph 1–4). Identische Kurvenverläufe für P III-Prozessor, 1333 MHz, Windows 98 SE und P IV-Prozessor, 1994 MHz, Windows XP.

Graph a: Einzelbilder 2048 × 1536, durchschnittliche Bildgröße: 2,2 MB, Standard-Presets, approximative Funktion: t = 3 N

Graph b: Einzelbilder 3072 × 2304, durchschnittliche Bildgröße: 3,9 MB, Standard-Presets, approximative Funktion: t = 7 N

Graph 1: Einzelbilder 2048 × 1536, durchschnittliche Bildgröße: 2,2 MB, Macro „Do Stack", approximative Funktion: t = 4,5 N + 40

Graph 2: Einzelbilder 2048 × 1536, durchschnittliche Bildgröße: 2,2 MB, Macro „Do Average and Filter", approximative Funktion: t = 7 N

Graph 3: Einzelbilder 3072 × 2304, durchschnittliche Bildgröße: 3,9 MB, Macro „Do Stack", approximative Funktion: t = 8 N + 90

Graph 4: Einzelbilder 3072 × 2304, durchschnittliche Bildgröße: 3,9 MB, Macro „Do Average and Filter", approximative Funktion: t = 20 N

schiedlicher Farbtemperatur, Bildrekonstruktionen im monochromatischen Licht) können zusätzlich zur Verbesserung der Bildinformation beitragen. Die Programme Combine Z 5 und Helicon Focus führen bei den meisten Routineapplikationen zu vergleichbaren Ergebnissen. In der Lupen- bzw. Stereomikroskopie sollte Combine Z 5 bevorzugt werden, da diese Software eventuelle Zentrierabweichungen der Einzelbilder infolge Bildversatz gut kompensiert. Für Arbeiten im monochromatischen Licht ist Helicon Focus prädestiniert, da Combine Z 5 mit der Konturerkennung monochromatischer Bilder nach eigenen Testungen überfordert ist.

Software zur Überlagerung astrofotografischer Videobilder (z.B. Registax) ist für mikroskopische Zwecke weniger empfehlenswert. Dies deckt sich mit der Erfahrung anderer Autoren, welche alternative Astro-Software (Astrostack, InnoStack) getestet haben (Hart, 2003). Andererseits könnte solche Software für Mikroskopiker von Interesse sein, welche auch von unbewegten Objekten digitale Videofilme drehen und aus den Einzelbildern ihrer Video-Sequenzen schärfeoptimierte und artefaktbereinigte Standbilder rekonstruieren möchten. Getestet wurde die jeweilige Software anhand digitaler Mikrofotos. Wenn analoges Bildmaterial qualitativ hochwertig digitalisiert wird, kann auch dieses bei Bedarf in gleicher Weise Software-gestützt optimiert werden.

Da die herstellerseitigen Voreinstellungen sehr ausgewogen sind, kann die jeweilige Software ohne benutzerseitige Konfigurationsänderungen bei einfacher Handhabung mit überschaubarem Arbeitsaufwand eingesetzt werden. Die Bearbeitungszeit für übliche Bildserienlängen liegt im Bereich weniger Minuten. Daher erscheint die erhältliche Software auch gut geeignet, zur Optimierung der Dokumentationsqualität in mikroskopische Routineabläufe integriert zu werden.

Attraktiv sind auch die Budget-schonenden Bezugsbedingungen der getesteten Software (Freeware oder Shareware zu fairen Lizensierungspreisen). Nach Maßgabe anderweitig publizierter Testergebnisse stehen die erhältlichen Resultate unter Aspekten der Bildqualität den Ergebnissen deutlich kostspieligerer professioneller Bearbeitungssoftware nicht nach [z.B. Image Pro und AnalySIS, getestet von Günther (2006) oder AutoMontage, getestet von Hart (2003)].

Zusammenfassend kann die beschriebene Software daher jedem Mikroskopiker empfohlen werden, der Mikrofotografie betreibt und wesentliche technisch-physikalisch bedingte Limitierungen der konventionellen Fotodokumentation überwinden möchte.

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

Literaturhinweise

Altmann, R.: Digitale Fotografie und Bildbearbeitung. Midas-Verlag, Zürich 2003, Kapitel Bildsensor, S. 20–24.
Berrevoets, C.: RegiStax. Free image processing software. http://registax.astronomy.net/, 2006.
Danylo: Helicon Focus. http://www.heliconfocus.com/pages/index.php?focus_overview, 2006.
Günther, G.: Hoch gestapelt – tiefenscharf: Anwendung aktueller Software zur Verarbeitung von Bilderstapeln. Mikrokosmos 95, 153–159 (2006).
Hadley, A.: CombineZ5. My software to combine pictures to increase depth of focus, http://www.hadley-web. pwp.blueyonder.co.uk/index.htm, 2006.
Hart, J.: 3D Microscopy and high-magnification macro-photography: Digital reconstruction and depth-of-field expansion. University of Colorado. http://www.crystalcanyons.net/pages/TechNotes/3DMicroMacro.shtm, 2003.
InnoStack: Astrostack. www.astrostack.com, 2006.
Synoptics Group, Syncroscopy: Auto-Montage. Unique software producing infinite depth in focus with additional 3D modeling and measurement features. http://www.syncroscopy.com/syncroscopy/products.asp, 2006.

Verfasser: Prof. Dr. Jörg Piper, Meduna-Klinik,
Clara-Viebig-Str. 4, 56864 Bad Bertrich,
Tel.: 026 74/182 31 84,
E-Mail: webmaster@prof-piper.com

Kurze Mitteilung

Der Verkieselung von Diatomeen-Schalen auf der Spur

Es gibt über 10.000 Diatomeen-Arten, die sich alle in der Struktur ihrer Schalen unterscheiden. Trotz der großen biologischen und ökologischen Bedeutung der Kieselalgen weiß man über die biochemischen Prozesse bei der Schalenbildung immer noch nicht viel. Die Verkieselung beginnt mit dem aktiven Transport von gelöster Kieselsäure in die Zelle, gegen einen hohen Konzentrationsgradienten. Daran sind Diatomeen-spezifische Transporter beteiligt. Deren Expression und Aktivität ist eng an den Zellzyklus gekoppelt. Die intrazelluläre Konzentration von gelöster Kieselsäure übersteigt ihre Löslichkeit bei Weitem. Es wird daher vermutet, dass sie Komplexe mit organischen Molekülen bildet. In „silicon deposition vesicles", die miteinander fusionieren und zusammen mit Cytoskelett-Strukturen quasi als Gussformen dienen, wird dann amorphe Kieselsäure ausgefällt. Dabei entsteht die spezifische Schalenstruktur. Beteiligt sind daran wohl self assembly- und Polymerisations-Prozesse, außerdem Phosphoproteine (Silaffine) zusammen mit langkettigen Polyaminen. Diese Daten wurden vor allem durch die Analyse von Schalenproteinen gewonnen. In vitro konnte man aber damit nur ganz einfache Nanosphären erzeugen.

Mock et al. (2008, kommentiert durch Brzezinski, 2008) haben einen ganz anderen Weg eingeschlagen, um den Prozessen der Schalenverkieselung auf die Spur zu kommen. Sie haben bei der marinen Diatomee *Thalassiosira pseudonana* die Expression des gesamten Genoms untersucht und identifizierten dabei Transkripte von mehr als 8.000 Genen, von denen 3.000 vorher noch nicht bekannt waren. Sie haben dabei nicht nur normal gewachsene Kulturen analysiert, sondern auch solche, die unter Kieselsäure-, Stickstoff- und Eisenmangel angezogen wurden und bei erhöhtem pH-Wert und bei niedriger Temperatur. Sie fanden dabei 75 Gene, die nur durch Kieselsäure-Mangel aktiviert wurden, also an der Verkieselung beteiligt sind. Teilweise handelt es sich dabei um Diatomeen-spezifische Transmembran-Proteine. Unerwartet war der Befund, dass 84 Gene sowohl durch Kieselsäure-Mangel als auch durch Eisenmangel induziert wurden. Es war schon länger bekannt, dass bei Eisen-Mangel-Zellen die Schalen mehr Kieselsäure enthalten als bei solchen, die in Vollmedien angezogen wurden. Man nahm bisher an, dass das eine Folge des durch den Mangel verlängerten Zellzyklus ist. Die Befunde von Mock et al. (2008) sprechen eher für kompliziertere Regulations- und/oder Kooperationsprozesse.

Literaturhinweise

Brzezinski, M. A.: Mining the diatom genome for the mechanism of biosilification. Proc. Nat. Acad. Sci. 105, 1391–1392 (2008).
Mock, T., Samanta, M. R., Iverson, V., Berthiaume, C. V., Robinson, H., Holtermann, K., Durkin, C., BonDurant, S. C., Richmond, K., Rodesch, M., Kallas, T., Hultlin, E. L., Cerrina, F., Sussman, M. R., Armbrust, E. V.: Whole-genome expression profiling of the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* identifies genes involved in silicon bioprocesses. Proc. Nat. Acad. Sci. 105, 1579–1584 (2008).

Eberhard Schnepf, Wiesloch

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

Der Ritt auf der Welle – Totale Interne Reflexionsmikroskopie (TIRFM)

Annett Burzlaff

Fluoreszenzmikroskopie ist in biomedizinischen Labors eine weit verbreitete Mikroskopietechnik. Über immunchemische oder gentechnologische Kopplungstechniken lassen sich Fluoreszenzfarbstoffe ganz gezielt an bestimmte Zellorganellen (z.B. an Vesikel = kleine Membranhohlkugeln zum Transport von Proteinen innerhalb der Zelle) oder an das Zellskelett anlagern.

Werden die so markierten Zellen mit Licht einer bestimmten Wellenlänge (z.B. blaues Licht mit 488 nm) bestrahlt, fluoreszieren die Farbstoffmoleküle in grünem Licht. Ausschließlich die markierte Struktur (z.B. das Zellskelett oder Vesikel) ist sichtbar. Die Totale Interne Reflexionsmikroskopie (TIRFM) ist spezialisiert auf die hoch aufgelöste Darstellung der äußeren Zellmembran und Strukturen, die in unmittelbarer Interaktion mit der Zellmembran stehen.

Ideale Untersuchungsobjekte sind lebende (oder auch fixierte) Zellen, in denen bestimmte Organellen oder das Zellskelett mit Fluoreszenzfarbstoffen markiert sind. Diese Zellen kultiviert man in Petrischalen, deren Boden aus einem Deckglas besteht. Die Zellen nutzen den Glasboden als Substrat, wachsen auf ihm und haben dadurch bedingt eine sehr enge Assoziation zum Glasboden. Diese Petrischale wird auf ein inverses Mikroskop gestellt, das heißt, das Objektiv schaut von unten auf das Objekt. In einem konventionellen Epifluoreszenzmikroskop tritt das Anregungslicht aus dem Objektiv aus, durchquert das Deckglas und das Objekt. Alle Strukturen, die im Kegel des Anregungslichts liegen (gleichgültig in welcher Höhe der Zelle) beginnen zu fluoreszieren. Im Bild überlagert sich die scharfe Information der Fokusebene mit der unscharfen Information aus Ebenen oberhalb und unterhalb der Fokusebene. Feine Details werden durch die unscharf abgebildete Information nebulös überdeckt.

Im Gegensatz dazu basiert TIRFM auf reflektiertem Licht. Um dies zu erreichen, justiert man einen Laserstrahl so, dass er am äußersten Rand des Objektivs entlang läuft und in einem bestimmten Winkel auf den Glasboden der Petrischale trifft. Er durchquert das Deckglas und stößt auf die Grenzfläche Deckglas/Zelle. Die Zelle beziehungsweise das wässrige Medium hat einen niedrigeren Brechungsindex als das Deckglas. Der Unterschied im Brechungsindex bedingt, dass Licht, welches im so genannten kritischen Winkel auf die Grenzfläche eintrifft, total reflektiert wird. Das Licht durchquert also nicht die Grenzfläche und trifft auch nicht auf die Zellen. Bei dieser Totalreflexion entsteht jedoch eine so genannte evaneszente Welle. Diese tritt in die Zelle ein und regt den Fluoreszenzfarbstoff in der Zelle an. Die Reichweite der evaneszenten Welle beträgt nur circa 100 Nanometer (abhängig von der verwendeten Wellenlänge und dem Einfallswinkel des Laserstrahls). Als Folge davon werden ausschließlich Fluoreszenzfarbstoffmoleküle angeregt, die sich in unmittelbarer Nähe zur Deck-

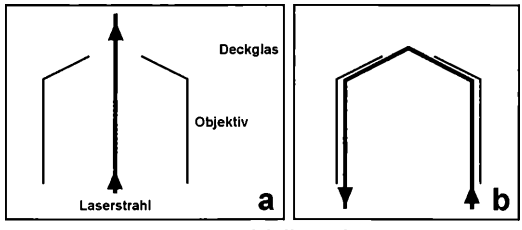


Abb. 1a: Der Laserstrahl fällt senkrecht auf die Grenzfläche Deckglas/Zelle ein. Er durchdringt die Grenzfläche und durchquert die gesamte Zelle. Abb. 1b: Der Laserstrahl ist so in die Peripherie des Objektivs justiert, dass er in einem Winkel größer als der kritische Winkel auf die Grenzfläche trifft. Der Strahl wird total reflektiert, es entsteht die evaneszente Welle. Für die TIRF-Mikroskopie sind nur solche Objektive geeignet, die eine numerische Apertur von mindestens 1,45 oder sogar 1,65 haben. Nur diese ermöglichen in der Peripherie des Objektivs genügend Spielraum, um den Laser justieren zu können.

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

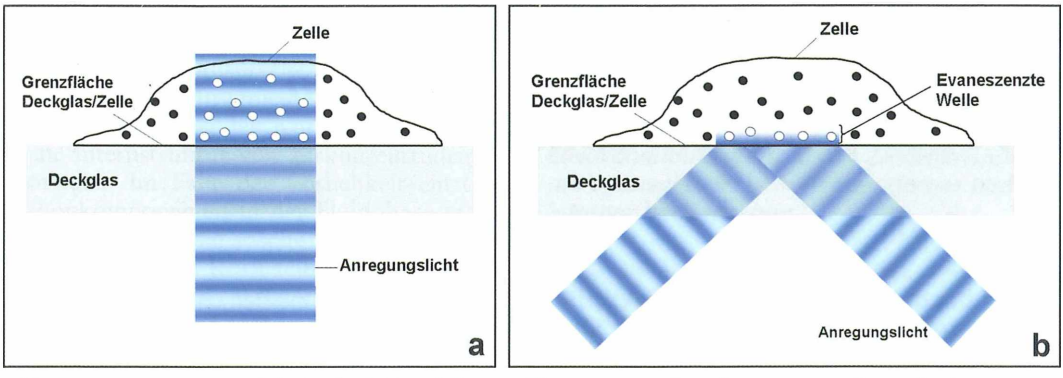


Abb. 2a: Das Anregungslicht im herkömmlichen Epifluoreszenzmikroskop tritt aus dem Objektiv aus, durchquert das Deckglas und dringt in die Zelle ein. Alle Fluoreszenzmoleküle, die im Kegel des Anregungslichts egal in welcher Höhe der Zelle liegen, fluoreszieren (weiß dargestellt). Bildinformationen aus unterschiedlichen Ebenen überlagern sich. Abb. 2b: Licht, das in einem Winkel größer als der so genannte kritische Winkel auf die Grenzfläche Deckglas/Zelle stößt, wird reflektiert und bildet eine evaneszente Welle aus. Diese pflanzt sich etwa 100 nm in die Zelle hinein fort und verliert nach circa 100 nm derart an Intensität, dass sie keine Farbstoffe zum Fluoreszieren mehr anregen kann. Folglich werden nur die Farbstoffmoleküle angeregt, die in unmittelbarer Nähe zur Zellmembran liegen.

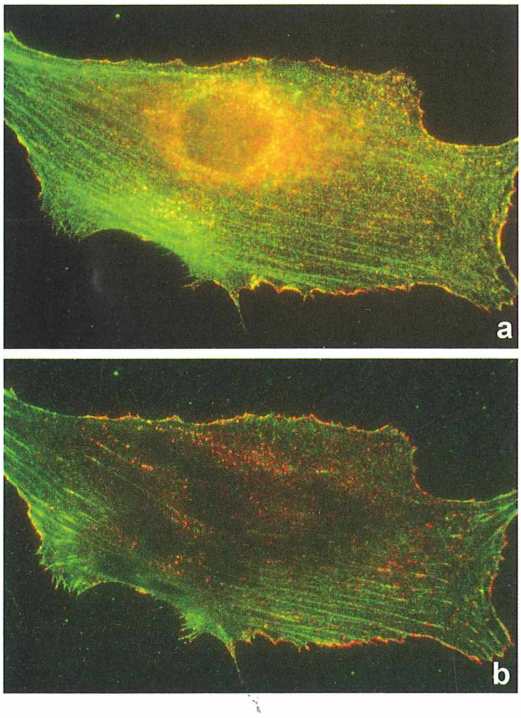


Abb. 3a: Zelle im herkömmlichen Fluoreszenzmikroskop aufgenommen. Teile des Zellskeletts (Aktin) sind mit dem grün fluoreszierenden Farbstoff FITC markiert. Die Aktinfäden ziehen sich wie Stränge durch die Zelle, geben ihr wie ein Gerüst Stabilität und stehen mit der Zellmembran in Verbindung. Die Information des FITC-markierten Aktins wird unspezifisch und unscharf von Fluoreszenzlicht aus den Tiefen der Zelle überlagert. Abb. 3b: Dieselbe Zelle wie a im TIRF-Mikroskop aufgenommen. Die evaneszente Welle dringt nur wenige Nanometer tief in die Zelle ein und regt ausschließlich die Aktin-Moleküle in unmittelbarer Nähe der Membran an. Diese erscheinen scharf und differenziert. Störende unscharfe und unspezifische Bildinformation ist ausgelöscht (Fotos: Olympus Life and Material Science Europa GmbH und M. Faretta, Europ. Inst. Oncology, Dept. of Experimental Oncology, Flow Cytometry and Imaging Core, Milan, Italy).

glas/Zell-Grenzschicht und damit zur Zellmembran befinden. Tiefer in der Zelle liegende Strukturen werden von der evaneszenten Welle nicht erreicht und fluoreszieren daher auch nicht. TIRFM macht auf diese Weise ganz gezielt Strukturen an der Membran lebender Zellen in hoher Auflösung sichtbar und verhindert unscharfe, überlagernde Bildinformation aus der Tiefe der Zelle.

Verfasserin: Dr. Annett Burzlaff, Sirona Dental Service GmbH, Fabrikstr. 31, 64625 Bensheim

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

Metamiktisierung und Korrosion – Mikroskopische Kristallzerstörungen bei akzessorischem Zirkon

Robert Sturm

Das akzessorische Mineral Zirkon verfügt im Gegensatz zu den meisten anderen Mineralphasen eines Intrusivgesteins über eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegenüber äußeren Einwirkungen physikalischer oder chemischer Natur. Diese Stabilität hat Zirkon in der Vergangenheit zu einem bevorzugten Studienobjekt für den Petrologen und Mineralogen werden lassen, da mit Hilfe des Minerals geochronologische und petrogenetische Daten gewonnen werden können. Zirkon darf jedoch nicht als unbegrenzt stabil erachtet werden, sondern beginnt ab gewissen Druck-Temperatur-Bedingungen ebenfalls verschiedenen, von außen wirkenden Zerstörungsprozessen zu unterliegen. Zudem kommt es im Inneren mancher Kristalle durch den radioaktiven Zerfall von Uran und Thorium zu einer sukzessiven strukturellen Umwandlung, der so genannten Metamiktisierung. Diese externen und internen Prozesse der Zirkondestabilisierung sollen im Folgenden dargestellt werden.

Das Mineral Zirkon ist neben seinem allgegenwärtigen Auftreten in Gesteinen der Erdkruste vor allem durch seine hohe physikalische Stabilität gekennzeichnet, welche einerseits durch seine überdurchschnittliche Härte (Stufe 7–8 auf der Mohs'schen Härteskala) und andererseits durch seine reduzierte Spaltbarkeit hervorgerufen wird. Diese Stabilität ist es auch, die Zirkonkristalle dazu befähigt, Zyklen von Verwitterung, Sedimenttransport, Diagenese (Veränderung durch Druck und Temperatur), Metamorphose und in manchen Fällen sogar Anatexis (partielle Aufschmelzung von Krustengesteinen) zu überstehen. Eine solche Abfolge von geologischen Ereignissen lässt jedoch das Mineral nicht völlig unbeschadet, sondern führt vor allem an dessen Oberfläche zu zahlreichen Veränderungen, die bis hin zu einer vollständigen Überprägung der ursprünglichen Morphologie führen können (Speer, 1980; Sturm, 1995).

Wenn man jene Vorgänge näher betrachtet, welche während einer Dislokationsmetamorphose, also während der gegenseitigen Verschiebung zweier angrenzender Gesteinseinheiten auf einzelne Mineralkomponenten des im Zentrum der Deformation stehenden Gesteins einwirken, so kann in den meisten Fällen eine völlige Umwandlung der Hauptgesteinsmineralogie beobachtet werden. Dieser metamorphe Veränderungsprozess wird durch eventuelle Infiltration flüssiger (fluider) Phasen noch zusätzlich unterstützt. Wie aber wirkt sich das angesprochene Szenario auf einzelne Zirkonkristalle aus? Wie die schematische Darstellung in Abbildung 1a verdeutlicht, führen entsprechende Deformationskräfte in Kombination mit den Fluidphasen einerseits zu einer Rissbildung an

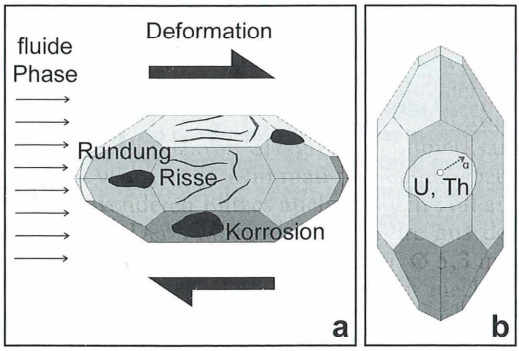


Abb. 1: Schematische Darstellung externer und interner Zerstörungsprozesse von akzessorischem Zirkon. a Rissbildung und Korrosion durch Einwirkung von Deformationskräften und Fluidphasen auf das Korn. b Veränderung der Kristallstruktur durch Prozesse der Metamiktisierung.

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

größeren Kristallen, andererseits zu korrosiven Beschädigungen und Abrundungen. Korrosion bedingt das Herausbrechen beziehungsweise -lösen von Kristallfragmenten aus einem Korn, wobei die entstehenden Korrosionsgruben tief in die Internstruktur von Zirkon einzudringen vermögen. Im Falle der Löslichkeit einzelner Zirkonkomponenten in der Fluidphase erfolgt zumeist wieder eine rasche Auskristallisation, die am angelösten Korn selbst zu entsprechenden Anwachsungen führen kann.

Metamiktisierung

Einer äußeren, deformationsbedingten Zerstörung von Zirkonkristallen steht in manchen Fällen ein innerer Umwandlungsprozess gegenüber, der nachhaltige Folgen für die Mineralphase mit sich bringt. Diese so genannte Metamiktisierung gilt generell als Resultat einer Beschädigung, welche im Zusammenhang mit dem Zerfall der radioaktiven Elemente Uran und Thorium steht (Abb. 1b). Beide Elemente sind aufgrund ihrer physikalischen Ähnlichkeit zum Element Zirkonium (Ladung, Atomradius) in der Lage, in messbaren Konzentrationen in die Kristallstruktur aufgenommen zu werden, wo schließlich ihr sukzessiver Zerfall unter anderem zur Freisetzung von α-Partikeln (Heliumkernen) führt. Diese wiederum verursachen durch ihre Kollision mit benachbarten Atomen deren Verschiebung im Kristallgitter und in weiterer Folge die zunehmende Bildung von Leerstellen oder Vermehrung interstitieller Atome (Speer, 1980). Am Ende des radioaktiven Bombardements steht eine nahezu amorphe Struktur, die sich in vielerlei physikalischer Hinsicht vom Ursprungskristall unterscheidet. So etwa kommt es mit zunehmendem Grad der Metamiktisierung zu einer Steigerung des Brechungsindex, der Kristallgitterdimensionen und der Thermolumineszenz (Aufleuchten beim Erwärmen), begleitet von einer Verringerung der Dichte, der Härte und der Wärmeleitfähigkeit. In optischer Hinsicht ist zudem eine deutliche Verdunklung metamikter Zirkonkristalle wahrzunehmen.

Im vorliegenden Beitrag soll eine Darstellung jener oben beschriebenen externen und internen Veränderungen am Beispiel ausgewählter Zirkonkristalle gegeben werden, wobei je nach zu untersuchendem Prozess unterschiedliche elektronenmikroskopische Methoden zur Anwendung gelangten, über welche bereits an anderer Stelle berichtet wurde (Sturm, 2005, 2006).

Elektronenmikroskopie von Zirkonkristallen mit unterschiedlichem Grad externer und interner Veränderung

Aufgrund ihrer von 50 bis etwa 300 µm reichenden Größe kann eine effiziente Oberflächen- und Internanalyse von Zirkonkristallen nur mit Hilfe der Elektronenmikroskopie gewährleistet werden. Lichtmikroskopische Verfahren sind jedoch in unterstützender Funktion zur Untersuchung mit hinzuzuziehen, da mit ihrer Hilfe eine Vorauswahl geeigneter Kristalle erfolgt und manche Präparationsschritte nur unter Verwendung eines Stereomikroskops zu realisieren sind.

Für die Studie der metamorphosebedingten Veränderung der Zirkonoberfläche wurden ausgewählte Kristalle auf einem Glasobjektträger (55 × 20 mm) mittels Epoxidharz fixiert. Die entsprechend präparierte Probe wurde hierauf mit Kohlenstoff bedampft und in einer Elektronenstrahlmikrosonde des Typs JEOL JXA-8600 am Institut für Geologie/Paläontologie der Universität Salzburg untersucht. Um die gewünschten Bilder der Kristalloberflächen und ihrer Modifikationen zu erhalten, wurde das Gerät im Sekundärelektronenmodus betrieben, bei welchem die an einem Objekt durch Ionisationseffekte erzeugten Sekundärelektronen zur Detektion gelangen. Der Elektronenstrahl der Mikrosonde wird in diesem Analysemodus in der Regel mit 15 kV beschleunigt.

Zur Analyse der Internstruktur einzelner Zirkonkristalle und damit verbundenen Bewertung des Metamiktisierungsgrades ist eine wesentlich aufwändigere, aus zahlreichen Schritten bestehende Präparation notwendig (Sturm, 2005). Diese sieht vor, einzelne Kristalle entweder parallel oder senkrecht zu ihrer kristallographischen Hauptachse zu schneiden. Ziel der Präparation ist es, möglichst perfekte Schnittflächen zu erzeugen, was nur durch genau abgestimmte Schleif- und Polierprozesse erreicht werden kann. Für die vorliegende Studie wurden unabhängig voneinander Kristalllängs- und -querschnitte erzeugt und die Ausbreitungen metamikter Veränderungen untersucht. Die fotografische Dokumentation der einzelnen Schnittpräparate erfolgte nach der

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

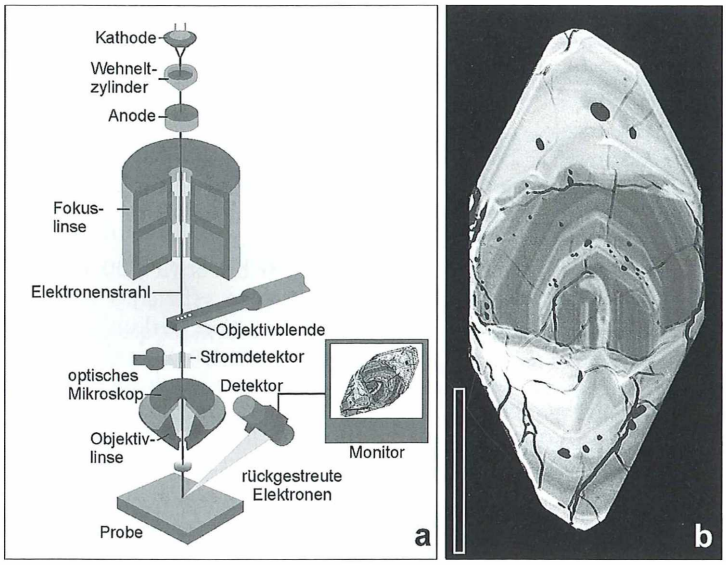


Abb. 2: a Schematischer Aufbau der Elektronenstrahlmikrosonde und jener Komponenten, welche an der Bilderzeugung teilhaben. b Aufnahme eines Kristalllängsschnittes im Rückstreuelektronenmodus. Maßstrich 50 µm.

Kohlenstoffbedampfung wiederum mit der Elektronenstrahlmikrosonde, diesmal jedoch unter Betreibung des Gerätes im Rückstreuelektronenmodus bei dem die von einem Objekt rückgestreuten oder reflektierten Elektronen mit Hilfe eines geeigneten Detektors ausgewertet und einer entsprechenden Bildverarbeitung zugeführt werden (Abb. 2). Die Beschleunigungsspannung wird in diesem Modus auf 20 kV erhöht. Der Strahlstrom erfährt im Vergleich zum Sekundärelektronenmodus sogar eine Erhöhung auf mindestens das 10fache, um eine möglichst hohe Dichte an rückgestreuten Elektronen und damit eine bessere Auflösung feiner Kristallinternstrukturen zu gewährleisten.

Metamorphe Veränderungen der Zirkonoberfläche

Wie bereits in der Einleitung erwähnt wurde, kommt es bei Zirkonkristallen mit zunehmendem Grad der Metamorphose zu einer sukzessiven Veränderung der Oberfläche. Diese wird in erster Linie durch die Bildung von Abrundungen, Rissen, Sprüngen, Brüchen, Korrosionsgruben und schließlich auch Anwachsungen zum Ausdruck gebracht. Je nach Anteil an fluider Phase, welche in der Deformationszone enthalten ist, sind entweder stärkere oder nur abgeschwächte korrosive Veränderungen und Anwachsungen zu beobachten. In Abbildung 3 wird eine Kristallsequenz gezeigt, welche die

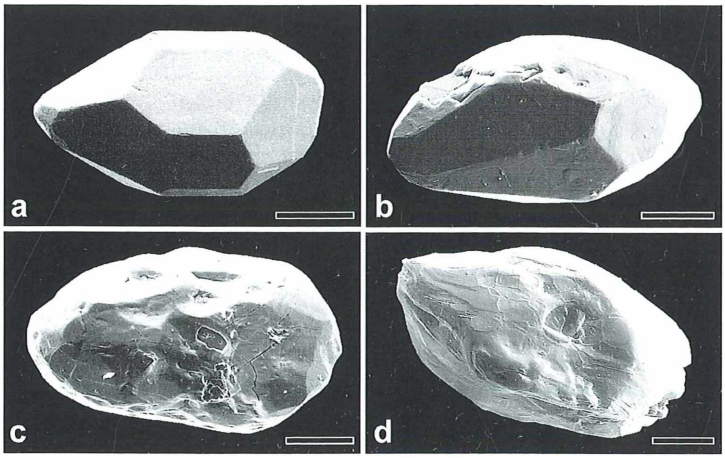


Abb. 3: Kristallsequenz zur Verdeutlichung oberflächlicher Veränderungen von Zirkonkristallen, welche unter zunehmendem Einfluss der Gesteinsmetamorphose stehen. a Unbeeinflusstes Korn. b Kristall mit ersten deutlichen Korrosionsspuren. c und d Deutlich überprägte Körner, welche ihre ursprüngliche Form vollständig verloren haben. Maßstriche 50 µm.

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

geschilderten Modifikationen zum Teil sehr gut wiederzugeben vermag. Die Zirkonkristalle stammen aus einer Scherzone mit zunehmenden Druck- und Temperaturbedingungen vom Rand zum Zentrum. Kristall a von Abbildung 3 wurde aus dem undeformierten Ausgangsgestein gewonnen und weist demzufolge praktisch keine oberflächlichen Veränderungen auf. Die perfekt ausgebildeten Kristallflächen (Idiomorphie) des Korns erlauben seine eindeutige morphologische Klassifikation und Verwendung zur gesteinsbildenden (petrogenetischen) Indikation. Bei den folgenden Zirkonkristallen sind die Spuren zunehmender Einwirkung von außen leicht erkennbar, wobei Korn b noch über relativ wenige oberflächliche Schäden verfügt, Korn c und d hingegen, welche aus dem Scherzonenzentrum stammen, in ihrer externen Morphologie vollständig verändert sind. Die Kombination von oben erläuterten Prozessen führte zu einer externen Umgestaltung, welche eine Ansprache einzelner Kristallflächen unmöglich macht und deshalb den indikativen Wert der Körner drastisch vermindert.

In Abbildung 4 ist eine weitere Reihe von Kristallen mit zunehmender deformationsbedingter Veränderung der Oberfläche dargestellt. Hier sollen zusätzliche Merkmale wie etwa die Bildung von Rissen und Sprüngen (Korn b) oder die Formation von Brüchen (Korn d), welche vor allem bei Kristallen mit hohem Verhältnis zwischen Länge und Breite zu beobachten ist, gezeigt werden. Risse und Brüche entstehen vor allem dann, wenn vermehrt Spannungskräfte auf den Kristall einwirken, was hauptsächlich bei dessen Vorliegen in der Gesteinsmatrix oder als Einschlussphase in leicht deformierbaren Schichtsilikaten der Fall ist. Derartige Phänomene können jedoch auch bei der Gesteinsaufbereitung und Zirkonseparation selbst auftreten, weshalb darauf zu achten ist, ob auftretende Brüche „frisch" sind oder über eine

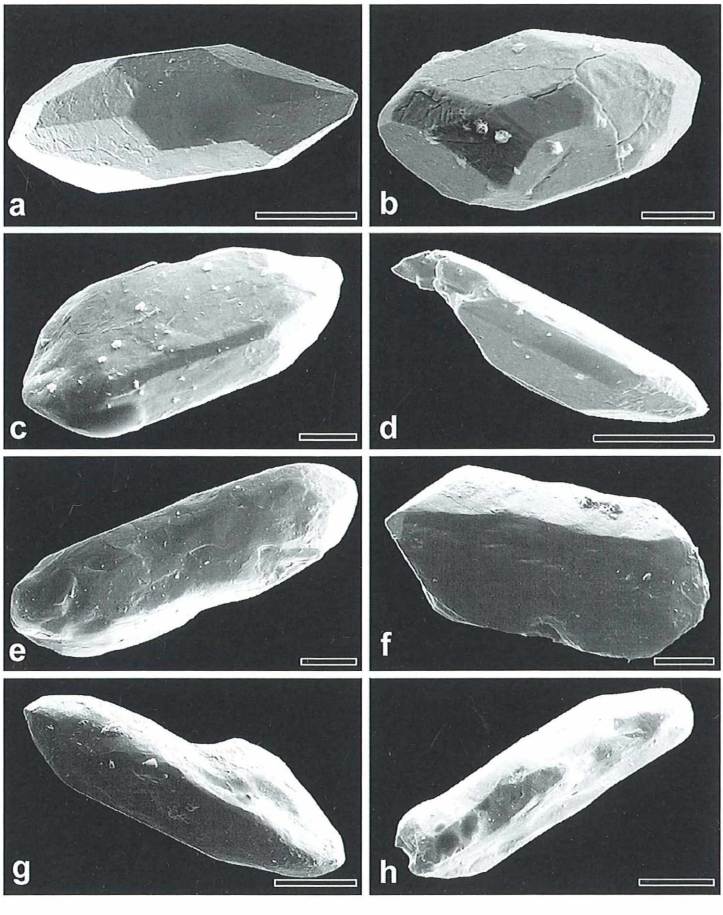


Abb. 4: Weitere Beispiele der externen Veränderung von Zirkonkristallen. Die Sequenz beginnt wiederum mit einem ungestörten Kristall (a) und endet mit stark überprägten Körnern (g, h). Maßstriche 50 µm.

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

entsprechende korrosive Überprägung verfügen, welche bei Korn h besonders deutlich in Erscheinung tritt.

Veränderungen der Zirkoninternstruktur durch Metamiktisierung

Als ähnlich spektakulär wie die durch Gesteinsmetamorphose erzeugten externen Veränderungen an Zirkonkristallen können die Modifikationen der Internstruktur infolge ausgedehnter Metamiktisierung bewertet werden. Der zunehmende Grad metamikter Umwandlung soll anhand der beiden in Abbildung 5 und 6 dargestellten Kristallschnittsequenzen demonstriert werden. Diesmal wurden die Zirkonkristalle von ein und demselben Gestein gewonnen, unterscheiden sich jedoch in ihrem Gehalt an den radioaktiven Elementen Uran und Thorium. Aus der Serie von Kristalllängsschnitten (Abb. 5) kann eindeutig entnommen werden, dass die

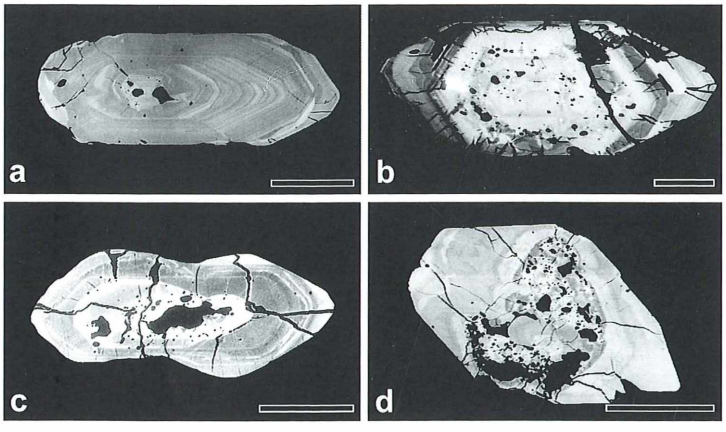


Abb. 5: Sequenz von Kristalllängsschnitten zur Demonstration der Veränderung der Internstruktur mit zunehmendem Grad der Metamiktisierung. Während bei Kristall (a) die innere Kristallstruktur noch vollständig erhalten ist, treten bei Kristall (b) bereits erste Spuren der Umwandlung auf. Die Kristalle (c) und (d) weisen bereits eine durch den Prozess verursachte poröse Struktur auf. Maßstriche 50 µm.

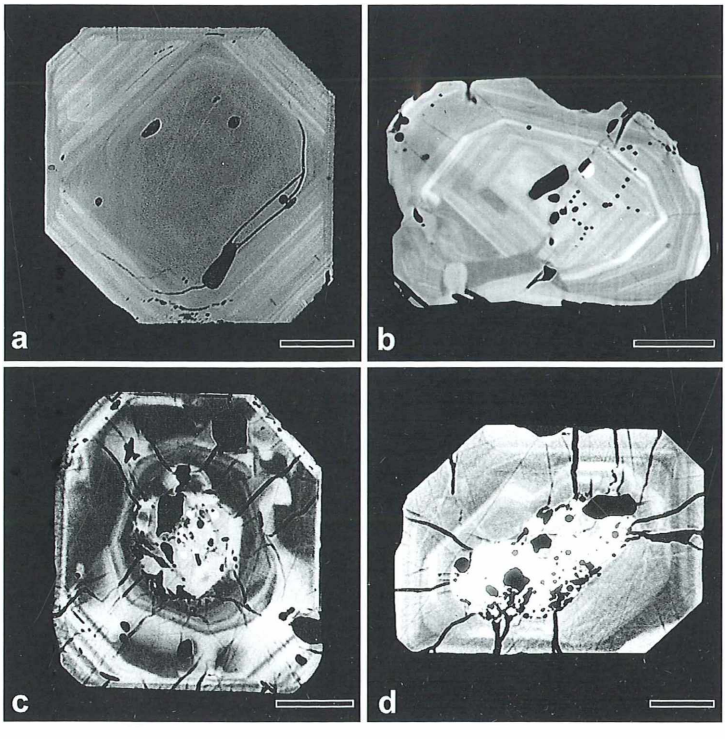


Abb. 6: Kristallquerschnitte zur Verdeutlichung des Phänomens der Metamiktisierung. a Kristall ohne Umwandlungsspuren. b Leichte Spuren einer beginnenden Metamiktisierung. c und d Deutliche strukturelle Veränderungen im Kristallzentrum. Maßstriche: 50 µm.

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

Metamiktisierung ihren Ausgang im Kristallzentrum nimmt und sich von dort nach bestimmtem Muster ausbreitet. Bei Korn b treten einzelne, zufällig verteilte Umwandlungsbereiche auf, die sich in Form heller Punkte äußern. Bei Korn c und d hat die Metamiktisierung bereits ein fortgeschrittenes Stadium erreicht, wobei sich die dichte Kristallstruktur immer stärker aufzulösen beginnt und durch eine poröse Struktur mit helleren und dunkleren Zonen ersetzt wird. In dieser Phase ist das ursprüngliche Kristallgitter völlig zerstört und lediglich noch eine amorphe Substanz vorhanden.

Ähnliche Phänomene der Umwandlung können bei den Querschnitten beobachtet werden (Abb. 6). Auch hier werden erste Spuren der Metamiktisierung durch räumlich begrenzte, helle Zonen zum Ausdruck gebracht (Abb. 6b), deren Zahl sich im weiteren Verlauf kontinuierlich erhöht, bis schließlich der gesamte Kernbereich hell aufleuchtet und über typisches poröses Aussehen verfügt (Abb. 6d). Den Querschnitten kann als zusätzliche Information entnommen werden, dass die Ausbreitung metamikter Umwandlungen nicht nach allen Richtungen in gleicher Weise erfolgt, sondern sich im Wesentlichen dem Flächenverlauf anpasst. Dieser Umstand lässt sich auf die anisotrope Struktur (mit verschiedene Eigenschaften in verschiedenen Richtungen) von Zirkon mit ihrer charakteristischen Abfolge von SiO_4-Tetraedern und ZrO_8-Dodekaedern zurückführen.

Resümee

Die vorliegende Arbeit zeigt auf durchaus spektakuläre Weise, welchen Kräften Zirkonkristalle unter anderem in der Natur ausgesetzt sind und wie sich diese Kräfte auf die Kristalloberfläche und -struktur auswirken. Der Wirkung metamorpher Kräfte wurden jene des radioaktiven Zerfalls gegenübergestellt, welche in ihrer Zerstörungskraft diesen um nichts nachstehen. Für die mikroskopische Darstellung der in diesem Beitrag geschilderten Phänomene sind mitunter sehr aufwändige Präparationstechniken anzuwenden, welche dem Bearbeiter zudem ein hohes Maß an Erfahrung abverlangen. Deshalb bleibt ein Eindringen in diese mikroskopische Welt wohl nur dem besonders ambitionierten und mit allerlei Gerät ausgestatteten Mikroskopiker vorbehalten. Es ist hier jedoch darauf hinzuweisen, dass die beschriebenen Prozesse mit entsprechenden Einschränkungen auch im Lichtmikroskop beobachtet werden können.

Literaturhinweise

Speer, G.: Zircon. In: Ribbe, P. H. (ed.): Orthosilicates, p. 67–112. MSA, Washington DC 1980.

Sturm, R.: Geologisch-petrographische Bearbeitung eines cordieritführenden Mylonits und seiner Umrahmung im Bereich des Pfahls, oberösterreichisches Moldanubikum. Diplomarbeit an der Universität Salzburg, Salzburg 1995.

Sturm, R.: Kombinierte Schnitttechniken zum mikroskopischen Studium des Wachstums magmatischer Kristalle. Mikrokosmos 94, 247–253 (2005).

Sturm, R.: Mikroskopischer Einblick in die Formenvielfalt magmatischer Kristalle am Beispiel des akzessorischen Zirkons. Mikrokosmos 95, 213–218 (2006).

Verfasser: Mag. mult. Dr. Robert Sturm, Brunnleitenweg 41, A-5061 Elsbethen, Österreich

Friedensstifter

Sie für Ihr Patenkind. Ihr Patenkind für seine Welt.

Eine Patenschaft bewegt. Werden Sie Pate!

Für mehr Informationen rufen Sie uns an:
0180 33 33 300
(9 Cent/Min. aus dem dt. Festnetz; Mobilfunktarif ggf. abweichend)

Kindernothilfe e. V.
Düsseldorfer Landstraße 180
47249 Duisburg
www.kindernothilfe.de

KINDER NOT HILFE

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

Die Blüte des Gilbweiderichs – Öldepot und Nachtquartier

Hans Brogmus und Erich Lüthje

Steht straff geführte Blütenmorphologie und -ökologie geradewegs vom Kelchblatt bis zum Fruchtknoten auf dem Programm? Oh nein: *Viel hängt ganz allgemein und zumal bei militärischen Operationen vom glücklichen Zufall ab,* notierte bereits Gaius Julius Caesar. *Bei makro- und mikroskopischen Beobachtungen nicht weniger,* wäre aus zeitgenössischer Erfahrung hinzuzufügen. Und so führt uns der Weg zum botanischen Ziel *Lysimachia* diesmal über zwei entomologische Zwischenstationen.

Als ich am 1. Juli 2007 abends noch einmal durch unseren Garten ging, fiel mir auf dem Blatt einer Zuckermaispflanze ein braunes Insekt mit großen, grünen Augen auf. Trotz widriger Windverhältnisse gelangen einige Fotos der Biene – soviel war bereits im Sucher zu erkennen – auf ihrer schwankenden Unterlage. Kein leichtes Unterfangen bei einer Tiefenschärfe von etwa 1,5 Millimetern (Abb. 1)!

Ein Parasit macht schöne Augen

Zur Feststellung der Personalien nahm ich das Exemplar vorübergehend in einem Glasröhrchen mit ins Haus. Unverwechselbare Kennzeichen wiesen den fraglichen Hautflügler eindeutig als ein Männchen der Schmuckbiene *Epeoloides coecutiens* aus (Westrich, 1989; Müller et al., 1997). Danach wurde das Tier unbeschädigt in die Freiheit entlassen. Mit Interesse las ich sodann, was Jane van der Smissen (2007) als ausgewiesene Kennerin der hiesigen Hautflüglerfauna über die Schmuckbiene schreibt: *Die Gattung Epeoloides ist in Deutschland mit nur einer Art vertreten. Die Männchen zählen zu den schönsten Bienen: Kopf und Brust sind dicht strohgelb behaart. Durch und durch goldgelb sind die Beine und der Hinterleib. So ist das Tier im verdorrten Gras gut getarnt und man bemerkt zuerst nur seine Augen: Sie leuchten smaragdgrün. Hat man erst begriffen, wer einen da beäugt hat, ist es längst fort – auf Nimmerwiedersehen. Denn die Männchen sind kurzlebig und die Art ist sehr selten.* Da hatte mir Caesars Fortuna also einen entomologischen Sonntagsschuss beschert; vom Gilbweiderich indes war noch keine Rede.

Die Wirtsart: Stramme Schenkel, weiße Strümpfe

Das änderte sich alsbald bei der weiteren Durchsicht der Fachliteratur: *Epeoloides coecutiens* ist eine Kuckucksbiene; sie schmarotzt bei der Gattung *Macropis*. Deren deutscher Name Schenkelbiene leitet sich von den auffallend verdickten Hinterbeinen der Männchen her (Abb. 2). Noch augenfälliger sind die leuchtend hellen Sammelhaare an den Beinen der Weibchen (Abb. 3). Schenkelbienen zeigen eine bemerkenswerte Nahrungsbindung an die Gattung *Lysimachia*, in deren Blüten sie Öl sammeln. Wir nähern uns mithin der Titelzeile! Eine *Lysimachia*-Art wächst als Zierpflanze in unserem Garten (Drüsiger Gilbweiderich, *L. punctata*). Bisher hatte ich dieser Pflanze noch keine besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Nun fand ich noch am selben Abend drei *Macropis*-Männchen und zwei Weibchen in ihren sattgelben Blüten! Das schwindende Tageslicht erlaubte es gerade noch, einige Belegfotos zu blitzen.

Düll und Kutzelnigg (1992) merken in ihrem bewährten botanisch-ökologischen Exkursionstaschenbuch zu *Lysimachia vulgaris* an: *Die Bestäubung erfolgt ausschließlich durch*

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

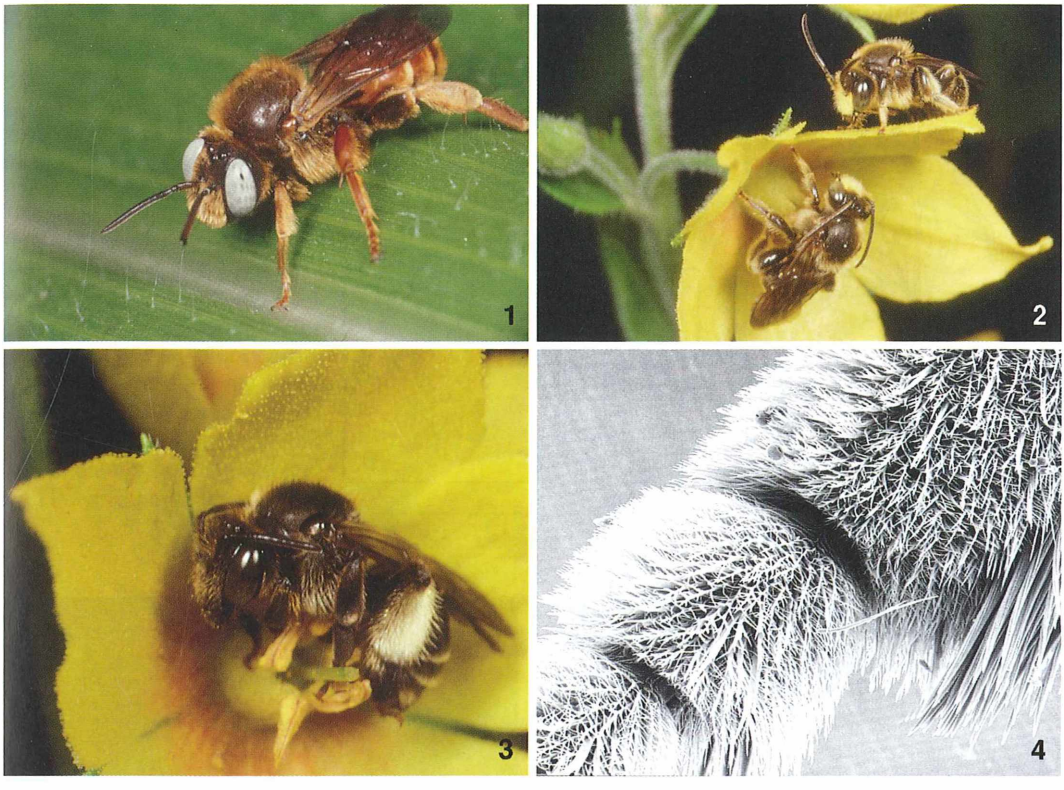


Abb. 1: Männchen der parasitischen Schmuckbiene *Epeoloides coecutiens*. Zeiss-Tessovar, Originalvergrößerung 2×. – Abb. 2: Zwei Männchen der Schenkelbiene *Macropis europaea* in ihrem Nachtquartier, einer Gilbweiderichblüte *(Lysimachia punctata)*. Zeiss-Tessovar, Originalvergrößerung 1,2×. – Abb. 3: Weibchen der Schenkelbiene *Macropis europaea* in einer *Lysimachia punctata*-Blüte (Ruhehaltung). Ein Artmerkmal ist der „weiße Kniestrumpf" der Hinterschienen. Zeiss-Tessovar, Originalvergrößerung 1,5×. – Abb. 4: Spezialisierte Haare für die Aufnahme von Blütenöl am Mittelbein einer Schenkelbiene *(M. fulvipes)*. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme aus Müller et al. (1997).

die Wildbiene Macropis vulvipes (Druckfehler für 'fulvipes'). Bei meinem Fund im Drüsigen Gilbweiderich handelte es sich hingegen um *Macropis europaea* (= *M. labiata*), denn *im Gegensatz zu M. fulvipes kontrastiert beim Weibchen die schneeweiß gefärbte Behaarung der Hinterschienen auffällig mit den tiefschwarz behaarten Fersen* (Müller et al., 1997; Abb. 3). Wie tanken diese weißbestrumpften Damen nun das Öl der Gilbweiderichblüten? Eine rasterelektronenmikroskopische Aufnahme zeigt eine spezielle Beinbehaarung (Abb. 4). Mit diesen Saugpolstern tupfen die Weibchen das Öl auf, wobei es sich kapillar in den stark verzweigten Haaren verteilt. Die Larven ernähren sich von einem Gemisch aus Pollen und Blütenöl, das geringe Beimengungen von Nektar enthalten kann. Überdies dient das *Lysimachia*-Öl zur Imprägnierung der unterirdischen Brutzellen (Müller et al., 1997).

Die Blüte der Wirtspflanze

Als das einzige Beispiel der heimischen Flora für eine Ölblume ist *Lysimachia vulgaris* (Abb. 5) kaum weniger prominent als die Schenkelbiene und ihr Parasit. Bemerkenswert ist auch der Photodimorphismus ihrer Blüten: Je nach Belichtung am Standort zeigen die so genannten Lichtblüten dunkelgelbe Kronblätter mit roter Basis; Schattenblüten sind heller und kleiner (Düll und Kutzelnigg, 1992). Die Filamente der Staubblätter umgeben Fruchtknoten und

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

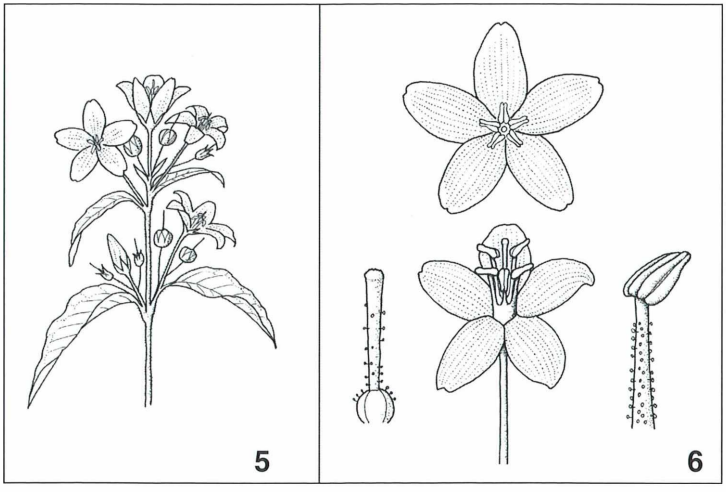


Abb. 5 und 6: Gemeiner Gilbweiderich *(Lysimachia vulgaris)*. – Abb. 5: Oberer Abschnitt des Blütenstands. – Abb. 6: Blüte von oben und seitlich (man beachte die Verwachsung der Staubfäden). Links: Griffel (Länge 5 mm), rechts: oberer Abschnitt eines Staubfadens (5–7 mm) mit Staubbeutel (1,5 mm).

Griffel sehr eng (Abb. 6). Auf der Außenseite dieser Filamentröhre sitzen Drüsenhaare, welche Lipide sezernieren (Heß, 1983; Abb. 7). Zudem sind auch die Kronblätter griesartig dicht mit Drüsen besetzt (Abb. 8). Jedoch fand ich nur die Drüsenhaare der verwachsenen Staubfadenröhre als Nahrungsquelle erwähnt (Heß, 1983; Müller et al., 1997). Das könnte man doch näher untersuchen.

Abb. 7: Verwachsungszone der Staubblätter des Drüsigen Gilbweiderichs *(Lysimachia punctata)* mit dichtem Drüsenhaarbesatz (Anfärbung mit Astrablau-Safranin). Auflichtaufnahme mit Leitz 4×-Planachromat-Objektiv und Leitz Periplan-Okular 6,3×, Vergr. ca. 11fach.

Mikroskopische Untersuchungen

Schon bei geringerer Vergrößerung treten die Öldrüsen als Besatz der Kron- und Staubblätter unverkennbar hervor (Abb. 9). Im Hellfeld sieht man bei stärkerer Vergrößerung unschwer, dass die zarten Gebilde aus einer etwa kegelförmigen Epidermiszelle, einer oder bisweilen zwei Stielzellen (Abb. 10) und dem mehrzelligen Köpfchen bestehen. In einer Astrablau-Safraninlösung färben sich die ölhaltigen Köpfchen selektiv leuchtend rot. So werden ihre Verteilung über die Fläche sowie ihre große Anzahl deutlich (Abb. 8). Unter dem Deckglasdruck tritt bisweilen der Inhalt aus den (gefärbten) Drüsen aus. Diesen Ölfilm, so kann man sich leicht vorstellen, brauchen die Schenkelbienen nur aufzutupfen. Die Färbung ganzer Blüten veranschaulicht weiterhin, warum vornehmlich die Blütenmitte als Ölquelle zu gelten hat: Die safraningefärbten Öldrüsen sind auf den Kronblättern deutlich zum Zentrum hin und besonders an den Filamentröhren konzentriert. Dort fand ich es auch ausgetreten und fleckig über die Oberfläche der Röhre verteilt (Abb. 7).

Wer *Lysimachia*-Bestände auf Schenkelbienen absucht, wird sicher auch ihre „special guests", die Schmuckbienen, beim Blütenbesuch finden. Am Mikroskop bieten die Drüsenhärchen von *Lysimachia punctata* am Rande eines Kronblattes sowie ein mit Astrablau-Safraningemisch gefärbtes Staubblatt im Dunkelfeld reizvolle Aspekte. Und warum nicht auch gleich den Pollen einmal näher anschauen?

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

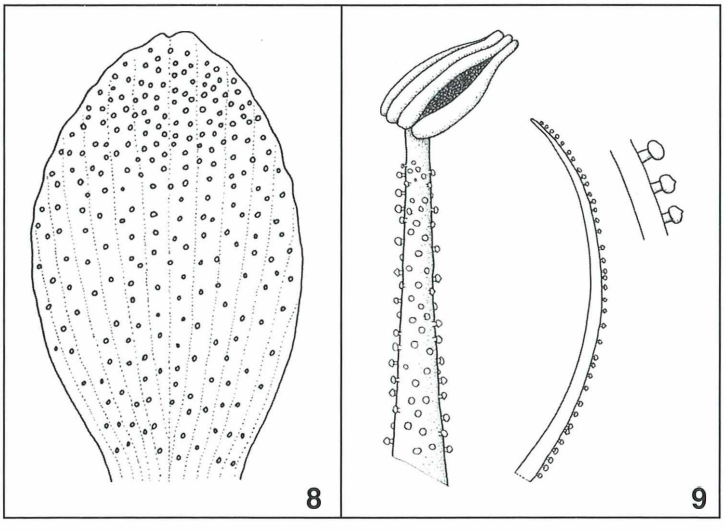


Abb. 8 und 9: Gemeiner Gilbweiderich *(Lysimachia vulgaris)*. – Abb. 8: Kronblatt (Länge 10 mm, Breite 4,5 mm) mit Drüsenhaarbesatz. Im Gegensatz zum Drüsigen Gilbweiderich *(L. punctata)* ist der Kronblattrand nicht mit Drüsen besetzt. – Abb. 9: Öldrüsenhaare am oberen Staubblatt und auf der Mitte eines Kronblattes (von der Seite); rechts ein vergrößerter Ausschnitt. Im geöffneten Staubbeutel (Länge 1,5 mm) sind Pollen zu erkennen.

Zur Foto- und Zeichentechnik

Die Makroaufnahmen der Schmuck- und Schenkelbiene wurden mit einem etwas unkonventionellen Vorsatz an der Olympus-OM2n-Kamera geschossen. Hier leistet mir schon seit längerem ein Zeiss-Tessovar-Korpus gute Dienste (Lüthje, 2006, 2007). Diese Zoomlupe erlaubt per Knopfdrehung eine variable Veränderung des Abbildungsmaßstabes von 1,2× bis 5×. Bis zu 3× kann man bei günstigen Umständen im Gelände ohne Stativ, aber möglichst angelehnt oder aufgelegt fotografieren. Eine Mikro-Einstellscheibe bietet auch bei Blendenwerten zwischen 1:50 und 1:80 ein helles Sucherbild bei realer Tiefenschärfe. Die Schmuck- und Schenkelbienen konnte ich bei 1,2- bis zweifacher Vergrößerung aufnehmen. Zur Bestimmung der (lebenden!) Schmuckbiene benutzte ich eine Olympus-SD30-Stereolupe. Auflichtfotos mit bis zu sechzehnfacher Vergrößerung fertigte ich nach bewährter Methode mit 3×-, 4×- und 10×-Optik und Leitz Periplan 6,3× an einem alten Voigtländer-Stativ an (Lüthje, 2005). Die mikroskopischen Hell- und Dunkelfeldaufnahmen entstanden an einem Olympus BH 2-Gerät. Zur Erzielung eines Dunkelfeldes bevorzugte ich statt des eigentlichen Dunkelfeldkondensors die Variante „Hellfeldkondensor mit eingelegter Zentralblende", weil man hier mit dezentem Abblenden Helligkeit und Kontrast wunschgemäß beeinflussen kann.

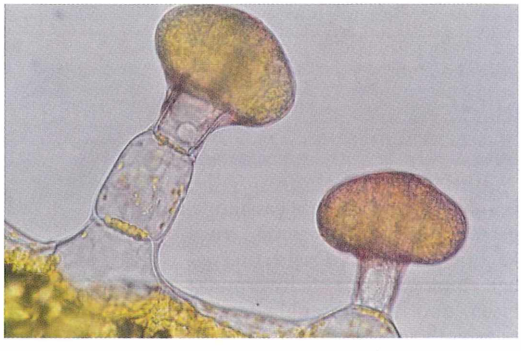


Abb. 10: Drüsenhaare von *Lysimachia punctata*; Stiel links zweizellig, rechts einzellig. Objektiv 60× Öl, Vergr. ca. 340fach.

Hans Brogmus übernahm (wie schon in früheren Beiträgen des MIKROKOSMOS) den zeichnerischen Part. Er legte die Blüten von *Lysimachia vulgaris* unter ein Hertel & Reuss-Schulmikroskop mit 5×-Optik (ohne Kondensor) und betrachtete sie mit 5×-Okularen im Auflicht. Ergänzend benutzte er eine einfache Stereolupe mit 2×-Objektiv und 5×-Okularen, also zehnfacher Vergrößerung. Die Zeichnungen entstanden auf glattem, festem Papier (160 g) mit einem HB-Bleistift. Dieser schmiert nicht und ist im Bedarfsfall gut zu radieren. Die Reinzeichnung erfolgt dann mit den Rotring-Rapidographen 0,13 mm und 0,25 mm.

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

Wichtiger als alle technischen Details bleibt festzuhalten, dass uns die Zusammenarbeit viel Freude bereitete!

Literaturhinweise

Heß, D.: Die Blüte. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart 1983.

Lüthje, E.: Auflichtfotos mit einem alten Mikroskop. Mikrokosmos 94, 193–197 (2005).

Lüthje, E.: Ein Tessovar auf Fliegenfang. Freilandaufnahmen mit der Zeiss-Zoom-Fotolupe. Mikrokosmos 95, 203–206 (2006).

Lüthje, E.: Mit dem Tessovar auf Makropirsch – Hautflügler im Garten und auf dem Bürgersteig. Mikrokosmos 96, 312–315 (2007).

Müller, A., Krebs, A., Amiet, F.: Bienen. Naturbuch-Verlag, Augsburg 1997.

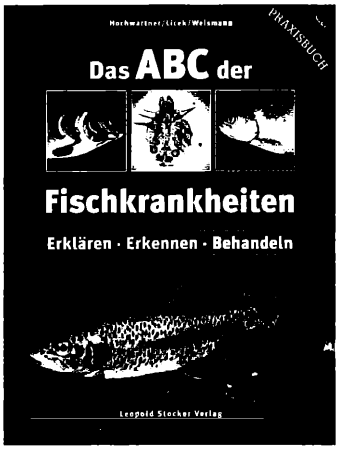
van der Smissen, J., Krohn, W.: Lebensraum für Wildbienen und Wespen. Freie und Hansestadt Hamburg (Hr.), Hamburg 2007.

Westrich, P.: Die Wildbienen Baden-Württembergs. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart 1909.

Verfasser: Hans Brogmus (Zeichnungen), Salzmannstraße 6, 33739 Bielefeld, und Dr. Erich Lüthje (Fotos und Text), Kruppallee 13, 24146 Kiel

Buchbesprechung

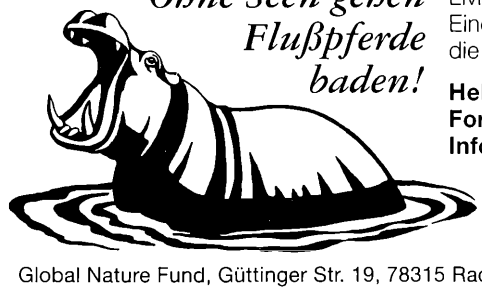
Hochwartner, O., Licek, E., Weismann, T.: Das ABC der Fischkrankheiten. Erklären, Erkennen, Behandeln.
Leopold Stocker Verlag, Graz 2008, 168 Seiten, 145 Farbfotos und Diagramme, 16,5 × 22 cm, Hardcover, € 19,90, ISBN978-3-7020-1135-2.



Bei der ausgewiesenen Fachkompetenz der drei Autoren, zwei Fachtierärzten für Fische und einer Biologin mit Schwerpunkt Fisch- und Bienenkrankheiten, ist es eigentlich keine Frage, dass dieses Werk gelungen ist. Als Nachschlagewerk für die wichtigsten Begriffe der Fischpathologie soll das „ABC der Fischkrankheiten" Tierärzten, Biologen, Gewässerbewirtschaftern, Fischzüchtern und allen Fischfreunden eine Übersicht über die Krankheiten der Süßwasserfische geben. Alphabetisch aufgebaut, informieren mehr als 900 Stichworte in knapper Form über Parasiten und Krankheiten sowie andere Fragen zu Fischbiologie und Gewässern wie z. B. Immunsystem, Haut, Verdauungssystem, Fischtransport, Anwendung von Kalk und Wasserbelastung. Die meisten Krankheitsbilder und Parasiten (Einzeller, Würmer, Krebse) werden nicht nur durch kompakte Erläuterungen beschrieben, sondern auch durch farbige Fotos sehr guter Qualität belegt. So kann eine Erkrankung der Fische möglicherweise selbst erkannt werden. Es wird aber von den Autoren ausdrücklich darauf hingewiesen, dass Diagnose und Therapie ausschließlich Tierärzten unterliegen und bei der Durchführung von Maßnahmen immer auf die gültige Rechtslage zu achten ist.

Das „ABC der Fischkrankheiten" ist ein nützliches, ansprechend aufgebautes Nachschlagewerk für Fischliebhaber jeder Art (Köche ausgenommen).

Renate Radek, Berlin



Ohne Seen gehen Flußpferde baden!

Living Lakes: Eine Zukunft für die Seen der Welt.

Helfen Sie mit! Fordern Sie unsere Informationen an.

Global Nature Fund, Güttinger Str. 19, 78315 Radolfzell

Global Nature Fund

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

Mikrofotografie im Wandel der Zeit – Der TTL-gesteuerte digitale Mikroblitz für analoge und digitale Kameras mit ausgelagerter Blitzröhre im Doppelkollektor

Hans Jürgen Steinkohl

Neue Blitztechniken und Beleuchtungen finden in der Mikroskopie immer mehr Anwendung. So löst die LED-Beleuchtung so nach und nach die bisher übliche Halogenbeleuchtung ab, und die digitalen Kameras erfordern neue Blitztechniken, die eine „analoge TTL-Steuerung" mit Reflektion über die Filmfläche nicht mehr ermöglichen, so dass bei Verwendung der neuen digitalen Kameras über das Mikroskop auch die Blitztechnik neue Wegen gehen muss. Im vorliegenden Bericht soll erstmals eine vielseitige Lösung aufgezeigt werden, die sowohl „analoges" wie „digitales" Blitzen mit Kompakt- und SLR-Kameras (mit und ohne Objektiv) in höchster Qualität ermöglicht.

Als ich vor nun 15 Jahren meinen ersten analogen TTL-Mikroblitz für ein Mikroskop mit angesetztem Lampenhaus verwirklichte (siehe MIKROKOSMOS 81, 1992), erfolgte dies durch die Auslagerung der Blitzröhre aus einem Metz 45 CT3 Stabblitz und Einbau in einen so genannten Doppelkollektor, der zwischen Lampengehäuse und Mikroskop angebracht war. Mit dieser Anlage konnte ich in all den Jahren mit der analogen Spiegelreflex mit TTL-Steuerung hervorragende Aufnahmen auf Velvia-Diafilmen mit konstant guten Ergebnissen erzielen. Aus optischer Sicht ist der hier verwendete Zeiss'sche Doppelkollektor nach F. K. Möllring die eindeutig beste Voraussetzung, um hochwertige Mikrofotografie zu verwirklichen (Abb. 1). Aus meinen guten „analogen Erfahrungen" mit dieser Doppelkollektorlösung entstand der Wunsch, diese Lösung auch für die digitale Mikrofotografie weiter zu entwickeln (Abb. 2).

Wissenswertes zu den unterschiedlichen TTL-Blitz-Systemen

Der wesentliche Unterschied der analogen TTL-Steuerung zur digitalen TTL-Steuerung besteht darin, wie im Mikrokosmos schon mehrfach berichtet (z.B. Piper, 2007), dass die reflektierte Lichtmenge von der Kamera nicht mehr über die Filmoberfläche gemessen werden kann, sondern über einen so genannten Messblitz, der über die Vorderseite des Verschlusses reflektiert wird und so der Kamera einen Messwert ermöglicht.

Welche Funktion erfüllt der Messblitz? Das Blitzgerät gibt eine Reihe von Vorblitzen ab, um die Beleuchtungssituation des Motivs zu untersuchen. Mit Hilfe dieser reflektierenden Messblitze kann die Kamera das Motiv analysieren und eine Vorausberechnung der benötigten Blitzmenge vornehmen, bevor dann der eigentliche Hauptblitz gezündet wird. Damit jedoch dieser Vorgang über Messblitz und Hauptblitz gesteuert werden kann, muss zunächst im Blitzgehäuse ein Lichtsensor aktiviert werden. Doch davon später mehr.

Welcher Blitz eignet sich zur Auslagerung der Blitzröhre?

Wegen seiner vielseitigen Verwendbarkeit an den verschiedensten Kameras über entsprechende Adapter habe ich mich wieder für den Metz Mecablitz 45 entschieden, allerdings jetzt das neue Modell, mecablitz 45 CL-4 digital. Die lieferbaren SCA-Kamera-Adapter können im Internet unter info@metz.de aufgerufen werden. Dieser Stabblitz ist in seinem Inneren sehr übersichtlich aufgebaut, und wegen des fehlenden Zoomreflektors kann die Blitzröhre mit ihrem gesamten Reflektorgehäuse leicht ausgebaut werden.

Nach der Schilderung meines Vorhabens bei Firma Metz, die Blitzröhre des digitalen 45er, wie bei meinem analogen 45er auszubauen und über entsprechende Kabel in das Kollektorgehäuse einzubauen, konnte mir die Funktion zunächst nicht zugesichert werden, da hierüber bei Metz keine eigenen Erfahrungen vorgelegen

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

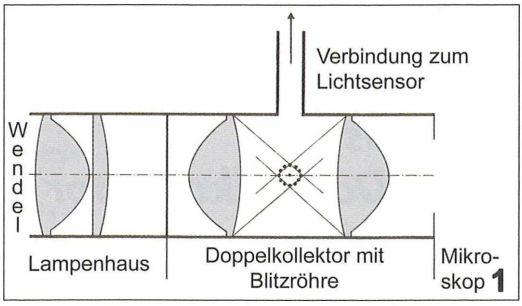


Abb. 1: Skizze zum Strahlengang. Lampe/Doppelkollektor/Mikroskop. Die Verbindung zum Lichtsensor im Blitzgehäuse erfolgt über das Alurohr mit innen liegendem Plexiglasstab. Der Kollektor wird seitlich im Zentrum der Blitzröhre aufgebohrt. – Abb. 2: Gesamtansicht des Mikroskops mit angesetzter Lampe und Mikroblitz-Einheit.

haben. Der Eigenversuch war also wie vor 15 Jahren angesagt! Nach dem Kauf des neuen Metz 45 CL-4 digital mit Steuerkabel und Adapter für eine digitale SLR (Canon 350D) begannen die Vorbereitungen zur Auslagerung der Blitzröhre und deren Einbau in den Doppelkollektor.

Erster Schritt: Stilllegen des Blitzes (spannungslos machen)

Ein neu gekaufter Blitz ist normalerweise spannungslos, da durch die Lagerung vor dem Verkauf eine Selbstentladung des Kondensators stattfindet. Trotzdem sollte man beim Öffnen des Blitzgehäuses (vier versenkte Schrauben) diese Vorarbeit einem Fachmann überlassen.
Wenn man einen geladenen Blitz spannungslos machen muss, schaltet man den Blitz ein, lässt ihn unter Volllast abblitzen und schaltet ihn danach sofort aus und entnimmt den Akkupack im Stab. Nach einigen Stunden Lagerung entlädt sich der Kondensator von selbst.
Hinweis in eigener Sache: Der Eingriff in das Blitzgehäuse geschieht auf eigene Gefahr und sollte besser einem Fachmann übertragen werden. Jegliche Haftung muss daher vom Autor in diesem Zusammenhang abgelehnt werden.

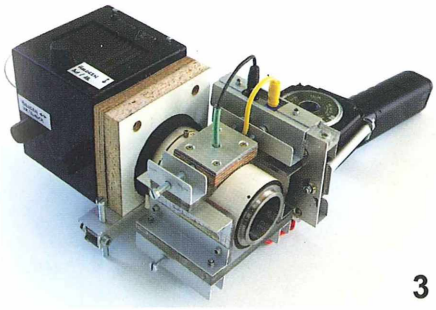
Zweiter Schritt: Ausbau des Blitzreflektors mit Blitzröhre nach Entnahme der Schutzscheibe

Es empfiehlt sich, Reflektor und Röhre als Einheit auszubauen (entlöten) und sich bei Metz eine Blitzröhre gesondert für die Auslagerung zu kaufen. Nach dem Entfernen des Blitzreflektors sind die beiden gesteckten Platinen frei zugänglich, und die waagrechte Platine kann teilweise herausgenommen werden, so dass das nun folgende Entlöten der drei dünnen Kabel der Blitzröhre in der Platine möglich ist. Hierbei sollte man die Farben der Kabel an ihren Lötstellen und auch an der Blitzröhre genau kennzeichnen. Die dünnen Kabel werden nun durch flexible Silikonkabel (drei verschiedene Farben) mit innerem Kabelquerschnitt von etwa 1 mm^2 ersetzt, wobei die Länge von der gewählten Konstruktion abhängt. Das Einlöten in die Platine erfordert etwas Geschick und sollte unbedingt fachmännisch ausgeführt werden, um die kleinen Bauteile der Platine dabei nicht zu beschädigen.
Hier kommt einem der übersichtliche Aufbau des 45 CL-4 digital sehr entgegen, außerdem ist das Gehäuseinnere durch die fehlende Zoomfunktion des Reflektors nicht zu überladen. Die neuen Kabel werden nun mit Sicherheitsbuchsen verbunden. So ist später ein problemloses Trennen des Blitzes vom Doppelkollektor jederzeit möglich. Zur besseren Kennung der drei Anschlüsse (Kathode/Anode/Blitzleitung) sollten Kabel und Buchsen die gleichen Farben haben (Rot/Blau/Schwarz).

Dritter Schritt: Berücksichtigung des Lichtsensors auf der senkrechten Platine

Bei meinem ersten Versuch, wie vor 15 Jahren lediglich die Blitzröhre auszulagern, und in ge-

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



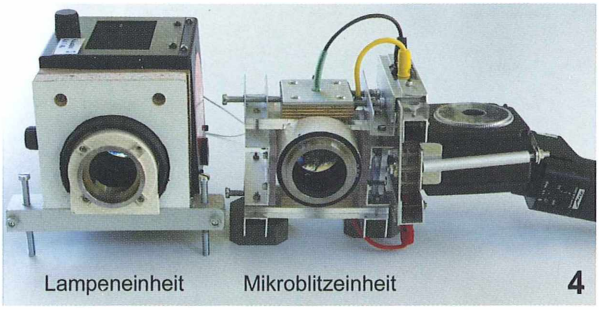


Abb. 3 und 4: Mikroblitz-Gesamtanlage bestehend aus Lampenhaus, Doppelkollektor mit zentrierbarer Blitzröhre und angesetztem Blitzgerät.

wohnter Weise die über Bajonett auf dem Fototubus montiert digitale SLR anzusteuern, ergab sich die erste Enttäuschung. Es löste der Blitz mit Volllast aus und zwar bevor sich der Verschluss der digitalen SLR geöffnet hatte. Die ersten Zweifel kamen auf, ob die angedachte Lösung jemals zum Erfolg führen würde, nachdem mir ja auch Firma Metz keine Garantie geben konnte. Nach Schilderung meiner bisherigen Ausführungen bei Firma Metz wurde ich auf die Funktionen des Lichtsensors hingewiesen.

Der Sensor in der senkrechten Platine im mecablitz verfügt über mehrere Aufgaben. Zum einen muss er an die Elektronik im Blitzgerät melden, sobald die Blitzröhre zu leuchten beginnt. Dadurch werden die internen Abläufe im mecablitz CL-4 digital synchronisiert. Außerdem wird mit diesem Sensor auch die abgegebene Lichtmenge für den Messblitz (Vorblitz) abhängig von der Blitzbetriebsart überwacht und entsprechend gesteuert. Daraus ergab sich gegenüber meiner bisherigen analogen TTL-Steuerung eine wesentliche Forderung an die digitale Konstruktion beim Auslagern der Blitzröhre, nämlich dass zum Aktivieren des Lichtsensors dieses erforderliche Lichtsignal von der gezündeten Blitzröhre dem Sensor zugeführt werden muss! Der erste Versuch zum Aktivieren des Sensors erfolgte über einen kleinen Blitz in Slave Funktion. Nach dem Auslösen der Kamera wurde der Blitz gezündet; der Slave Blitz wurde provisorisch gegenüber dem Lichtsensor angeordnet und ebenfalls durch den Hauptblitz gezündet. Der Sensor erhielt so seine erforderliche Information. Ergebnis: Eine korrekt belichtete Aufnahme! Hieraus ergab sich zunächst die Überlegung, den Lichtsensor eventuell mit der Blitzröhre „auszulagern" und ebenfalls im oder am Kollektor unterzubringen. Hiervon wurde mir von der Fa. Metz jedoch abgeraten, da aufgrund der Impulse beim Zünden der Röhre über die dann noch längeren Kabel zur Blitzröhre und dem Lichtsensor unkontrollierte Störungen auftreten könnten.

Als weiterer Versuch wurde ein so genanntes LWL-Optokabel zur Lichtübertragung herangezogen. Diese zunächst Erfolg versprechende und elegante Lösung wurde nach einigen Versuchen jedoch aufgegeben, weil die Positionierung des winzigen Lichtaustrittes des Optokabels zu der ebenfalls nur stecknadelkopfgroßen Öffnung des Lichtsensors mechanisch nicht einfach und vor allem zuverlässig zu verwirklichen war. Außerdem hatte ich den Eindruck, dass die so übermittelte Lichtmenge des dünnen Kabels zum Sensor zu knapp war. Fehlbelichtungen waren die Regel. Daraufhin wurde ein weiterer Versuch mit einem hochtransparenten Plexiglasstab mit ∅ 12 mm gemacht, wobei die Enden poliert wurden.

Über ein Alu-Rohr, welches den Plexiglasstab in seiner Länge aufnahm, wurde die Verbindung zwischen Kollektor und Blitzgehäuse hergestellt. So erfolgt aus dem Lichtraum der Blitzröhre über diesen Steg eine hervorragende Lichtübertragung bis 5 mm vor den Sensor (siehe Abb. 5–8).

Anmerkung

Diese Art der Lichtrückführung von der ausgelagerten Blitzröhre zum Lichtsensor in das „Blitzrechenzentrum" dürfte eine bisher einmalige Lösung darstellen und wird eventuell weitere Lösungen von digitalen TTL-Mikroblitzeinrichtungen in abgewandelter Form ermöglichen. Hier bietet sich dem Mikroskopiker noch ein großes Betätigungsfeld.

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

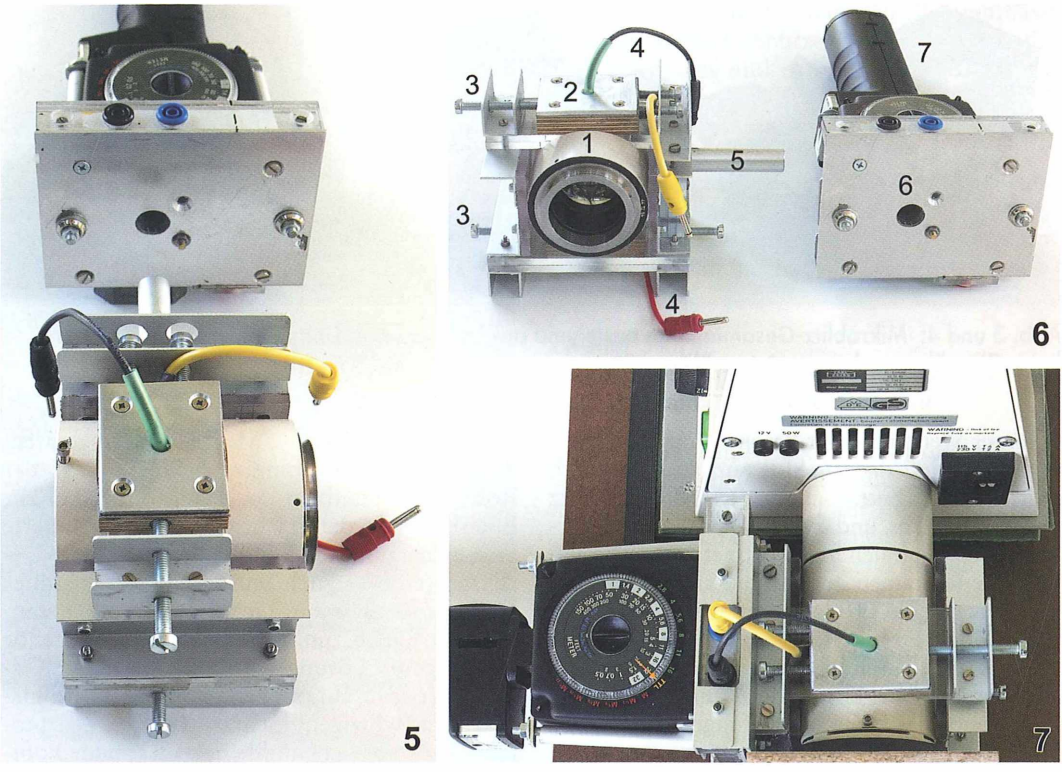
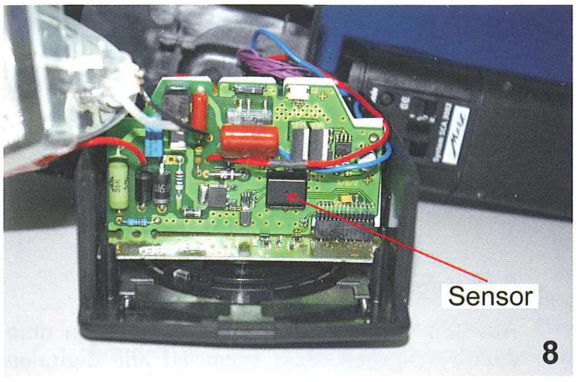


Abb. 5: Doppelkollektor und abgenommenes Blitzgerät. In der abnehmbaren Blende des Blitzgerätes ist die Aufnahmeöffnung für das Alurohr mit dem innen liegenden Plexiglasstab sichtbar. Diese Öffnung sitzt genau zentrisch zum Lichtsensor. – Abb. 6: Mikroblitzanlage. 1 Doppelkollektor mit umschließender Zentriereinheit für die Blitzröhre. 2 Obere Justierplatte der Röhre. 3 Untere und obere Justierschraube. 4 Silikonkabel zur Blitzröhre. 5 Seitlich angesetztes Alurohr mit innen liegendem Plexiglasstab. 6 Lochaufnahme für das Alurohr in der Blitzgehäusefront. Der Plexiglasstab beginnt im Inneren des Doppelkollektors und endet 5 mm vor dem Lichtsensor im Blitzgehäuse. 7 Stabblitz. – Abb. 7: Mikroblitzanlage mit Adaptierung an das Mikroskop.

Vierter Schritt

Wie bereits erwähnt, ist der Doppelkollektor die optimale Lösung, um im Strahlengang des Mikroskops zwischen der angesetzten Beleuchtung (Lampenhaus) und dem Mikroskop eine ausgelagerte Blitzröhre unterzubringen. Die Blitzröhre befindet sich hierbei im Strahlengang an derselben Stelle wie die Glühwendel der angesetzten Lampe (Abb. 1 und 2). Wie man daraus erkennen kann, wird aber nur dieser gedachte Brennpunkt zwischen den Kollektorlinsen aus der Blitzröhre herausgeschnitten, das heißt die Blitzenergie (Leuchtdichte) der gesamten Blitzröhre beschränkt sich in etwa auf die Größe der Glühwendel der Halogenlampe (siehe hierzu „Der Mikroblitz“ von Klaus Henkel, Internetseite der Mikrobiologische Vereinigung München e. V.). Daraus ergibt sich die Forderung, dass der Zentrierung der Blitzröhre im Doppelkollektor die größte Aufmerksamkeit zu widmen ist, will man die Lichtausbeute des verwendeten Blitzes auch wirklich voll ausschöpfen. Der Einbau der Blitzröhre aus dem Metzblitz (Abmessung: L = 96 mm, ∅ 5,3 mm) in den Doppelkollektor ist eine rein mechanische Aufgabe und ist vom jeweiligen vorhandenen oder zu fertigenden Kollektor abhängig. Wichtiger Hinweis zur Kabellänge: Insgesamt sollte die gesamte Kabellänge vom Blitz zur ausgelagerten Blitzröhre so kurz wie möglich sein, die Empfehlung von Metz hierzu war eine *maximale* Kabellänge von jeweils 25 cm nicht zu überschreiten, wobei die +-Kabel der

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



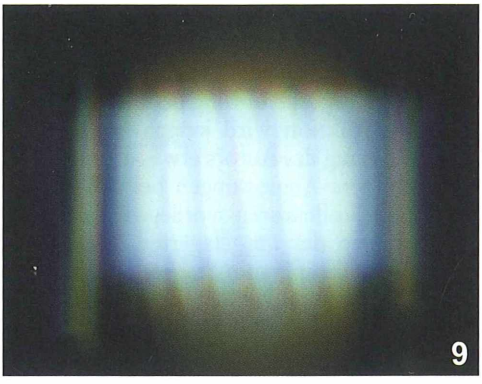


Abb. 8: Detailaufnahme vom Blitz-Innenleben. Dieses Lichtsensor-Element mit seiner winzigen, punktförmigen Öffnung ist verantwortlich für eine einwandfreie Funktion der gesamten digitalen TTL-Steuerung. – Abb. 9: Das Lampenwendel sollte nach erfolgreichem Einbau der Blitzröhre so aussehen; seitlich die Begrenzung der Blitzröhren-Glaswand.

Blitzröhre (Anode/Kathode) gleich lang sein sollten.
Im vorliegenden Fall wurde wieder der Originalkollektor von Zeiss verwendet, leider ist er nicht mehr lieferbar. Unter den Mikroskopikern gibt es aber sicher einige Spezialisten, die hier weiterhelfen können.
Wie aus den Abbildungen 3–5 ersichtlich ist, wurde zur Justierung der Blitzröhre eine aufwändige Konstruktion gewählt, um wirklich eine optimale Lichtführung und Lichtausbeute zu erhalten. Wenn man bedenkt, dass sich die im Brennpunkt gebündelte Lichtenergie im Millimeterbereich bewegt, bedeutet eine Dezentrierung um ein Drittel bereits einen erkennbaren Lichtverlust. Zur Konstruktion „um den Kollektor" muss jedoch unbedingt beachtet werden, dass im Bereich der Kabelanschlüsse an die Blitzröhre und insbesondere im Bereich des Zündkabels gute Isolierungen gegenüber den Metallteilen des Kollektors vorgesehen werden (Silikonschlauch).

Fünfter Schritt: Justierung von Lampe und Blitzröhre

Zunächst wird die Lampenwendel wie gewohnt über das Mikroskop (ohne Kollektor) justiert. Dann wird die Lampe vom Mikroskop abgenommen und mit dem Kollektor mit der ausgelagerten Blitzröhre zusammengebaut. Diese Einheit von Lampe und Kollektor wird nun an das Netzgerät der Lampe angeschlossen. Nachdem die Abbildung der Lampenwendel auf unendlich erfolgen sollte, wird auf eine etwa 3 m entfernte Wand projiziert. Bei erfolgreicher Justierung der Lampenwendel wird diese in ihrer gesamten Form als scharfe Abbildung an der Wand zu sehen sein (Raum verdunkeln).
Die ausgelagerte Blitzröhre zeichnet sich nun je nach geglückter Montage innerhalb des Kollektors mit ihrem Außenmantel mit mehr oder weniger senkrechten Linien ab, die nun mit den Justierhilfen am Kollektorgehäuse verstellt werden können, um die Außenabmessung der Röhre mit den Abmessungen der mit abgebildeten Wendel nahezu deckungsgleich zu bringen. Im Idealfall sollte die Blitzröhre in der gleichen Breite abgebildet werden wie die Glühwendel der Halogenlampe (Abb. 9). Der beschriebene Justiervorgang mag sehr aufwändig erscheinen, er garantiert jedoch für lange Jahre die besten Lichtverhältnisse beim Mikroskopieren und bei der Mikrofotografie.

Anmerkung

Wie aus den beigefügten Detailaufnahmen der beschriebenen Mikroblitzanlage ersichtlich wird, ist zur Verwirklichung dieser vielseitigen Lösung einige Vorarbeit zu leisten. Sie kann aber mit etwas handwerklichem Geschick oder entsprechender Hilfe bewältigt werden, wenn man bereit ist, die erforderliche Zeit dafür zu opfern. Jedenfalls muss sich der Nachbauer dabei nicht wie beim Autor mit dem Gedanken quälen müssen, ob es überhaupt funktioniert.

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

Anhand der Fotos und der Auflistung der einzelnen Arbeitsschritte ist auch eine gewisse Konstruktionshilfe gegeben, welche Fehlversuche zumindest bei der Ausführung deutlich einschränkt. Jede Konstruktion wird jedoch von der vorgestellten Lösung des Autors etwas abweichen, weil jeweils andere Abmessungen bei den verwendeten Doppelkollektoren vorliegen werden. Das Grundprinzip der ausgelagerten Blitzröhre und die Lichtzuführung zum Steuerelement Lichtsensor im Blitzgehäuse werden jedoch bleiben.

Getestet wurden mit der beschriebenen digitalen Mikroblitzeinrichtung folgende Kameras

Canon 350D – ohne Objektiv über Bajonett zum Fototubus (Projektiv) ASA 100, Verbindungskabel Metz SCA 3045, Anschlussadapter Metz SCA 3102 M3, ISO 100, Messung E-TTL (mittleres zentrales Fokusfeld), perfekte Steuerung bei einer Blitzbelichtungskorrektur an der Kamera von –1,5 im Hellfeld und –1 im oberen Vergrößerungsbereich bei Phasenkontrast und DIC. Bei RAW-Aufnahmen konnten selbst die etwas überbelichteten Aufnahmen noch einwandfrei bearbeitet werden.

Canon Kompakt G7 – über Okular des Mikroskops, Metz Adapter SCA 3102 M3, Einstellung unendlich. Blendenvorwahl größte Blende – AV Einstellung, Metz-Blitzfunktion E-TTL, Ergebnisse wie bei Canon 350D.

Nikon F 4 analog – Bajonett über Projektiv, Metz Adapter SCA 3402 M6, Verbindungskabel Metz SCA 3045. Die analoge F4 mit Velvia Diafilm funktionierte an der digitalen Mikroblitzeinrichtung in gewohnter Weise wie an der alten analogen Blitzeinrichtung. Die Metz-Blitzfunktion erfolgt automatisch im normalen TTL-Modus!

Nikon D200 digitale SLR – ohne Objektiv. Fototubus mit Bajonett über dem Projektiv, Anschlussadapter Metz SCA 3402 M6, Verbindungskabel SCA 3045, ISO 100, Objektivdaten: Blende –, Brennweite (keine Wirkung), Verschluss manuell 1/250 sec, Messfeld Matrix, Blitzeinstellung TTL-BL (perfekt), bei Phasenkontrast und Interferenzkontrast im oberen Vergrößerungsbereich Blitzbelichtungskorrektur +1, die Blitzeinstellung ϟϟ TTL neigt zu Überbelichtung.

Anmerkung

Fremdlichteinfall über das Sucherokular der Kamera kann bei den Spiegelreflexkameras zu unkontrollierten Überbelichtungen führen. Manueller Weißabgleich (Diatomeen-Testpräparat) bringt beste Ergebnisse einer farbneutralen, gleich bleibenden Farbwiedergabe!

Schlussfolgerungen

Aus den vorliegenden Erfahrungen kann man davon ausgehen, dass eventuell alle digitalen Kamerasysteme, die mit dem beschriebenen Messblitz arbeiten, über den entsprechenden SCA Metzadapter am Mikroskop TTL-gesteuert eingesetzt werden können. Die bei Nachbauten eventuell notwendigen Blitzbelichtungskorrekturen werden sicher von den angeführten Erfahrungswerten des Autors abweichen, da diese von verschiedenen Faktoren abhängig sein können. Eintesten der Anlage ist in jedem Fall notwendig. Die analogen SLR mit TTL-Messung können ebenfalls uneingeschränkt weiterverwendet werden. Damit ist die vorgestellte, digitale Mikroblitzanlage mit der in einen Kollektor ausgelagerten Blitzröhre ein wesentlicher Beitrag, um perfekt belichtete Mikroaufnahmen problemlos und ohne zusätzlichen Aufwand (Filter etc.) zu erzielen. Wenn man die digitale Kamera auf dem Mikroskop dann noch mit einem PC verbinden kann, dessen Monitor neben dem Mikroskopplatz steht und ein entsprechendes Programm zur Bildbearbeitung vorhanden ist, dann macht das Mikroskopieren so richtig Spaß.

Danksagung

Die Service-Abteilung (Kundendienst/Technik) der Firma Metz hat mich bei all meinen Anfragen, so gut es möglich war, beraten, eine Serviceleistung, wie man sie in der heutigen Zeit nur noch selten findet.

Literaturhinweise

Henkel, K.: Der Mikroblitz. Internetseite: www.mikroskopie-muenchen.de

Piper, J.: Technische Realisation digitaler Mikrofotografie mit handelsüblichen Consumer-Digitalkameras. Teil 2: Digitale Spiegelreflex Kameras, Elektronenblitz-Fotografie, zukünftige Entwicklungen. Mikrokosmos 96, 173–182 (2007).

Verfasser: Hans Jürgen Steinkohl, Max-Matheis-Str. 64, 94036 Passau, E-mail: summilux@gmx.de

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

Inkohärent, kohärent, partiell kohärent – Zum mikroskopischen Auflösungsvermögen Teil 3: Abbe'sche Betrachtungsweise

Hinrich Husemann

In den Teilen 1 und 2 wurden theoretische Grundlagen und die auf H. von Helmholtz zurückgehende „Zwei-Punkte-Auflösung" (two point resolution) erläutert. Teil 3 behandelt nun die Abbe'sche Betrachtungsweise zum mikroskopischen Auflösungsvermögen.

Die in Teil 1 einleitend kurz skizzierte Abbe'sche Theorie der mikroskopischen Abbildung sei anhand von Abbildung 1 näher erläutert. Links ist dort der Strahlengang mit den Lichtbündeln und ihren Wellenfronten zu sehen. Rechts sind die auf den für die Abbildung relevanten Ebenen (Objekt- und Bildebene, Aperturblende des Objektivs) zu beobachtenden optischen Erscheinungen und deren Intensitätsverteilungen I(x) (z. B. Beleuchtungsstärke) schematisch dargestellt. Modellobjekt sei ein einfaches Amplituden-Linien-Gitter GO mit periodisch-rechteckigem Transmissionsprofil und der Gitterkonstanten g. Von der als punktförmig und monochromatisch angenommenen Lichtquelle L in seinem unteren Brennpunkt greift der Kondensor K einen Lichtkegel ab. Dieser verlässt ihn als Parallelbündel mit ebenen Wellenfronten, das in gerader Beleuchtung (Beleuchtungsapertur → 0) senkrecht von unten in das Objektgitter GO einfällt. Dort wird es infolge Beugung aufgefächert in die gerade durchgehende 0. Ordnung (direktes Licht) und die mit aufsteigender Ordnung zunehmend weiter ausgelenkten, ebenfalls quasi-parallelen Beugungsbündel. Diese sind – da erzeugt durch Teilung nur eines Bündels – untereinander kohärent. Das Bild entsteht daraus in einem zweistufig zu denkenden Prozess: Soweit sie in seinen Öffnungswinkel fallen, fängt das Objektiv O diese Bündel ein und entwirft aus ihnen in seiner bildseitigen Brennebene jeweils eigene Bilder der Lichtquelle (dort als kleine Kreise dargestellt). Allgemeiner ausgedrückt, entsteht eine durch die dort befindliche Aperturblende AB des Objektivs beschnittene – und damit nicht mehr vollständige – Fraunhofer'sche Beugungsfigur des Objektgitters. Deren Maxima – die Lichtquellen-Bilder – sind, wie im Nebenbild rechts veranschaulicht, innerhalb der Blende AB bei herausgenommenem Okular beziehungsweise durch ein Hilfsmikroskop sichtbar.

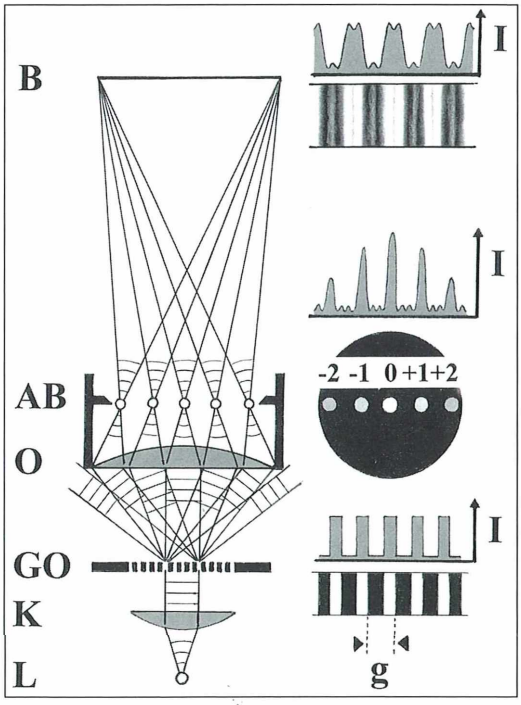


Abb. 1: Zur Abbe'schen Theorie. AB Aperturblende des Objektivs, B Bildebene des Objektivs (Zwischenbildebene des Mikroskops), GO Objektgitter, g Gitterkonstante, I Intensität (Beleuchtungsstärke), K Kondensor, L Lichtquelle, O Objektiv, 0, ±1, ±2 ... Beugungsordnungen.

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

Beispiele: Bei einem Gitter mit g = 10 µm (z. B. Objektmikrometer) und Licht der Wellenlänge 0,55 µm (Grünfilter) entspräche das nebenstehende Bild der Aperturblende mit Maxima bis zur ±2. Ordnung etwa dem eines Objektivs 5/0,12; bei einem Objektiv 40/0,95 sieht man unter sonst gleichen Bedingungen noch die ±17. Ordnungen (Husemann, 2005).

Diese Lichtquellenbilder beleuchten kohärent die Bildebene B des Objektivs und damit die Zwischenbild-Ebene des Mikroskops. Die dort in Form eines Hell-Dunkel-Streifen-Systems resultierende Interferenzfigur stellt dann das Bild des Objektgitters dar. Der Prozess der 1. Stufe (Objekt → Beugungsfigur) wird quasi in der 2. Stufe (Beugungsfigur → Bild) wieder umgekehrt. Da das Objektiv wegen seiner begrenzten Apertur aber nicht alle Beugungsbündel einfangen kann, fehlen in der 2. Stufe die von den weiter ausgelenkten, nicht eingefangenen Bündeln transportierten Informationen. Diese betreffen die feineren Objektdetails, hier im Transmissionsverlauf des Gitters besonders die scharfen Ecken seines Rechteck-Profils. Das Bild entsteht damit nicht mehr vollständig objektähnlich, sein Intensitätsverlauf ist – wie rechts oben schematisch dargestellt – überschwingend gerundeter und damit gröber als das Objekt. Diese Erscheinung ist umso ausgeprägter, je weniger Beugungsordnungen an der 2. Stufe – und damit an der Interferenz – teilnehmen können.

Abbildung 2 soll zeigen, wie die Objektähnlichkeit der Abbildung des dort oben angegebenen rechteckigen Transmissionsverlaufes unter sonst gleichen Bedingungen von der Zahl der vom Objektiv eingefangenen Beugungsordnungen und damit von dessen Numerischer Apertur abhängt. Dazu ist links jeweils die Aperturblende AB mit den Lichtquellenbildern, rechts der zugehörige Intensitätsverlauf I(x) der als Bild des Objektes resultierenden Interferenzfigur dargestellt.

Um überhaupt Interferenz zu bekommen und so die periodische Grundstruktur des Objektgitters gerade noch abzubilden, muss das Objektiv bei der hier angenommenen senkrechten „geraden" Objekt-Beleuchtung zusätzlich zur 0. mindestens die beiden ±1. Beugungsordnungen erfassen. Deren Beugungswinkel weiten sich aber mit kleiner werdender Gitterkonstante. Sie dürfen zur Auflösung den Aperturwinkel (= halber Öffnungswinkel) des Objektivs nicht überschreiten. Die Gitterkonstante eines Objektgitters, bei dessen Beleuchtung diese Bedingung gerade noch erfüllt wird, entspricht dann der Auflösungsgrenze d des betreffenden Objektivs (bei der jeweiligen Wellenlänge). Mit nur einem Bündel allein, hier der 0. Ordnung, wird die Zwischenbildebene nur noch gleichförmig beleuchtet, die periodische Struktur des Gitters nicht mehr abgebildet.

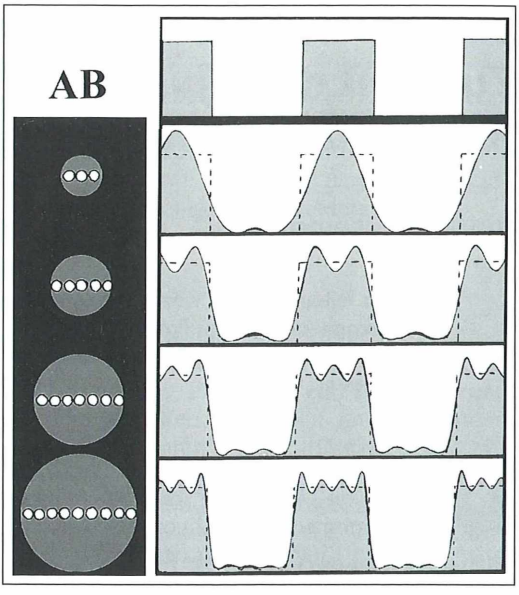


Abb. 2: Zur Objektähnlichkeit der Abbildung. AB Blick auf die Aperturblende.

Zur Ermittlung des Auflösungsvermögens benötigt man also die Beugungswinkel von Parallelbündeln an Gittern in Abhängigkeit von deren Gitterkonstante und der Wellenlänge des benutzten Lichtes. Dazu seien einige wellenoptische Grundlagen vorausgeschickt.

Beugung an Gittern

Abbildung 3 erläutert die Beugung an einem Gitter zunächst für die oben genannte gerade Beleuchtung. Diese erfolge durch ein monochromatisches Parallelbündel. Seine ebenen Wellenfronten – angedeutet durch gerade Linien, deren Abstand ihrer Wellenlänge λ (im das Gitter einbettenden Medium) entspricht – treffen von unten senkrecht auf das Gitter G mit der Konstanten (Spaltabstand) g. Dessen als sehr eng ($\ll \lambda$) angenommenen Spalte wirken, erregt durch die Wellenfronten, im Sinne

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

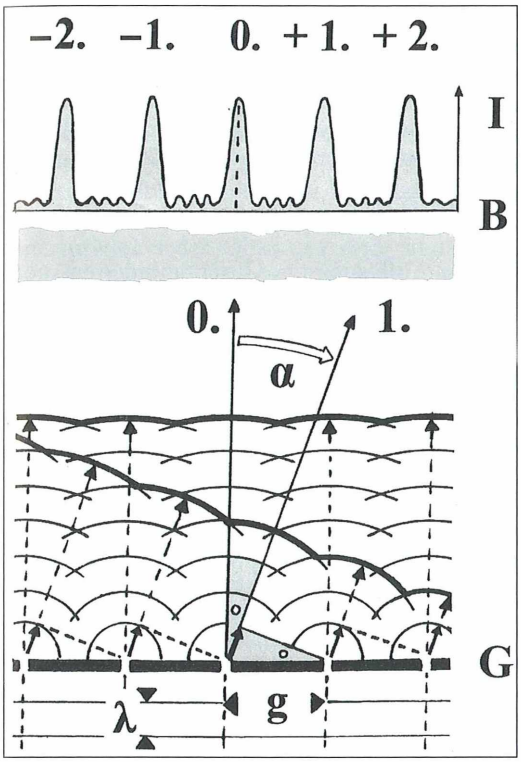


Abb. 3: Zur Beugung am Gitter: Entstehung der Maxima bei „gerader" Beleuchtung.
α Beugungswinkel der 1. Ordnung, B Beleuchtungsschirm, G Gitter, g Gitterkonstante, I Intensität (Beleuchtungsstärke), λ Wellenlänge, 0., ±1., ±2. ... Beugungsordnungen.

des Huygens'schen Prinzips als Zentren für kohärente gleichphasige Elementarwellen. Diese breiten sich im Raum oberhalb des Gitters – dabei einander überlagernd – aus. Nur in Richtungen, für die der Gangunterschied Γ zwischen den von direkt benachbarten Spalten ausgehenden Wellen ein ganzzahliges Vielfaches der Wellenlänge λ beträgt, können sich mit zunehmendem Abstand zusammenhängende ebene Wellenfronten, das heißt Parallelbündel, ausbilden. Auf einem genügend weit entfernten oder in der Brennebene einer abbildenden Linse befindlichen Beleuchtungsschirm B (Fraunhofer'sche Beugung) werden diese damit als weitgehend diskrete Intensitätsmaxima einer Beugungsfigur sichtbar, wie oben in Abbildung 3 dargestellt (der Unterbrechungsriss dort soll den zu fordernden großen Abstand andeuten). Als Bedingung für deren Entstehen gilt also: $\Gamma(i) = \lambda \times i$ mit $i = 0, \pm1, \pm2, \pm3 \ldots$ als Beugungsordnungen. Die verstärkt gezeichneten Linien im vom Gitter ausgehenden Wellenfeld sollen die Entwicklung solcher Wellenfronten für die hier interessierenden 0. und 1. Ordnungen veranschaulichen. Für die Beugungswinkel $\alpha(i)$ – alle Winkel sind von der Senkrechten auf der Gitterebene aus zu zählen – gilt danach bei „gerader" Beleuchtung:

$$\sin \alpha(i) = \Gamma(i)/g = (\lambda \times i)/g \text{ mit } i = 0, \pm1, \pm2, \pm3 \ldots \quad \text{(Gleichung 1);}$$

für das Maximum 1. Ordnung ist das mit $\sin \alpha(1) = \lambda/g$ geometrisch unmittelbar (markierte Dreiecke) ersichtlich.

Anmerkung: Wie in Abbildung 3 oben angedeutet, treten im Beugungsbild eines Gitters mit N Spalten zwischen den Maxima aufeinander folgender Ordnungen noch jeweils N – 2 so genannte Nebenmaxima auf. Diese sind insbesondere bei größerem N von geringer Intensität und hier ohne Bedeutung.

Den Fall des unter einem Winkel β (ebenfalls von der Senkrechten auf der Gitterebene aus zu zählen) schräg auf das Gitter einfallenden Parallelbündels – die so genannte schiefe Beleuchtung – erläutern die Abbildungen 4a und b. Der für das Entstehen von Maxima 1. Ordnung notwendige Gangunterschied $\Gamma(1) = \lambda$ ergibt sich dort je nach Situation als Differenz oder Summe der beiden Teilstrecken $a = g \times \sin \alpha(1)$ und $b = g \times \sin \beta$. Für den in Abbildung 4a dargestellten Fall ($\lambda < g$) ergibt sich $\Gamma = a - b$, für den in Abbildung 4b ($\lambda > g$) $\Gamma = a + b$. Letzterer ist für das maximale Auflösungsvermögen bei

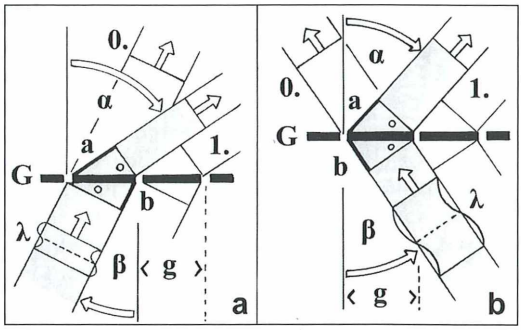


Abb. 4: Zur Beugung am Gitter: Entstehung der Maxima bei „schiefer" Beleuchtung.
0., 1. Ordnungen, a, b, Teilstrecken des Gangunterschiedes, α Richtungswinkel der 1. Ordnung, β Einfallswinkel der Beleuchtung, λ Wellenlänge, G Gitter, g Gitterkonstante.

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

schiefer Beleuchtung maßgebend. Er fordert als Bedingung für ein Beugungsmaximum 1. Ordnung:

$\Gamma(1) = g\,(\sin\alpha(1) + \sin\beta) = \lambda$ (Gleichung 2).

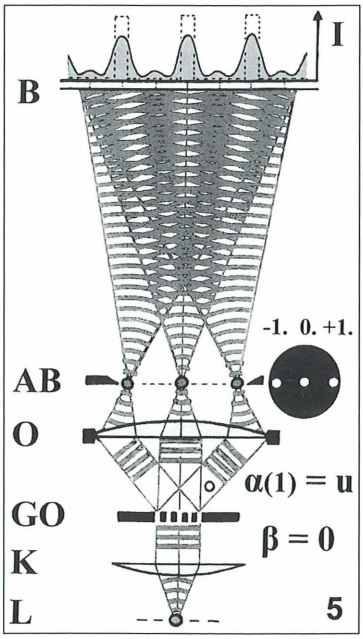
Auflösungsvermögen bei gerader Beleuchtung

Die aus Abbildung 1 abgeleitete Abbildung 5 soll das Erreichen der Auflösungsgrenze bei gerader Beleuchtung ($\beta = 0$) veranschaulichen, wobei wieder sehr enge Gitterspalten angenommen wurden. Wie schon zu Abbildung 1, Teil 1 dieser Artikelserie beschrieben, imitieren die hellen und dunklen Streifen die sinusförmigen Maxima und Minima der Wellenfronten. Kreuzung von hell und dunkel bedeutet dabei destruktive, von hell und hell beziehungsweise dunkel und dunkel konstruktive Überlagerung der Amplituden, woraus die allein wahrnehmbaren Intensitäten (proportional dem Quadrat des jeweiligen Überlagerungsergebnisses) resultieren.

Praktische Hinweise: Die als quasi punktförmig und monochromatisch gedachte Lichtquelle L soll im unteren, objekt-abgewandten Brennpunkt des Kondensors K liegen. Bei hier angenommener Köhler'scher Beleuchtung liegt in dessen Ebene das vom Kollektor entworfene Bild der realen Lichtquelle des Mikroskops (meist der Glühwendel). Begrenzt durch die dort ebenfalls befindliche Aperturblende des Kondensors ist dieses damit stellvertretend die für den weiteren Strahlengang wirksame Lichtquelle. Durch genügend enges Zuziehen der Kondensorblende lässt sie sich näherungsweise zur gewünschten punktförmigen Quelle L gestalten.

Die zur Auflösung des Gitters mindestens notwendigen ± 1. Beugungsordnungen werden gerade noch erfasst und ihre Maxima sind – wie im Nebenbild angedeutet – innerhalb der Aperturblende AB des Objektivs bei herausgenommenem Okular oder mit dem Hilfsmikroskop eben noch randständig zu sehen. Die von diesen drei kohärenten Zentren weiter laufenden Wellen erzeugen dann in der Bildebene B des Objektivs – der Zwischenbildebene des Mikroskops – als Interferenzfigur das gerade noch aufgelöste Bild des Objektgitters GO.

Seine oben in Abbildung 5 dargestellte Intensitätsverteilung lässt sich aus dem Moiree des Überlagerungsbildes der Wellen visuell nachempfinden. Selbst das eine zu erwartende Nebenmaximum ist zu erahnen. Zahl und Lage der Maxima entsprechen dem fiktiven geometrisch-optischen Bild des Objektgitters. Zum Vergleich ist schematisch dessen (gedachte) Intensitätsverteilung – sie stellt den um den Ab-



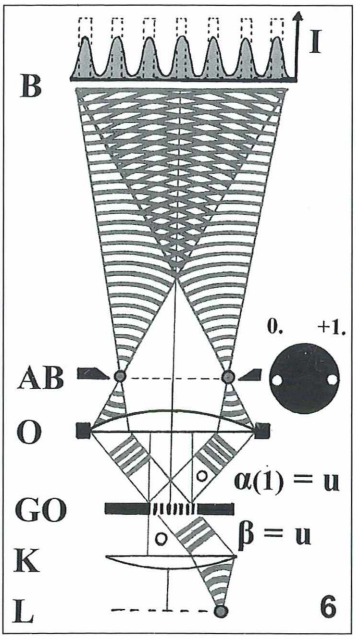


Abb. 5: Auflösungsgrenze bei gerader Beleuchtung. AB Aperturblende des Objektivs, B Bildebene, GO Objektgitter, I Intensität (Beleuchtungsstärke), K Kondensor, L Lichtquelle, α (1) Beugungswinkel 1. Ordnung, u Aperturwinkel des Objektivs. – Abb. 6: Auflösungsgrenze bei maximal schiefer Beleuchtung. β Einfallswinkel der Beleuchtung (weitere Bezeichnungen wie unter Abb. 5).

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

bildungsmaßstab vergrößerten Transmissionsverlauf des Gitters dar – gestrichelt eingefügt. Lediglich die Periodizität des Gitters wird danach richtig wiedergegeben. Das Bild ist also nur diesbezüglich noch objektähnlich. Die Konstante g desjenigen Objektgitters, für das bei gegebener Wellenlänge λ die Beugungswinkel der 1. Ordnung $\alpha(1) = u$, also gleich dem Aperturwinkel des Objektivs sind, stellt dann die gesuchte Auflösungsgrenze d des Objektivs (bei dieser Wellenlänge) dar. Aus Gleichung 1 folgt: $d = \lambda/\sin u$.
λ ist hier – wie schon oben erwähnt – die Wellenlänge des Lichtes im das Objektgitter einbettenden, bis zur Frontlinse des Objektivs reichenden Medium. Mit $\lambda = \lambda v/n$ ersetzt man sie wieder durch die von diesem unabhängige Vakuum-Wellenlänge λv und erhält $d = \lambda v/(n \times \sin u)$, wobei der Nenner die objektseitige Numerische Apertur des Objektivs, NA obj. $= n \times \sin u$, darstellt. Die Auflösungsgrenze d des Mikroskops bei gerader Beleuchtung berechnet sich damit nach Abbe zu:

$d = \lambda v/\text{NA obj.}$ (Gleichung 3).

Auflösungsvermögen bei schiefer Beleuchtung

Das Auflösungsvermögen lässt sich erhöhen durch die bereits erwähnte schiefe Beleuchtung. Voll wirksam ist sie allerdings nur in jeweils einer, durch die Einfallsebene des beleuchtenden Parallelbündels bestimmten Richtung. Abbildung 6 versucht das in analoger Weise wie Abbildung 5 zu veranschaulichen. Verschiebt man die punktförmige Lichtquelle in der objektabgewandten Brennebene des Kondensors K aus der optischen Achse (hier in der Papierebene, senkrecht zur Richtung der Gitterlinien), fällt das diesen verlassende Parallelbündel unter einem Winkel $\beta > 0$ im Objektgitter GO ein.
Praktisch realisierbar ist das zum Beispiel durch Dezentrieren der eng zugezogenen Kondensorblende, provisorisch auch durch Einlegen exzentrischer Lochblenden in den Filterhalter des Kondensors. Wie den Abbildungen 4a und b zu entnehmen, werden damit auch die Richtungswinkel $\alpha(+1)$ und $\alpha(-1)$ der beiden Maxima 1. Ordnung ungleich. Solange aber β und wenigstens einer von ihnen den Aperturwinkel u des Objektivs jeweils nicht überschreiten, also neben dem Maximum 0. Ordnung zumindest eines der beiden Maxima ± 1. Ordnung vom Objektiv erfasst wird, kann Interferenz stattfinden und damit noch eine strukturierte Interferenzfigur als Bild entstehen. Wie sich aus Abbildung 4b im Zusammenhang mit Gleichung 2 ergibt, ist die Auflösungsgrenze d für zwischen 0 und u liegende Einfallswinkel β des beleuchtenden Bündels ($0 \leq \beta \leq u$) erreicht, wenn $\alpha(1) = u$, also gleich dem Aperturwinkel des Objektivs ist. d ist dann gleich der – bei gegebenem λ – dazu passenden Gitterkonstanten g:

$d = g = \lambda/(\sin u + \sin \beta)$; und mit $\lambda = \lambda v/n$ (s. o.): $d = \lambda v/(n \times \sin u + n \times \sin \beta)$.

Bei $\beta > u$ gelangt die 0. Ordnung nicht mehr ins Objektiv; die daraus resultierende Dunkelfeldbeleuchtung soll hier nicht behandelt werden. Mit $n \times \sin u = \text{NA obj.}$ ergibt sich somit als Auflösungsgrenze d für Beleuchtung mit einem Parallelbündel unter dem Einfallswinkel:

$d = \lambda v/(\text{NA obj.} + n \times \sin \beta)$ mit der Einschränkung $\beta \leq u$ (Gleichung 4).

Für $\beta = u$ wird die 0. Ordnung gerade noch vom Objektiv eingefangen, und die so durch schiefe Beleuchtung günstigstenfalls (in einer Richtung!) erreichbare Auflösungsgrenze beträgt nach Abbe

$d = \lambda v/(2\ \text{NA obj.})$ (Gleichung 5).

Abbildung 6 illustriert letzteren Fall. Innerhalb der Aperturblende AB (siehe Nebenbild) sind gerade noch die Maxima 0. und +1. Ordnung randständig sichtbar. Bei sonst gleichen Darstellungsverhältnissen wie in Abbildung 5 (gleiche Streifenbreite für die Wellenlänge, gleicher Aperturwinkel u, gleicher Abstand zur Bildebene B) ergeben sich aus dem die Wellen und ihre Überlagerungen simulierenden Moiree-Muster schon rein anschaulich bei gleicher Bildbreite doppelt so viele Intensitätsmaxima in der Bildebene B wie dort. Es wird also noch ein Gitter mit halb so großer Gitterkonstante wie in Abbildung 5 aufgelöst. Auch hier ist zum Vergleich die Intensitätsverteilung des fiktiven geometrisch-optischen Gitterbildes gestrichelt mit angegeben.
Es sei aber noch darauf hingewiesen, dass die für eine objektähnliche Abbildung mindestens notwendigen zwei interferierenden Beugungsordnungen auch benachbart sein müssen. Denkt man sich in Abbildung 5 die 0. Ordnung ausgeblendet – was real durch einen einfachen Eingriff mittels einer kleinen zentralen Blende in die

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

Aperturblende AB zu erreichen ist – dann interferieren nur noch die beiden ± 1. Ordnungen. Diese sind – da getrennt durch die 0. Ordnung – nur übernächste Nachbarn. Wie der direkte Vergleich mit Abbildung 6 zeigt, resultierte ohne die vom Maximum 0. Ordnung ausgehenden Wellen das gleiche Beugungsbild wie dort. Für das Objektgitter der Abbildung 5 würde damit die doppelte Raumfrequenz vorgegaukelt und das Bild wäre nicht mehr objektähnlich.
Der zweite Term in Gleichung 4 wird entsprechend seiner Form auch als Numerische Beleuchtungsapertur NA bel. = n × sin β bezeichnet und damit die allgemeine Beziehung für die Auflösungsgrenze nach Abbe angegeben zu:

$d = \lambda v/(NA\ obj. + NA\ bel.)$, mit der Einschränkung $NA\ bel. \leq NA\ obj.$ (Gleichung 6)

NA bel. beschreibt aber hier an sich nur den Winkel β, unter dem ein Parallelbündel auf der Objektebene einfällt. Ein solches hat jedoch in sich nur eine gegen Null gehende Apertur und erzeugt – genau wie ein senkrecht (β = 0) einfallendes – stets eine kohärente Beleuchtung. Die damit verbundene Erhöhung des Auflösungsvermögens ist richtungsabhängig, das heißt nur einseitig.
Führt man, wie für Abbildung 7 im Teil 2, den hier neutrales Apertur-Verhältnis S genannten Ausdruck S = NA bel./NA obj. in Gleichung 7 ein, ergibt sich nach einfacher Umformung für die Auflösungsgrenze:

$d = (1/[1 + S]) \times (\lambda v/NA\ obj.)$ mit der Beschränkung $0 \leq S \leq 1$ (Gleichung 7)

Der Vorfaktor f aus Gleichung 1 im Teil 1, lautet hier also $f = (1/[1 + S])$ und variiert zwischen 1 und 0,5.

Dieser Zusammenhang wurde in Abbildung 7 im Teil 2 vergleichend mit dargestellt.

Ergänzung: Zur Beschreibung eines Gitters wird anstelle seiner Konstanten g oft auch seine ihrem Kehrwert 1/g entsprechende so genannte Raum-Frequenz νr – Zahl der Gitterspalten pro Längeneinheit – im Allgemeinen in Lp/mm angegeben. Lp bedeutet Linienpaare, denn benachbarte Spalten (hell) sind immer durch einen Steg (dunkel) getrennt; g = 1 µm entspricht damit νr = 1000 Lp/mm.
Das Auflösungsvermögen wird dann durch die dem Kehrwert der Auflösungsgrenze d entsprechende Grenz-Frequenz:

$\nu r,g = 1/d = (1 + S) \times (NA\ obj./\lambda v)$ (Gleichung 8)

beschrieben.

Beispiel: S = 1 (NA bel. = NA obj.), λv = 0,55 µm (= 0,00055 mm), NA obj. = 0,65: d = 0,55 µm/(2 × 0,65) = 0,42 µm; $\nu r,g$ = (2 × 0,65)/0,00055 mm = 2364 Lp/mm.
In Teil 4 wird die hier vorausgesetzte – an sich ja nicht realistische – Beschränkung auf die Objektbeleuchtung durch Parallelbündel aufgegeben und Auflösungsvermögen und Kontrastverhältnisse bei weiter geöffneter Kondensorblende, also ausgedehnten Lichtquellen, untersucht.

Die Literaturhinweise befinden sich am Ende von Teil 1.

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

Aus den Arbeitsgemeinschaften

Treffen der Mikroskopischen Arbeitsgemeinschaft Mainfranken

Die Mikroskopische Arbeitsgemeinschaft Mainfranken lädt ein zum Treffen im BIO-Zentrum der Universität Würzburg in Gerbrunn-Hubland. Gäste sind immer herzlich willkommen.

Termin: Samstag 11. 10. 2008, pünktlich um 10 Uhr.

Treffpunkt: Letzter Parkplatz an der Rückseite des Gebäudekomplexes vom BIO-Zentrum

Vorgesehene Themen:

Ernst Hippe: Kristallbilder

Peter Schreyer: Ins Objektiv geblickt

PD Dr. Rainer Wol: Radiolarien im Rasterelektronenmikroskop

Robin Wacker: Bestimmung von Edelsteinen (voraussichtlich)

Anfragen an: Joachim Stanek, Am Moosrangen 28, 90614 Ammerndorf, Tel.: 091 27/88 32, E-Mail: info@stanek.name, Internet: www.stanek.name

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

Mikro-Markt

Mikro-Markt Online
75,- € je Monat
Nähere Infos unter
www.elsevier.de/journals
oder Tel.: 03641/62 64 48

Anzeigenschluss für die nächste Ausgabe (5/2008): 25.7.2008

Preise für Mikro-Markt-Anzeigen (je mm bei 68 mm Spaltenbreite):

Privat	€ 1,80	Vorzugspreis für Abonnenten der Zeitschrift	
Geschäftlich	€ 2,60	(nur Privatanzeigen)	€ 1,30
Chiffregebühr	€ 8,00	Preise zzgl. gesetzlicher MwSt.	

Senden Sie Ihren Anzeigenauftrag an:

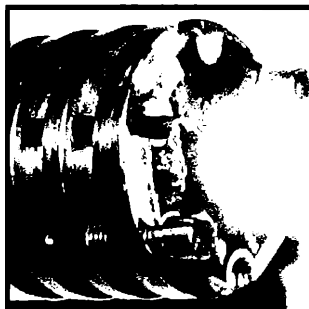
Elsevier GmbH, Anzeigenleitung: Postfach 10 05 37, D-07705 Jena
Telefon: 0 36 41/62 64 48 · Fax: 0 36 41/62 64 21 · E-Mail: e.baier@elsevier.com

www.mikroskopier-bedarf.de
online-shop & Service/Reparaturen
Tel./Fax: 0341/4616596

Mikroskop. Präparate aus Zoologie und Botanik **in bester Qualität direkt vom Hersteller.** Liste anfordern, (Rückporto von EUR 1,12 in Briefmarken). Labor für mikroskop. Technik. Volker Neureuther, Brentanostr. 7a, 85055 Ingolstadt, Tel.: 08 41/5 43 98, Fax: 08 41/5 68 53

Stoppt Tuberkulose!
Mit nur 50 Euro können Sie einen TB-Kranken retten.
Informationen unter:
Telefon 09 31/79 48-0
www.dahw.de
DAHW
Deutsche Lepra- und Tuberkulosehilfe e.V.

Gute gebrauchte **Zeiss-West-Objektive / -Okulare / -Zubehör.** Gewährleistung und 4-wö. Rückgaberecht. www.thilo-immel-optics.de, Tel. 0551/63 28 04.



LED-Technik von 250 - 1000 LM
mit den neuen
BW-Optik LZKK 1-8
für alle Mikroskope von
CARL ZEISS JENA

Prospekte + ausführliche Informationen anfordern oder unter www.bw-optik.de

SONDEROPTIK ASTRONOMIE MIKROSKOPIE
BW-OPTIK
DIREKTVERSAND **LANGNER-VOSS**
Telefon: 04962/996484 • Fax: 04962/996717
Blücherstr. 5 • D-26871 Aschendorf
www.bw-optik.de • shop@bw-optik.de

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

AUGEN BLICK

Vererbte Netzhaut-Degeneration:
Makula-Degeneration, Retinitis pigmentosa, Usher-Syndrom, Alters-Makula-Degeneration...jeder 40. in Deutschland.
Restsehen und Erblindung sind immer noch die bitteren Folgen.
Hinnehmen? Nein. Handeln? Ja.
PRO RETINA arbeitet aktiv als anerkannte Selbsthilfegruppe: Praktische Lebenshilfe - von der Kindheit bis ins Alter. Gezielte Unterstützung sinnvoller Forschung.

LICHT INS DUNKEL. PRO RETINA.
...UND SIE:
Konto-Nr. 54 800-605, BLZ 500 100 60, Postgirokonto Frankfurt.
PRO RETINA Deutschland e.V., Vaalser Str. 108, 52074 Aachen

FLÜGEL • KÜHN STUTTGART

Impressum
Herausgeber: Prof. Dr. Klaus Hausmann, Institut für Biologie/Zoologie, Freie Universität Berlin, Königin-Luise-Straße 1–3, 14195 Berlin, Telefon: +49(0)30/83 85 64 75, Telefax: +49(0)30/83 85 64 77, E-Mail: hausmann@zedat.fu-berlin.de; Redaktionsassistentin: Dr. Renate Radek, Institut für Biologie/Zoologie, Freie Universität Berlin, Königin-Luise-Str. 1–3, 14195 Berlin, Tel.: +49(0)30/83 85 63 73, E-Mail: rradek@zedat.fu-berlin.de
Verlag: Elsevier GmbH, Niederlassung Jena, Postfach 10 05 37, 07705 Jena, Deutschland.
Tel.: +49(0)36 41/62 63, Fax: +49(0)36 41/62 65 00, E-Mail: journals@elsevier.com
Anzeigenleitung: Elsevier GmbH, Niederlassung Jena, Deutschland, Ansprechpartner: Erika Baier, Löbdergraben 14a, 07743 Jena. Tel: +49(0)36 41/62 64 48, Fax: +49(0)36 41/62 64 21; E-Mail: e.baier@elsevier.com
Anzeigenpreise: Gültig ist die Preisliste vom 1. Januar 2008.
Lieferkonditionen (2008): Band 97 (1 Band mit 6 Ausgaben)
Abopreise* **(2008):**

Land	Bandpreis	Vorzugspreis für Schüler, Azubis und Studenten	Einzelheft
D, A, CH, FL#	82,00 EUR	51,00 EUR	17,00 EUR

Deutschland, Österreich, Schweiz, Liechtenstein

*Die Preisangaben sind unverbindliche Preisempfehlungen. Preisänderungen müssen wir uns vorbehalten. Alle Preise verstehen sich inklusive Versandkosten und exklusive Umsatzsteuer. Bei der Rechnungsstellung wird Umsatzsteuer gemäß der zum Rechnungszeitraum geltenden Richtlinien erhoben. Versand per Luftpost ist möglich, Preise auf Anfrage. Kunden in den EU-Ländern werden gebeten ihre Umsatzsteuernummer anzugeben.
Der Verlag behält sich das Recht vor, Zusatzbände im Abonnementzeitraum zu publizieren. Erscheinende Supplement-Bände zu einzelnen Zeitschriften sind in den genannten Preisen enthalten.
Kündigung von Abonnements: Abonnements laufen jeweils für ein Kalenderjahr und werden automatisch verlängert, falls nicht bis zum 31. Oktober des Jahres gekündigt wird.
Abonnements: Bitte richten Sie ihre Bestellung an Elsevier GmbH, Niederlassung Jena, Aboservice/Vertrieb, Postfach 10 05 37, 07705 Jena, Deutschland. Tel: +49(0)36 41/62 64 47, Fax: +49(0)36 41/62 64 43, E-Mail: k.ernst@elsevier.com
Bankverbindung: Deutsche Bank AG Reutlingen, Kontonummer 159 9950 (BLZ 640 700 85), IBAN DE54 6407 0085 0159 9950 00; BIC DEUTDESS640
Postbank Stuttgart, Kontonummer 6930-706 (BLZ 600 100 70), IBAN DE80 6001 0070 0006 9307 06, BIC PBNKDEFF
Bitte geben Sie bei der Zahlung ihre vollständigen Daten an.
Copyright: Alle Artikel, die in dieser Zeitschrift veröffentlicht werden, sind urheberrechtlich geschützt, alle Rechte vorbehalten. Ohne schriftliche Erlaubnis des Verlages ist es verboten, Teile der Zeitschrift in irgendeiner Form zu reproduzieren. Dies beinhaltet ebenso die Digitalisierung, als auch jede andere Form der elektronischen Weiterverarbeitung, wie Speichern, Kopieren, Drucken oder elektronische Weiterleitung des digitalisierten Materials aus dieser Zeitschrift (online oder offline).
Für den allgemeinen Vertrieb von Kopien für Anzeigen- und Werbezwecke, für die Neuzusammenstellung von Sammelbänden, für den Wiederverkauf und andere Recherchen muss eine schriftliche Erlaubnis vom Verlag eingeholt werden.
Satzstudio: SATZREPROSERVICE GmbH Jena, Talstraße 84, 07743 Jena.
Druck/Bindung: Stürtz GmbH, Alfred-Nobel-Straße 33, 97080 Würzburg.
(∞) Seit Band 85, Ausgabe 1 (1996) erfüllt das Papier, das für diese Zeitschrift genutzt wurde, die Anforderungen von ANSI/NISO Z39.48-1992 (Beständigkeit von Papier).

Hergestellt in Deutschland
Alle Rechte vorbehalten.

© Elsevier GmbH

Für weitere Informationen gehen Sie bitte auf unsere Website http://www.elsevier.de/mikrokosmos

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

Hinweise für Autoren

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

2. Die Redaktion bittet, Manuskripte auf fortlaufend nummerierten DIN A4-Bögen einzureichen. Zugunsten der Themenvielfalt in einem Heft können keine überlangen Artikel berücksichtigt werden. Ein Manuskript darf bei 1,5fachem Zeilenabstand und einer 12-Punkt-Schriftgröße einschließlich der Literaturhinweise und Bildlegenden nicht länger als 10 Seiten sein; der Abbildungsanteil darf insgesamt vier Druckseiten nicht überschreiten (Platzbedarf der Abbildungen gemäß der vorgegebenen Bildgrößen berechnen). Der Text wird durch Zwischenüberschriften untergliedert. Am Ende des Manuskriptes steht die vollständige Autorenadresse. Soweit möglich sollten die Manuskripte zusätzlich zur Hardcopy auf einer 3,5″-Diskette (kein Macintosh) oder CD als Word-Dokument ohne spezielle Formatierung eingereicht werden (Arial 12 pt). Bitte keine Trennungen einfügen.

3. Tabellen und Bildlegenden (beide jeweils fortlaufend nummerieren) nicht in den Haupttext einbauen, sondern als Anhang auf eigene Manuskriptseiten schreiben. Auch alle Abbildungen fortlaufend im Text zitieren, aber nicht in den laufenden Text einfügen, sondern gesondert beilegen.

4. Als Bildvorlagen sind Farbdias, Schwarzweiß- oder Farbfotos sowie druckfertige Strichzeichnungen und Graphiken geeignet. Alle Materialien namentlich kennzeichnen. Auf den Originalabbildungen keine Beschriftungen vornehmen, sondern nur auf Kopien. Elektronische Abbildungen nur als Tiff-Dateien (300 dpi bei 14 cm Bildbreite) auf CD-R einreichen. Bei digitalen Bildern unbedingt auch eine unbeschriftete Version einreichen. Wenn Beschriftung in digitalen Vorlagen vorgenommen wird, bitte Arial 10 pt normal verwenden; die Nummerierung der Abbildungen in Arial 12 pt fett einfügen. Die Abbildungen so abspeichern, dass die Beschriftung nachträglich verändert werden kann (z. B. in Photoshop die Ebenen nicht vereinen, sondern getrennt belassen).
Die Bilder werden in drei verschiedenen Breiten reproduziert: 7 cm (1-spaltig), 9,5 cm (1,5-spaltig) und 14 cm (2-spaltig = seitenbreit). Es können mehrere Bilder zu Tafeln kombiniert werden. Vergrößerungen sollten erst anhand der Bildandrucke berechnet werden, die vor Drucklegung zusammen mit den Korrekturandrucken der Artikel den Autoren zugeschickt werden. Anstelle einer Vergrößerungsangabe können auch Maßstriche in die Abbildungen eingefügt werden.

5. Alle Bildvorlagen bleiben Eigentum des Autors.

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

Zitate von Zeitschriftenbeiträgen:
Schnepf, E.: Optische Aufheller: Leuchtende Werkzeuge für die Mikroskopie. Teil 1: Mechanismen und Substrate der Fluochromierung. Mikrokosmos 94, 175–180 (2005).
Kudryavtsev, A., Smirnov, A.: *Cochliopodium gallicum* n. sp. (Himatismenida), an amoeba bearing unique scales, from cyanobacterial mats in the Camargue (France). Europ. J. Protistol. 42, 3–7 (2006).

Buchzitate:
Larink, O., Westheide, W.: Coastal plankton. Photo guide for European seas. Verlag Dr. Friedrich Pfeil, München 2006.

Zitate von Buchbeiträgen:
Hausmann, K., Hülsmann, N., Radek, R.: „Einzellige Eukaryota“, Einzeller. In: Westheide, W., Rieger, R. (Hrsg.): Einzeller und Wirbellose Tiere, 2. Auflage, S. 1–65. Elsevier Verlag, München 2007.

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

8. Jeder Autor erhält von seiner im MIKROKOSMOS veröffentlichten Arbeit kostenlos 25 Sonderdrucke. Zusätzliche Sonderdrucke können auf Nachfrage vom Verlag auf eigene Kosten bezogen werden.

9. Der Verlag honoriert jede Druckseite mit € 30,00 und ein Foto, das auf der Titelseite erscheint, mit € 60,00.

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

Mikrokosmos
4/2008 1 (6)

510543
Bibliothek des OÖ.
Landesmuseums

Museumstraße 14
4020 Linz

300229

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Mikrokosmos, Zeitschrift für Mikroskopie

Jahr/Year: 2008

Band/Volume: 97_4

Autor(en)/Author(s): diverse

Artikel/Article: Mikrokosmos 97/4 1