

Heft 2 98. Jahrgang März 2009

www.elsevier.de/mikrokosmos

ISSN 0026-3680



MIKROKOSMOS Zeitschrift für Mikroskopie

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

Mitteilungsorgan für den Arbeitskreis Mikroskopie im Freundeskreis Botanischer Garten Köln, Arbeitskreis Mikroskopie im Naturwissenschaftlichen Verein zu Bremen, 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.

กุลให้	

Artik	el	Rubriken
65	Schaffe, schaffe, Häusle baue – Beobachtungen zur Zellteilung von Euglypha compressa Hans-Jürgen Voß	69, 84, 92 Nachrichten
70	Mikroskopische Salonpräparate – Naturschönes und Kunstschönes auf kleinstem Raum <i>Matthias Burba</i>	75, 123 Buchbesprechungen
76	Mikroskopische Entdeckungsreise im Supermarkt <i>Rudolf Drews</i>	80 Mikro-Toon
81	Beleuchtungssockel für Stereomikroskope Thomas Fromm	83, 106
86	Mikroskopie reliktischer Granate in metamorphen Gesteinen der Zentralalpen Österreichs Robert Sturm	Kurze Mitteilung
93	Untersuchungen zur Gravitaxis bei <i>Euglena gracilis</i> – Mikroskopie im freien Fall Sebastian M. Strauch und Robert Ruthenberg	Aus der Industrie
98	Brechwertmessungen an Diatomeen – Technik und neue Messungen Peter Höbel	Aus den Arbeitsgemeinschaften
03	Bakterien als Produzenten Claudia Keil	U U
05	Ein Hilfsmittel zum Einschluss in Glyceringelatine <i>Udo Rüterswörden</i>	
80	Nicht alle Blumen welken – Die Zellkerne in alternden Blütenblättern Eberhard Schnepf	
112	Kieselalgen aus dem Nordseewatt Jo <i>achim Hormann</i>	
14	Digitale Blitzlichtfotografie in der Auflichtmikroskopie am Beispiel von Seifenhäuten <i>Karl E. Deckart</i>	
17	Verbesserte Darstellung dreidimensionaler, transparenter Objekte in modifizierten Dunkelfeld-Techniken und digitalisiertem Interferenzkontrast <i>Jörg Piper</i>	
124	Kristalle aus Flechtenstoffen Siegfried Hoc	
Da	s jeweils neueste Inhaltsverzeichnis können Sie jetzt auch kostenlos per e-mail (To Melden Sie sich an: www.elsevier.de/mikrokosmos	C Alert Service) erhalten.
In	dexed in: Bibliography and Index of Geology (also known as GeoRef)/Biologi	cal Abstracts/Chemical

Abstracts/Excerpta Medica/Scopus/Zoological Records

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

Umschlagabbildung: Aus Schmetterlingsflügelschuppen und Diatomeen gelegtes Salonpräparat. Siehe Artikel M.Burba, S. 70-75.

Schaffe, schaffe, Häusle baue – Beobachtungen zur Zellteilung von Euglypha compressa

Hans-Jürgen Voß

Gehäusebildungen sind bei pflanzlichen und tierischen Protisten weit verbreitet. Man denke zum Beispiel an die zierlichen Kelche von *Dinobryon* oder an die verschiedenen Arten von Vasen-, Pokal- oder Krugtierchen der Gattungen *Cothurnia, Vaginicola* und *Lagenophrys*. Den größten Formenreichtum im Schalenbau haben jedoch die Amöben entfaltet.

er Bau des Gehäuses wird bei den Amöben auf drei verschiedene Arten bewerkstelligt:

1. Die Zelle baut das Gehäuse selbst aus organischem Material (z. B. Chitin) oder anorganischem Material (z. B. Kieselsäure), entweder in einem Stück oder aus vorgefertigten, gleichgeformten, quasi genormten Einzelteilen, den so genannten Idiosomen. 2. Die Zelle baut das Gehäuse aus Fremdkörpern, die sie ihrer Umgebung entnimmt. Die Fremdkörper sind vielfach kleine Sandkörnchen oder – besonders beliebt – leere Diatomeenschalen und werden Xenosomen genannt. 3. Die Zelle phagocytiert andere beschalte Einzeller, speichert deren Schalenkomponenten und verwendet diese später bei der eigenen Zweiteilung für das neue Tochtertier. Alle drei Formen des Gehäusebaus findet man nach Schönborn (1966) bei den fast 2.000 Arten umfassenden Schalenamöben, den Testaceen.

Die Gattung Euglypha

Die Testaceen-Gattung *Euglypha* wurde 1841 von Dujardin aufgestellt und wegen der besonderen Gehäusestruktur als die "Schön Geschnitzte" bezeichnet (Werner, 1997). Kennzeichnend ist dabei ein längliches Gehäuse, das aus selbst produzierten, ovalen Plättchen (Idiosomen) aufgebaut ist. Die Plättchen bestehen aus amorpher Kieselsäure und sind durchsichtig. Diese Kieselsäureplättchen stehen längsoval in Längsreihen und sind in den Nachbarreihen gegeneinander versetzt angeordnet. Dabei über-



Abb. 1: Leeres Gehäuse von Euglypha compressa im Phasenkontrast. Die Schalenfelderung ist erkennbar. – Abb. 2: Gehäuse von Euglypha compressa nach Protagolimprägnation im Hellfeld. Beachte die Schalenfelderung und die anders geformten Idisomen des Pseudostoms. – Abb. 3 und 4: Euglypha compressa in Seitenansicht (Abb. 3) und Aufsicht (Abb. 4). Die Stacheln sitzen am seitlichen Schalenrand.

Mikrokosmos 98, Heft 2, 2009 www.elsevier.de/mikrokosmos lappen sie untereinander dachziegelartig, so dass der Eindruck einer hexagonalen oder rhombischen Felderung entsteht (Abb. 1). Häufig sind diese Gehäuse mit artspezifisch angeordneten, Stachel tragenden Plättchen besetzt. Die Schalenöffnung, das Pseudostom, liegt terminal und wird von besonders geformten Idiosomen, den Marginalplättchen umgeben, welche eine regelmäßige und artspezifische Zähnelung aufweisen (Abb. 2).

Das Untersuchungsobjekt – Euglypha compressa

Euglypha compressa wurde im Juni 2008 im Rückstand des ausgepressten Filtermaterials eines Warmwasseraquariums gefunden. Nach Grospietsch (1958) und Schönborn (1966) ist E. compressa zwar vorwiegend an Sphagnen (Torfmoose) von Hochmoorbiotopen gebunden, sie kommt aber auch als Besiedler von Wasserpflanzen vor. Der etwas sonderbare Fundort Warmwasseraquarium wird dadurch vielleicht erklärlich, denn es ist durchaus denkbar, dass E. compressa durch eingesetzte Aquarienpflanzen eingeschleppt wurde. Durch Zugabe von Reiskörnern und Fütterung mit Chlorogonium elongatum konnte Euglypha in einer Rohkultur zusammen mit Wimpertierchen der Gattungen Cyclidium, Euplotes und Paramecium über einen längeren Zeitraum gehalten und auch zur Vermehrung gebracht werden. Zur mikroskopischen Untersuchung wurde ein kleiner Tropfen Untersuchungsmaterial mit einem Deckglas bedeckt und entweder direkt mikroskopiert oder zur Aufbewahrung in eine feuchte Kammer eingestellt. Die Untersuchungen wurden durchweg im Phasenkontrast mit einem 40× Objektiv durchgeführt.

Interphasemorphologie

Euglypha compressa weist eine Schalenlänge von 70-130 um und eine maximale Schalenbreite von 30-90 µm auf. Die Schale ist seitlich zusammengedrückt; der dadurch entstehende seitliche Schalenrand ist mit Stacheln besetzt (Abb. 3 und 4). Die Pseudopodien sind wie bei allen Euglyphen gerade, nadelartig und nicht selten gegabelt; Querverbindungen (Anastomosen) fehlen (Abb. 5 und 7). Fadenförmige Pseudopodien werden als Filopodien bezeichnet. Die Filopodien nehmen ihren Ursprung von einem unmittelbar in der Schalenöffnung liegenden Cytoplasmabereich, dem Pseudopodienträger. Beim Zurückziehen knicken die Filopodien zickzack- oder korkenzieherförmig ein, wobei sie knotig-tropfige Verdickungen ausbilden können (Abb. 5). Bei der Fortbewegung wird die Schale von den ausgestreckten Filopodien nach vorne gezogen, wobei sie sich aufrichtet. Die Filopodien dienen wie bei allen Amöben nicht nur zur Fortbewegung, sondern auch zur Nahrungsaufnahme. Als Nahrung dienen in erster Linie Bakterien, es werden aber auch einzellige Algen in Nahrungsvakuolen aufgenommen, sofern sie das Pseudostom passieren können (Abb. 6).



Abb. 5: Eine sich bewegende *Euglypha* mit Filopodien. Im hinteren Schalenbereich ist der Kern als rundes Gebilde erkennbar. – Abb. 6: Diese *Euglypha* zeigt eine große Nahrungsvakuole mit aufgenommenen Chlorogonien. Links oben ist eine kontraktile Vakuole als heller Kreis erkennbar. – Abb. 7: Eine junge *Euglypha*-Zelle ist an dem plasmafreien Schalenrand erkennbar. Die Zelle ist in Bewegung. – Abb. 8: Eine ältere, teilungsbereite Zelle. Die Schale ist ganz mit Plasma erfüllt und das Plasma der Kernregion lässt vorproduzierte Idiosomen erkennen.

Der cytoplasmatische Amöbenzellkörper liegt in der Schale nahe der Öffnung unter dem Scheitel an. An den Seiten des Tieres besteht ein plasmafreier Schalenraum, der mit dem Alter der Zelle kleiner wird und kurz vor der Teilung ganz von Plasma erfüllt ist (Abb. 7 und 8).

Das Cytoplasma lässt sich in drei hintereinander liegende, funktionell verschiedene Zonen gliedern: Im hinteren Bereich der Schale findet man die perinukleäre Zone. Das Cytoplasma ist dort weitgehend hvalin und umhüllt den großen Zellkern, der auch ein Kernkörperchen (Nukleolus) erkennen lässt. In diesem Bereich der Zelle befinden sich auch zwei kontraktile Vakuolen (Abb. 6). Daran schließt sich die granuläre Zone an, die bei mittlerer Vergrößerung als Querstrich erscheint. In dieser Körnerzone werden bereits während der Interphase aus kleinen, lichtbrechenden Grana die Schalenplättchen gebildet und in mehreren ringförmigen Schichten um den Kern als Material für den nächsten Schalenbau gespeichert (vgl. Abb. 8). Die so genannte alveoläre Zone findet sich vorne an der Schalenöffnung, dort werden auch die Nahrungsvakuolen gebildet (Abb. 9).

Beobachtungen zur Zellteilung

Die verschiedenen Phasen der Zellteilung wurden schon recht ausführlich gegen Ende des 19. Jahrhunderts beschrieben (Leidy, 1879; Gruber, 1881). Schewiakoff hat dann 1888 in einer klassischen Arbeit eine detaillierte Schilderung der Schalenbildung und eine Analyse der Kernteilungsvorgänge bei *E. alveolata* veröffentlicht.

Eine teilungsbereite Zelle erkennt man an den granulären Veränderungen im Bereich des Zellkerns, wo – wie eingangs bereits angesprochen – die Kieselsäureplättchen vorproduziert werden (Abb. 8). Ein weiteres Merkmal ist, dass das Gehäuse prall mit Cytoplasma gefüllt ist.

Die Zellteilung wird eingeleitet durch das Herauspressen eines kleinen Tropfens Cytoplasma aus dem Pseudostom. Diese Cytoplasmaknospe ist bereits mit einigen Kieselsäureplättchen behaftet (Abb. 10). Die das Pseudostom formenden Marginalplättchen sind die ersten, die aus der elterlichen Schale nach außen gelangen. Sie greifen genau in die Lücken der elterlichen Pseudostomplättchen. Aus der Plättchenspeicherzone rund um den Zellkern wandern alsbald weitere Plättchen an der Gehäusewand entlang nach und werden ihren Vorgängern im Scheitel der Anlage schindelartig angefügt. Dabei stehen die Gehäuseplättchen zunächst abgespreizt, so dass diese Anlage an einen reifen Kiefernzapfen erinnert (Abb. 11 und 12).

Stark vakuolisiertes Cytoplasma, das durch vermehrte Aufnahme von Umgebungswasser entstanden ist, tritt in die Anlage über. Dabei dehnt sich die Cytoplasmaknospe immer weiter aus und nach und nach schmiegen sich die



Abb. 9: Die Plasmazonierung ist gut erkennbar. Das granuläre Plasma liegt als schmaler Streifen zwischen dem zellkernhaltigen und dem alveolären Zellplasma. – Abb. 10: Die Zellteilung wird eingeleitet durch die Ausstülpung einer kleinen Plasmaknospe, die bereits mit Idiosomen besetzt ist. – Abb. 11 und 12: Diese Anlage vergrößert sich durch Aufnahme von Wasser. Die Kieselsäureplättchen überlappen sich noch stark.



Abb. 13 und 14: Das neue Gehäuse erreicht allmählich endgültige Größe und Gestalt und die äußere Wand glättet sich. Das durch vermehrte Wasseraufnahme vakuolisierte Plasma ist gut erkennbar. – Abb. 15 und 16: Die chitinartige Matrix, die als Befestigungsgrundlage der Idiosomen dient, härtet aus. Gleichzeitig organisiert sich das Cytoplasma neu und tritt in das neu gebildete Gehäuse über. Nach der Teilung des Kerns enthält das neue Gehäuse ein eigenständiges Cytoplasma (Abb. 16). – Abb. 17: Eine *Euglypha*-Zelle, deren noch weiches Gehäuse durch Deckglasdruck zerstört wurde. Die normalen und die bestachelten Idiosomen sind gut erkennbar.

Plättchen aneinander, so dass sich die gesamte Kontur allmählich glättet. Das vakuolisierte Plasma formt die Anlage zu endgültiger Gestalt und Größe (Abb. 13 und 14). Interessant und äußerst faszinierend ist dabei die Tatsache, dass die bestachelten Kieselsäureplättchen ebenfalls als Fertigprodukte in die Schalenstruktur eingebaut werden (vgl. Abb. 17). Woher weiß die Zelle, wohin diese wandern müssen und welche Anordnung eingehalten werden muss, damit die artspezifische Schalenstruktur wieder hergestellt werden kann?

Im Phasenkontrast sieht man nun zwei zusammenhängende Zellen, die häufig gegeneinander versetzt angeordnet sind. Die neu gebildete Zelle ist deutlich an dem vakuolisierten Plasma mit den aufsitzenden Idiosomen erkennbar (Abb. 13), auch die Bestachelung ist noch vollständiger als bei alten Zellen. Noch ist die neu gebildete Gehäusewand sehr weich und biegsam. Das vakuolisierte Cytoplasma der Tochterzelle sondert als Kitt- beziehungsweise Befestigungsmatrix für die Kieselplättchen eine chitinähnliche Eiweißsubstanz aus, die sich nach der Fertigstellung des Gehäuses allmählich verfestigt. Abbildung 17 zeigt eine zweigeteilte Euglypha, deren neues Haus durch Deckglasdruck völlig zerstört wurde.

Erst mit dem Erstarren der frisch gebildeten Schalenwand organisiert sich das Cytoplasma

neu. Durch erhöhte Aktivität der kontraktilen Vakuolen nimmt das Cytoplasma wieder normale Konsistenz an und ist im Phasenkontrast deutlich abgesetzt von der neu entstandenen Gehäusewand sichtbar. Noch tritt das Cytoplasma in das neue Gehäuse über und ist mit dem elterlichen verbunden (Abb. 14 und 15). In dieser Phase teilt sich dann auch der Kern und das Kernteilungsprodukt wandert in die Tochterzelle über. Dann trennt sich das elterliche Cytoplasma von dem der Tochterzelle ab. Danach organisiert sich das Cytoplasma in der Tochterzelle funktionell wie das der elterlichen Zelle (Abb. 16). Noch sind die Zellen zusammen und erste Filopodienbildungen lassen sich innerhalb der Schalen erkennen. Die Zellen trennen sich, wenn diese Filopodien zwischen den noch zusammenhängenden Pseudostomen hervorgestreckt werden können.

Literaturhinweise

- Dujardin, F.: Histoire naturelles des Zoophytes. Infusoires. Roret, Paris 1841.
- Grospietsch, Th.: Wechseltierchen (Rhizopoden). Reihe: Einführung in die Kleinlebewelt. Kosmos Verlag, Stuttgart 1958.
- Gruber, A.: Der Teilungsvorgang bei *Euglypha alveolata*. Z. wiss. Zool. 35, 431–439 (1881).
- Hall, R. P., Loefer, J. B.: Studies on *Euglypha*. I. Cytoplasmic inclusions of *Euglypha alveolata*. Arch. Protistenkd. 72, 365–376 (1930).

- Leidy, J.: Fresh water rhizopods of North America. Rep. U. S. Geol. Survey Territ. 12, 1–324 (1879).
- Meisterfeld, R.: Testaceen in Moosen und Waldböden. In: Röttger, R. (Hrsg.): Praktikum der Protozoologie, S. 89–99. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1995.
- Netzel, H.: *Euglypha rotunda* (Testacea) Bewegung und Fortpflanzung. Reihe: Encyklopaedia Cinematographica, Begleitveröffentlichung zum Film E 1642, Göttingen 1971.
- Netzel, H.: Morphogenese des Gehäuses von Euglypha rotunda (Rhizopoda, Testacea). Z. Zellforsch. 135, 63-69 (1972).
- Schönborn, W.: Beschalte Amöben (Testacea). Neue Brehm-Bücherei, Band 357. A. Ziemsen Verlag, Wittenberg Lutherstadt 1966.
- Schwewiakoff, W.: Über die karyokinetische Kernteilung der Euglypha alveolata. Morph. Jahrb. 18, 193–258 (1888).
- Werner, F. C.: Wortelemente lateinisch-griechischer Fachausdrücke in den biologischen Wissenschaften. Suhrkamp Taschenbuch 64, Frankfurt/M. 1997.

Verfasser: Dr. Hans-Jürgen Voß, Am Dornbusch 42, 46244 Bottrop, E-Mail: tichy-voss@t-online.de

Nachricht

Das stärkste Mikroskop der Welt – das Elektronenmikroskop PICO – kommt nach Jülich ins Ernst Ruska-Centrum

Ein Elektronenmikroskop mit der Rekord-Auflösung von 50 Pikometern (1 Pikometer = 10^{-12} Meter) wird von der RWTH Aachen und dem Forschungszentrum Jülich ab 2010 für einen breiten Nutzerkreis bereitgestellt. Das PICO genannte Gerät wird Details sehen, die mit Bruchteilen eines Atomdurchmessers an der absoluten Grenze der Optik liegen. Damit lassen sich Atomstrukturen für Materialien der Energieforschung und der Mikroelektronik genauer untersuchen als dies jemals zuvor möglich war. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft, der Bund und das Land Nordrhein-Westfalen haben für einen Laborneubau und Geräteausstattung rund 15 Millionen Euro bewilligt. Mit dieser Investition halten die Partner ihren Platz an der Weltspitze der ultrahochauflösenden Elektronenmikroskopie. Die RWTH Aachen und das Forschungszentrums Jülich betreiben gemeinsam das Ernst Ruska-Centrum für Mikroskopie und Spektroskopie mit Elektronen, welches gleichzeitig Forschungsplattform und internationales Nutzerzentrum auf dem Gebiet dieser weltweiten Spitzentechnologie ist. Mit PICO verstärkt die RWTH ihren Beitrag zum gemeinsamen Instrumentenpark und stellt das leistungsstärkste Gerät des Ernst Ruska-Centrums. - Ernst Ruska war übrigens der Wegbereiter des Transmissionselektronenmikroskops und erhielt im Jahr 1986 für die Leistung den Nobelpreis in Physik.

Mit der enormen Auflösung des PICO lassen sich nicht nur Einzelatome beobachten. Mittels moderns-

ter Computerverfahren können auch Atomabstände und Atomverschiebungen mit einer bisher nicht gekannten Genauigkeit von etwa einem Pikometer vermessen werden, also weniger als ein Hundertstel eines Atomdurchmessers. Gleichzeitig lassen sich durch spektroskopische Analyse die Natur der untersuchten Atome und ihre chemischen Bindungsverhältnisse aufklären. Die Basis von PICO ist die aberrationskorrigierte Elektronenoptik, welche in den neunziger Jahren unter maßgeblicher Beteiligung von Wissenschaftlern des Forschungszentrums Jülich entwickelt wurde.

Das Forschungszentrum Jülich betreibt interdisziplinäre Spitzenforschung zur Lösung großer gesellschaftlicher Herausforderungen in den Bereichen Gesundheit, Energie und Umwelt sowie Informationstechnologie. Kombiniert mit den beiden Schlüsselkompetenzen Physik und Supercomputing werden in Jülich sowohl langfristige, grundlagenorientierte und fächerübergreifende Beiträge zu Naturwissenschaften und Technik erarbeitet als auch konkrete technologische Anwendungen durchgeführt. Mit rund 4.400 Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern gehört Jülich, Mitglied der Helmholtz-Gemeinschaft, zu den größten Forschungszentren Europas.

Ansprechpartner: Prof. Knut Urban, Tel.: 0 24 61/61 31 53, E-Mail: k.urban@fz-juelich.de, Ernst Ruska-Centrum: http://www.fz-juelich.de/iff/d_erc/

Mikroskopische Salonpräparate – Naturschönes und Kunstschönes auf kleinstem Raum

Matthias Burba

Mikroskopische Salonpräparate waren im 19. Jahrhundert weit verbreitet. Sie wurden in erster Linie um der Ästhetik, der Schönheit willen hergestellt und waren Teil einer umfassenderen Salonkultur. Sie fanden wenig Beachtung bei Kunst und Wissenschaft, sodass Veröffentlichungen über diesen Präparatetyp dünn gesät sind. Die wenigen Präparate aber, welche die Zeiten intakt überdauert haben, faszinieren auch den heutigen Betrachter durch ihre technische und ästhetische Raffinesse.

ie Kultur des bürgerlichen Salons des 19. Jahrhunderts, der für diesen Präparatetyp Namen gebend wurde, ist heute weitgehend unbekannt, so dass eine kurze Einführung zur Orientierung hilfreich ist.

Der bürgerliche Salon des 19. Jahrhunderts

Gegen Ende des 18., vor allem aber im 19. Jahrhundert, der Phase der Entstehung des Bürgertums, waren die Ideen und Lebensideale der höfischen Lebenswelt eine der Inspirationsquellen für die Ausbildung einer bürgerlichen Identität.

Die ursprüngliche Idee des Salons, als Hofhaltung Adeliger, wurde von gebildeten bürgerlichen Frauen (Salonièren) in den großen europäischen Städten aufgegriffen und zu einem Raum weiterentwickelt, in dem eine anregende Geselligkeit kultiviert wurde. Hierzu traf man sich meist wöchentlich bei sparsamer Verköstigung. Ziel der Zusammentreffen war nicht das gelehrte Gespräch, sondern die anspruchsvolle Unterhaltung über Dinge des täglichen Lebens, die Bildung durch Selbstbildung. Der Charakter der Salons, von denen es zum Beispiel im Berlin der Jahrhundertwende mehr als 45 gab, wurde geprägt von den Interessen und der Persönlichkeit der Salonièren.

Sie wurden bei der Ausgestaltung der Zusammenkünfte unterstützt von Habitués, die ihre gesellschaftlichen und beruflichen Beziehungen in den Salon einbrachten. Der Interessenschwerpunkt der Salonièren lag in Berlin auf künstlerischem Gebiet. Es gab aber auch ausgeprägt politisch oder naturwissenschaftlich interessierte Salons (Wilhelmy, 1989). Zu den vielfältigen, hochkultivierten Möglichkeiten für Salonièren, zu unterhalten und den Gesprächen Struktur und Richtung zu geben, gehörte auch der Einsatz von mikroskopischen Salonpräparaten.

Das hierzu erforderliche Mikroskop war schon in den höfischen Salons kein unbekanntes Instrument (Klemm, 1927). So stand schon der Marquise de Pompadur (1721-1764) ein für die damalige Zeit hochentwickeltes Mikroskop für ihren Salon zur Verfügung (de Gramont, 2001). Über die Szenerie in den späteren bürgerlichen Salons berichtet Pelletan (1877) ... es [das Mikroskop] steht nicht allein in den Laboratorien, sondern auch in den Salons. Auf Festen und Soireen findet man oft eingestellte Instrumente auf drehbaren Tischen, ... welche den Augen der Gäste, die durch den Zauber des Binokulares, oder die Magie des polarisierten Lichtes gesteigerten Wunder der mikroskopischen Welt zeigen.

Es bildeten sich im Wesentlichen zwei Typen von Salonmikroskopen heraus (M.J.R.H., 1900), zum einen der eines kleinen Mikroskops, welches zum Betrachten des Präparates herumgereicht werden konnte (Abb. 1 und 2), zum anderen der Typus eines stationären Mikroskops, bei dem eine Vielzahl von Präparaten in einen runden, drehbaren Objekttisch eingelassen war. Aber auch Mikroskope, bei denen drei



Abb. 1: Demonstrations- und Salonmikroskop mit Holzkasten, Firma Wächter. – Abb. 2: Mikroskop aus Abbildung 1 von unten gesehen, mit Lieberkühnreflektor (Fotos: T. Mappes, Karlsruhe).

um einen runden Tisch sitzende Betrachter mit eigenem Einblick Präparate betrachten konnten, kamen zum Einsatz (Abb. 3; Devez, 1999). Johann Gottfried Ehrenberg (Jahn, 2000) und auch Alexander von Humboldt (Kremer, 2002)



Abb. 3: Mikroskop für drei Betrachter. Aus einem historischen Mikroskopiebuch.

präsentierten bei ihren Besuchen in den königlichen Salons in Berlin unterhaltsame Wissenschaft mit Hilfe mikroskopischer Präparate und brachten das zur ihrer Beobachtung erforderliche Mikroskop mit. Alexander von Humboldt war im Übrigen auch einer der zentralen Habitués in den bürgerlichen Salons im Berlin des 19. Jahrhunderts (Wilhelmy, 1989).

Typen von Salonpräparaten

Thematisch und ästhetisch inspiriert von französischen und englischen Präparatoren wie beispielsweise Harold Dalton (1824–1911) erweiterten auch deutsche Hersteller mikroskopischer Präparate gegen Ende des 19. Jahrhunderts ihre Produktpalette um Salonpräparate.

Will man die Vielzahl von Salonpräparaten typisieren, bieten sich zwei Vorgehensweisen an: Man kann als Strukturierungsmerkmal die Art der Herstellung einschließlich der verwendeten Materialien nutzen oder aber versuchen, nach den beabsichtigten Verwendungszwecken (z. B. Ästhetik, Förderung einer Diskussion über politische Themen oder über Bildungsreisen) zu strukturieren. Letzteres setzt allerdings zum Verständnis eine Darstellung der jeweiligen Hintergründe voraus, die den Rahmen dieses Artikels sprengen würde. Deshalb ziehe ich die Typisierung auf der Basis der Herstellungsweise vor.

Als erster Typus ist das Arrangement von natürlichen, mikroskopisch kleinen Objekten wie Diatomeen, Radiolarien und Schmetterlingsschuppen anzusehen (Girodet, 2001a). Man kann noch weiter differenzieren in Präparate, in denen mikroskopische Objekte in der Form von Ornamenten, Blumensträußen oder Buchstabenfolgen angeordnet sind. Die Abbildungen 4 bis 6 zeigen ornamental ausgestaltete Präparate. An diesen lassen sich auch die unterschiedlichen "Handschriften" von Möller mit mathematisch durchkonstruierten, symmetrischen Motiven (Abb. 4 und 5) und von Thum mit seinen eher an Blütenformen erinnernden Arrangements (Abb. 6) sehr gut analysieren. Bei den Möller'schen Präparaten fallen darüber hinaus kleine, (vermutlich) gezielte Symmetriebrechungen auf, zum Beispiel durch die gelegentliche Verwendung ähnlicher, aber nicht identischer Arten. Diese Durchbrechungen sind für den Eindruck lebendiger Schönheit bei





sonst streng symmetrischen Mustern von erheblicher Bedeutung (Lötsch, 2001).

Die Abbildungen 7 und 8 sowie das Titelbild dieses Heftes zeigen Präparate mit Blumensträußen und Vögeln, gefertigt von Harold Dalton und Eduard Thum. Die Motive knüpfen thematisch und ästhetisch an die Malerei des 15. und 16. Jahrhunderts an, in denen Stillleben mit Blumensträußen eine herausragende Rolle spielten. Der Verkaufskatalog von Thum (1889) widmet diesem Präparatetyp eine ausführlichere Beschreibung: Die opak arrangierten Schmetterlingsschuppen bieten durch ihren reichen Farbenwechsel die Möglichkeit, kleine Blumen und Pflanzengruppen daraus nachzubilden; dieselben sind in geschmackvoller Ausführung zu Bouquets, Kränzen und Blumenkörbchen vereinigt. Die Ausschmückung ist noch dadurch gehoben worden, dass ich den Bouquets und Pflanzengruppen Schmetterlinge und Vögel hinzugefügt [habe], und so dem Beschauer auf einem Raume von 1 gcm eine große Überraschung geboten wird.

◄ Abb. 4 und 5: Präparat "Arrangirte Diatomeen" des Präparators J. D. Möller, 1889. – Abb. 6: Salonpräparat, Präparator Thum, um 1890 (Fotos: M. Burba, Hamburg). Neben dem (kostspieligen) Kauf kam für die wachsende Zahl von Liebhabermikroskopikern aber auch die eigene Herstellung von Salonpräparaten in Betracht. Spezielle Anleitungen (Tempere, 1898) setzten sich vertieft mit der Frage auseinander, wie man beispielsweise die unterschiedlichen Anforderungen an Klebegründe und Einschlussmittel beim Arrangement von Diatomeen und Schmetterlingsschuppen in einem Präparat zusammenführen könne. Aktuelle Beschreibungen der Herstellungsmethodik auf der Basis der Technik von A. Elger (Miette, 2000) der von H. Dalton (Museum of Jurassic Technology, 2003) sowie der J. D. Möllers (Burba, 2008) wurden zwischenzeitlich veröffentlicht.

Als zweiter Typus sind Präparate mit mikroskopisch kleinen Fotografien anzusehen (Girodet, 2001b). Die Fotografien mit einer unglaublichen Vielzahl von Motiven wurden auf die Größe von etwa 2 × 2 mm verkleinert, so dass das abgebildete Motiv nur mit Hilfe eines Mikroskops zu erkennen ist. Gerade dieser Typus war für Salonièren von besonderem Interesse, bot er doch die Möglichkeit, Gesprächsinhalte gezielt beeinflussen zu können. Beispielhaft zeigen die Abbildungen 9 und 10 das Hamburger Rathaus und den Dom von Mailand, beide aus der Produktpalette J. D. Möllers, Hamburg.



Abb. 7 und 8: Salonpräparate, Präparator Dalton, um 1890 (Fotos: Museum for Jurassic Technology, Culver City, USA).



Abb. 9 und 10: Auf ca. 2 × 2 Millimeter verkleinerte Fotos aus dem Lieferprogramm von J. D. Möller. – Abb. 9: Dom von Mailand. – Abb. 10: Hamburger Rathaus (Fotos: M. Burba, Hamburg).

Als dritten Typus kann man die Mikrogravuren ansehen (Girodet, 2002). Bei diesen wurden umfangreiche Texte, zum Beispiel aus der Bibel, auf Objektträger oder Metallfolien geschrieben. Zur Reproduktion geeignete Präparate liegen mir hierzu leider nicht vor.

Einen weitergehenden Eindruck über Mikrogravuren, gelegte Präparate und die Salonmikroskopie insgesamt vermittelt ein Film, der auch aus dem Internet heruntergeladen werden kann (Devez, 1999). Die Vielfalt der Präparate aber auch die zur ihrer Betrachtung erforderlichen Einrichtungen machen deutlich, dass sich Salonpräparate in den Salons einer hohen Wertschätzung und regen Nachfrage erfreuten. Im Gegensatz dazu stand die Bewertung in Kunst und Wissenschaft. Die Konzeption, in und mit gelegten Präparaten Schönheit konkret erfahrbar zu machen, lag außerhalb der Leitbilder von Kunst und Wissenschaft am Ende des 19. Jahrhunderts. Schönheit abzubilden war nicht mehr zentrales Ziel von künstlerischen Aktivitäten, im Bereich der Wissenschaften hatte Schönheit seine Wahrheitskraft verloren (Weber, 2008). Der Philosoph Hegel hatte überdies schon 1823 die Schönheit in Naturund Kunstschönes aufgeteilt und postuliert, dass diese nichts miteinander gemein hätten (Hegel, 1965). Die Präparate der Abbildungen 4 bis 6, die (natur-)schöne Diatomeen zu (kunst-)schönen Arrangements zusammenführen, kann man durchaus als Gegenthese hierzu verstehen.

Dank

Mein Dank gilt Dr. Timo Mappes für die Unterstützung bei der Abbildung eines Salonmikroskops; auf seiner Website www.musoptin.com finden sich weitere Abbildungen und Beschreibungen alter Mikroskope. Mein Dank gilt auch Frau Dr. Niesler, Botanisches Institut der Universität Hamburg, sowie der Firma Möller Wedel GmbH für die Überlassung von Salonpräparaten, André Advocat und Gérard Weiss für die Unterstützung bei der Literaturbeschaffung sowie dem Museum for Jurassic Technology für die Abdruckerlaubnis von Bildern der Präparate Harold Daltons.

Literaturhinweise

- Burba, M.: Die größte Typenplatte der Welt und ihre Herstellung. Mikrokosmos 97, 321–327 (2008).
- de Gramont, A.: Le microscope de la Marquise de Pompadour (1721–1764). J. Club Franc. Microsc. 7, 6–11 (2001).
- Devez, A.: Diatomées et papillons. Microscopie artistique au 19e siècle. Verfügbar unter http://www.canalu.tv/canalu/producteurs/science_ en_cours/dossier_programmes/l_imagerie_scientifique/sciences_humaines_et_histoire_des_sciences/diatomees_et_papillons_microscopie_artistique_au_19e_siecle_1999 (Stand 22. 8. 2008).
- Fields, K., Kontrovitz, M.: An invisible art blazes into life under microscope. Smithsonian 11, 109–113 (1980).
- Girodet, P.: Les artistes de l'extrême. 1. Tableautins. J. Club Franc. Microsc. 5, 14–20 (2001a).
- Girodet, P.: Les artistes de l'extrême. 2. Microfotos. J. Club Franc. Microsc. 6, 12–15 (2001b).
- Girodet, P.: Les artistes de l'extrême. 3. Microgravures. J. Club Franc. Microsc. 7, 14–20 (2002).

- Hegel, G. W. F.: Vorlesungen über die Ästhetik. Aufbau-Verlag, Berlin 1965.
- Jahn, R., Landsberg, H.: Christian Gottfried Ehrenberg, Entdeckung der Biodiversität im Mikro-Kosmos. In: Bredekamp, H., Brüning, J., Weber, C. (Hrsg.): Theater der Natur und Kunst / Theatrum naturae et artis. Essays, 219–225 (2000).
- Klemm, F.: Martin Frobénius Ledermüllér. Aus der Zeit der Salon-Mikroskopie des Rokoko. Optische Rundschau 45–48, Verlag Berthold Köhn & Co., Schweidnitz 1927.
- Kremer, B. P.: Das große Kosmos-Buch der Mikroskopie. Franckh-Kosmos-Verlags GmbH, Stuttgart 2002.
- Lötsch, B.: Biologie der Schönheit Natur der Ästhetik – Ästhetik der Natur? Eröffnungsvortrag zum 3. Warenlehre-Symposion, 10. Mai 2001, http://members.vienna.at/bioware/bloetsch.htm (Stand 22. 8. 2008).
- Miette, A.: Les préparations artistiques, Microgazette, J. Club Franc. Microsc. 4, 14–17 (2000).
- M.J.R.H (Pseudonym, der vollständige Name hat sich nicht aufklären lassen): Mikroskopische Salonpräparate. Erweiterter Sonderdruck aus Natur und Offenbarung 46, Münster Aschendorff, 1900.
- Museum of Jurassic Technology: The micromosaics of Harold Dalton, 2003. Selbstverlag, Culver City 2008.

- Pelletan, J.: Die Mikroskopie des Auslandes. Zeitschrift für Mikroskopie, Organ der Gesellschaft für Mikroskopie 3, 65–73 (1877).
- Tempere, M. J.: Préparation microscopiques artistiques. Le micrographe préparateur. Journal de Micrographie Générale de Technique Micrographique et Revue des Journaux Francais & Étrangers 6, 67-72, 96, 106-109 (1898).
- Thum, E.: Katalog IV. Eduard Thum's Institut für Mikroskopie, Leipzig, Special-Preisverzeichnis der Präparate, Test- und Typenplatten von Diatomaceen. Nebst Preisverzeichnis der Instrumente, Utensilien und Materialien zum Sammeln, Cultivieren und Präparieren von Diatomeen etc. Material, sowie aller zur Anfertigung von Präparaten nötigen Artikel, Leipzig, März 1889
- Weber, A.: Der Géist der Schönheit. Mare 68, 12–29 (2008).
- Wilhelmy, P.: Der Berliner Salon im 19. Jahrhundert (1780–1914). Veröffentlichungen der historischen Kommission Berlin, Band 73, Walter de Gruyter Berlin/New York 1989.

Verfasser: Matthias Burba, Friedensallee 268, 22763 Hamburg, E-Mail: MatthiasBurba@hotmail.com

Bughbesprechung

Klein, E.: Bilinguales Wörterbuch Biologie – Teil I: Deutsch - Englisch, Teil II: Englisch - Deutsch (mit phonetischer Transkription), Teil III: Listenwörter, 2. Auflage. Verband Biologie, Biowissenschaften und Biomedizin in Deutschland (VBIO e.V.), Hannover 2008, 1484 Seiten, gebunden, € 36,90, ISBN 978-3-9810923-1-8.

Nachdem bereits im Jahr 2006 ein Nachdruck des 2005 in erster Auflage erschienenen, im deutschen Sprachraum einzigartigen Wörterbuchs notwendig war, verwundert es nicht, dass 2008 eine zweite, erweiterte Auflage erschienen ist. Das spricht für die Qualität und Akzeptanz dieses Buchs. Vom Prinzip her ist das Konzept beibehalten worden: Teil I Deutsch Englisch, Teil II Eng-



lisch Deutsch (mit phonetischer Transkription). Das Buch wurde erwartungsgemäß aktualisiert und hier und da revidiert. Neu aufgenommen wurde ein Teil III Listenwörter, der das Suchen nach deutschen Fachbegriffen in Teil I, die keinen eigenen Eintrag erhalten haben, erleichtert.

In Zeiten der Globalisierung, in der Lernende, Lehrende wie Forschende schon lange nicht mehr umhin kommen, sich in der weltweiten Wissenschaftssprache Englisch zu verständigen, ist dieses Buch deshalb besonders willkommen, weil es nicht nur eine Wortfür-Wort Übersetzungshilfe darstellt, sondern im deutschen Teil nach Art eines Lexikons ausführliche Erläuterungen der jeweiligen Begriffe bietet, die anschließend jeweils auch in englischer Sprache erfolgen. Das erspart sicherlich in vielen Fällen die Zuhilfenahme von Fachlexika. Bei dem moderaten Preis und der herausragenden Ausstattung des Buches kann man es uneingeschränkt jeder Zielgruppe empfehlen, nämlich Schülern, Studierenden, Lehrenden und Forschenden.

Thomas Groß, Heidelberg

Mikroskopische Entdeckungsreise im Supermarkt

Rudolf Drews

Sei es, dass die Natur sich zur Winterruhe begeben hat, sei es, dass der Städter wenige zu mikroskopischen Beobachtungen geeignete Objekte vorfindet – der Supermarkt löst das Problem zu jeder Jahreszeit mit dem reichen Angebot an Früchten, Gemüse und Zierpflanzen.

ine kleine Auswahl soll Anregung zu weiterem Umherstöbern geben. Im Folgenden werden mikroskopische Besonderheiten verschiedener Früchte und von Fleisch vorgestellt.

Avocado

Die Heimat der Avocado ist Mexiko. Schon die Azteken verwendeten ihr Öl. In 100 g Fruchtfleisch sind 14,7 g Öl enthalten. Die Avocadofrucht war eine beliebte Nahrung der Riesenfaultiere, die erst zum Ende des Pleistozäns ausgestorben sind und somit Mitbewohner der ersten Menschen in Amerika waren. Heute wird der Avocadobaum weltweit in den Tropen und Subtropen angebaut. Er gehört in die Familie der Lorbeergewächse (Lauraceen) und seine Frucht ist eine Beere.

Wir entnehmen mit der Lanzettnadel eine kleine Spitze weichen Fruchtfleischs und zerquetschen dieses mit einem Tröpfchen Wasser auf dem Objektträger. Nach Zugabe von einem kleinen Tropfen Sudan-III-Lösung wird mit dem Deckglas abgedeckt. Der Blick ins Mikroskop zeigt viele orangefarbene Kügelchen: Durch Sudan-III angefärbtes Fett (Abb. 1). Vielleicht entdecken wir auch ungefärbte Tropfen. Diese sind dann noch von der Zellwand umgeben, welche der Farbstoff nicht durchdringt.

Birne

Birnbaumholz ist sehr hart. Die dafür verantwortlichen Bestandteile finden wir auch in der Frucht wieder, nämlich die Steinzellen (Sklereiden). Diese Zellen sind besonders unter der Außenhaut vorhanden und um das Kernge-

häuse angereichert. Wir spüren Steinzellenaggregate als körnigen Bestandteil beim Verzehr einer Birne. Auch die verwandte Ouitte sowie die Frucht der tropischen Guave (Myrthengewächse) enthalten Steinzellen. Steinzellen bestehen nicht etwa aus Gestein, sondern enthalten Lignin und Zellulose wie jede andere verholzte Zellwand auch. Von der Innenseite der Birnenhaut schaben wir ein wenig ab und verfahren wie bei der Avocado. Farbstoff wird nicht zugegeben. Durch leichtes Klopfen auf das Deckglas wird für die nötige Ausbreitung der Probe und teilweise Zerlegung der Steinzellenaggregate in Einzelzellen gesorgt. Bei stärkerer Vergrößerung erkennt man, dass die Steinzellen nicht etwa tote Gebilde sind, sondern dass deren klein gewordener Innenraum (Zelllumen) durch teils verzweigte Tüpfelkanäle mit benachbarten Steinzellen und umgebendem Grundgewebe (Parenchymzellen) in Verbindung steht (Abb. 2).

Banane

Auch die Bananenfrucht ist – botanisch gesehen – eine Beere. Die Pflanze ist vorwiegend tropisch, jedoch gibt es auch Formen, die niedrigere Temperaturen vertragen, aber keinen Frost. Ihre nächste einheimische Verwandte ist die Canna, eine beliebte Zierpflanze mit gelben oder roten Blüten. In den Tropen sind nicht süße Bananen als so genannte Kochbananen beliebt. Auch unreife Bananen schmecken nicht süß.

Einer möglichst unreifen Banane entnehmen wir etwas Fruchtfleisch und zerdrücken es mit einem Tropfen Wasser auf dem Objektträger. Dann geben wir ein Tröpfchen Lugol'sche Lösung hinzu und legen das Deckglas auf. Wir





erkennen im Mikroskop Partien lockerer, transparenter Zellverbände, die voll von unregelmäßig ovalen, blau bis blauvioletten Körpern sind. Dies sind durch das Reagenz anfärbte Stärkekörner (Abb. 3). Ein ähnliches Bild zeigt das Gewebe einer Kartoffel. Im Stärkekorn der Banane werden die Stärkemoleküle in Schichten um ein Zentrum gruppiert (Abb. 4). Die Anordnung der Stärke-Makromoleküle ist derart, dass im polarisierten Licht ein Kreuz erkennbar wird. Durch den Reifungsprozess entsteht bei der Banane aus der Stärke Zucker. Für die folgenden Objekte und deren Präparation benötigen wir eine Rasierklinge und eine spitze Pinzette.

Tomate, grüne und rote Paprika

Tomaten und Paprika gehören ebenso wie die Kartoffel in die Familie der Nachtschattengewächse; ihre Frucht ist ebenfalls eine Beere. Mit der scharfen Rasierklinge fertigen wir jeweils einen Flächenschnitt dicht unter der Epidermis und streifen ihn umgekehrt – also mit dem Gewebeinneren nach oben – mit der Nadel oder dem Pinsel in einen Wassertropfen auf dem Objektträger ab. Wie üblich, wird ein Deckglas aufgelegt. Es ist unbedingt darauf zu achten, dass das Deckglas nicht schwimmt. Überschüssiges Wasser wird mit einem Filterpapierstreifen aufgesaugt. Unter dem Mikroskop erkennen wir die aus dicken Zellwänden bestehende Epidermis der Tomate (Abb. 5). Sie ermöglicht, dass Tomaten während des Transportes stabil bleiben und auch bei längerer Lagerung nicht so leicht verfaulen. Ein ähnliches Bild ergibt sich bei der Paprikaepidermis, nur sind die Zellwände hier etwas dünner. Ein Flächenschnitt des Gewebes unter der Epidermis erklärt die Farbe der Paprika-Frucht: Grün resultiert aus der Anhäufung vieler Chloroplasten in den Zellen (Abb. 6), Rot beruht auf der Anhäufung so genannter Chromoplasten (Abb. 7), Plastiden mit einem anderen Farbstoff als Chlorophyll (hier Karotin). Die Farbe von Karotten und Tomaten resultiert ebenfalls von Chromoplasten mit Karotin. Die Chromoplasten der gelben Paprika enthalten Xanthophyll.

Rote Küchenzwiebel

Zwiebeln sind Dauer- oder Vermehrungsstadien in Form gestauchter beblätterter Sprosse. Die äußeren Blätter (Zwiebelschalen) trocknen ab und bilden eine schützende Schicht um die saftreichen, lebenden inneren Zwiebelschuppen.

Mit der Rasierklinge oder mit dem Skalpell ritzen wir eine wenige Quadratmillimeter große Fläche in die innere Epidermis (Zwiebelschuppenhäutchen) einer frischen Zwiebelschale und ziehen sie von dem darunter liegenden Gewebe ab. Mikroskopiert wird wieder mit wenig Wasser und einem gut anliegenden Deckglas. Wir erkennen in den länglichen Zellen auffällige runde Körper, die Zellkerne. Bei schiefer Beleuchtung, geeigneter Abblendung oder mit besonderen Kontrastverfahren (Phasenkontrast, Differentieller Interferenzkontrast) sieht man das Zytoplasma um den Zellkern herum, an der Zellinnenwand oder als Fäden längs und quer durch das Zelllumen ziehend (Abb. 8). Kleine Körnchen im Plasma – Zellorganelle oder Stoffwechselprodukte – zeigen an, dass sich das Plasma in strömender Bewegung befindet, ein Merkmal lebender Substanz.

Ein hauchdünner Flächenschnitt der Zwiebelschalen-Außenepidermis zeigt mit einem violetten Farbstoff (Anthozyan) angefüllte Zellen (Abb. 9). Zugunsten der Farbstoffvakuolen ist hier nur sehr wenig Zytoplasma vorhanden. Anthozyane geben auch vielen Blütenblättern ihre Farbe. Mikroskopiert man ein kleines Stückchen hinreichend dünner und transparenter, getrockneter Zwiebelschale (trocken, in Wasser oder in Glyzerin), wird man durch ein hübsches Bild heller Calciumoxalat-Kristalle vor einem leuchtend roten Hintergrund belohnt (Abb. 10). Manche sind Doppelkristalle in Kreuzform (Abb. 10, Bildeinsatz). Die Kristalle entstehen durch Auskristallisieren von ursprünglich in gelöster Form vorliegenden Ausgangssubstanzen (Oxalsäure, Calciumionen) während des Trocknungsvorganges, der ja einer Konzentrationserhöhung gleichkommt. Calciumoxalat-Kristalle kommen auch als Drusen oder Raphi-



Abb. 5: Epidermis der Tomatenfrucht. – Abb. 6: Gewebe der grünen Paprikafrucht mit Chloroplasten. – Abb. 7: Gewebe der roten Paprikafrucht; Chromoplasten.



Abb. 8: Epidermis der roten Zwiebel (Zwiebelschalen-Innenhäutchen). Kern und Zytoplasma; Differentieller Interferenzkontrast. – Abb. 9: Äußere Epidermis der roten Zwiebel. – Abb. 10: Trockene Schale der roten Zwiebel mit Calciumoxalat-Kristallen.

denbündel in den lebenden Zellen diverser Pflanzen vor.

Ananas

Die Ananas ist ein Blüten-(Frucht-)stand mit saftig gewordener Sprossachse. Diese trägt an der Spitze einen gewöhnlichen Blätterschopf. Die Ananaspflanze gehört in die Familie der Bromeliengewächse, zu denen auch die Baum bewohnenden Tillandsien gehören. Eine Eigenart der Bromelien ist das Vorkommen schuppenförmiger Trichome – Bildungen der Epidemis – welche sowohl die Blattober- als auch die -unterseite mehr oder weniger dicht bedecken. Bei den Boden bewohnenden Bromelien dienen sie dem Verdunstungsschutz, die Baum bewohnenden Formen schützen sich in trockenen Zeiten damit ebenso. In Nebelwäldern oder während der Regenperioden dienen die Schuppen als Wasserfänger. An der Basis dieser Schuppen kann das Wasser über spezielle lebende Zellen direkt in das Blatt aufgenommen werden.

Auf die Oberfläche eines Ananasblattes kleben wir einen Tesafilmstreifen und ziehen ihn mit den anhaftenden Schuppen ab. Mit der Schere schneiden wir ein Stückchen zu und mikroskopieren im nassen oder trockenen Zustand. Wir sehen die aus einer einschichtigen Zell-



Abb. 11: Schuppentrichome des Ananasblattes. – Abb. 12: Quergestreifter Muskel, angefärbt mit Methylenblau.

platte aufgebauten Schuppen in ihrer ursprünglichen Anordnung auf der Blattoberfläche (Abb. 11).

Muskelfaser

Zum Schluss wollen wir uns noch ein Objekt aus der Tierwelt ansehen, die Muskelfaser. Von einem Stückchen Muskelfleisch, frisch, tiefgefroren oder auch gepökelt, wird ein wenige Kubikmillimeter großes Teilchen entnommen und mit zwei Nadeln fein zerfasert. Nach Zugabe von einem Tropfen Wasser wird das Objekt unter dem Deckglas leicht gequetscht. Mit einem Filterpapierstreifen wird nun etwas verdünnte Methylenblaulösung unter dem Deckglas hindurchgesaugt. Die Anfärbung verdeutlicht den Faserbau (Abb. 12). Die Zellkerne erscheinen als kleine, längliche Körper innerhalb der Faser. Die Zellbegrenzungen sind nicht zu sehen. Die Fibrillen, welche die Faser aufbauen, besitzen jeweils die gleiche Längsstruktur wie ihre Nachbarn, so dass in der Faser die Struktur aus abwechselnd hellen und dunklen Querbändern – die Querstreifung – sichtbar wird. Für die Kontraktion verantwortlich sind die Proteine Myosin (dunkles Band) und Aktin (helles Band).

Weitere lohnenswerte Objekte, welche man im Supermarkt finden kann, sind beispielsweise Hefe, Schimmelkäse, Orangenschalen und Nüsse. Die unten aufgeführten Bücher geben umfangreiche Hilfestellung bei der mikroskopischen Präparation.

Literaturhinweise

- Kremer, B. P.: Das Große Kosmos-Buch der Mikroskopie. Franckh-Kosmos-Verlags-GmbH, Stuttgart 2002.
- Kremer, B. P.: Einmaleins der Mikroskopie. Franckh-Kosmos-Verlags-GmbH, Stuttgart 2005.

Verfasser: Rudolf Drews, Straße 366, Nr. 3, 13503 Berlin



81

Beleuchtungssockel für Stereomikroskope

Thomas Fromm

Bei Stereomikroskopen betrachtet man ein Objekt binokular durch zwei Objektive, deren Strahlengänge jeweils in einem Winkel von circa 12° zur optischen Achse geneigt sind, und die sich daher in einem Punkt schneiden, bei dem das Objekt stereoskopisch fokussiert betrachtet werden kann.

bjekte werden für die Betrachtung durch ein Stereomikroskop in der Regel auf eine in den Beleuchtungssockel (Abb. 1) eingesetzte Klarglasarbeitsplatte positioniert, oder – bei Objekten in Wasser – in einer Glasschale (z. B. Petrischale) betrachtet, welche ihrerseits wieder auf der Klarglasarbeitsplatte positioniert wird.

Vor allem kleinere biologische Objekte, welche transparent oder opak sind, werden dabei häufig bei Dunkelfeldbeleuchtung betrachtet, welche durch spezielle Beleuchtungssockel (Abb. 1) erzeugt werden kann. Hierzu kann man eine Durchlichtdunkelfeldbeleuchtung und/oder eine



Abb. 1: Konstruktion eines Beleuchtungssockels für spiegelfreie Betrachtung und Fotografie am Stereomikroskop. 0 Petrischale, 1 Klarglasarbeitsplatte, 2 Tageslichtfilter, 3 wasserabweisende Klarglasplatte, 4 Zylinderspiegel für eine Dunkelfelddarstellung, 5 zentrale Lichtsperrplatte, 6 Wärmeschutzfilter, 7 Glühlampe. Die planparallelen Gläser sind entspiegelt.

Ringleuchte benutzen, welche über dem Objekt am Tubus, etwa in Höhe der Objektive, installiert wird und das Objekt von oben gleichmäßig von allen Seiten anstrahlt (Auflichtdunkelfeldbeleuchtung).

Zur Veranschaulichung des Effektes mache man folgenden Versuch: Man stellt einen Gegenstand auf eine nicht entspiegelte Glasplatte möglichst vor dunklem Hintergrund und schaut genau von oben auf den Gegenstande. Man sieht nur die Oberseite des Gegenstandes. Nun wiederholt man den Versuch, schaut aber schräg von oben auf den Gegenstand beziehungsweise die Glasplatte. Das Spiegelbild des Gegenstandes ist nun im Glas sichtbar.

Fotografie

Besonders problematisch ist das Auftreten dieser Spiegelung beim Fotografieren der Objekte. Beim Fotografieren wird über einen Strahlenteiler das Licht des einen Strahlenganges über einen Fototubus in die Kamera gelenkt, wodurch eben aber auch die Spiegelung des Objektes im Glas mit abgebildet wird. Mit anderen Worten: Die Herstellung einwandfreier fotografischer Dunkelfeldaufnahmen ist so mit Stereomikroskopen nicht möglich, da unter diesen Bedingungen das neben dem Objekt liegende unscharfe Spiegelbild ebenfalls mit abgebildet wird.

Daher werden für die Herstellung von Fotos in diesem Vergrößerungsbereich und bei Dunkelfeldbeleuchtung Fotomakroskope verwendet, bei denen man das Objekt genau senkrecht von oben durch nur einen Strahlengang und ein Objektiv betrachtet und fotografiert. Das Objekt wird zwar auch im Glas gespiegelt, das Spiegelbild ist jedoch nicht sichtbar, da es von dem eigentlichen Objekt verdeckt wird. Fotomakroskope sind jedoch im Anschaffungspreis sehr viel teurer als Stereomikroskope und sie haben auch oft den Nachteil, dass der Arbeitsabstand, also die Distanz zwischen Objektiv und Objekt, oft sehr klein ist. Dadurch ist ein Manipulieren der Objekte vielfach nicht möglich. Letzteres trifft vor allem auf Fotomakroskope zu, die mit einem Balgengerät und auswechselbaren Objektivköpfen mit feststehenden Brennweiten arbeiten, wodurch wiederum der Bedienungskomfort leidet, da ein Zoomen über einen relativ großen Vergrößerungsbereich dann nicht möglich ist.

Spezieller Beleuchtungssockel

Das einwandfreie fotografische Abbilden von Objekten bei Dunkelfeldbeleuchtung durch Stereomikroskope ist jedoch durch eine einfache und billige Veränderung des Beleuchtungssockels zu erzielen. Dazu ersetzt man sämtliche in Frage kommenden, planparallelen Gläser, die zwischen den Objektiven des Mikroskoptubus und der Lichtsperrplatte des Beleuchtungssockels liegen, durch Gläser, welche beidseitig durch eine Breitbandentspiegelung für Wellenlängen des sichtbaren Bereichs entspiegelt sind. Die Hersteller bieten die Geräte nicht mit entspiegelten Gläsern an. Lediglich die Beleuchtungssockel der Firma Olympus enthalten eine mit einem Schraubgewinde versehene, eingefasste, wasserabweisende Glasplatte, welche beidseitig mit einer Breitbandentspiegelung versehen ist und die Spiegelung der Lichtsperrplatte im Glas sowie ein Hindurchtreten von Flüssigkeit in den Beleuchtungssockel verhindern soll. Diese Platte hat jedoch keinen Einfluss auf die Beseitigung des Effektes, da sie eine andere Funktion erfüllen soll und viel zu tief installiert ist, wodurch eine mögliche Spiegelung nicht im Blickfeld liegt.

Es wurde deswegen ein Beleuchtungssockel für Stereomikroskope entworfen (Abb. 1), welcher ein Durchlichtdunkelfeld erzeugen kann, und bei dem sämtliche in Frage kommenden planparallelen Gläser, die zwischen Mikroskoptubus und Lichtsperrplatte des Beleuchtungssockels liegen, beidseitig mit einer Breitbandentspiegelung versehen sind. Der Sockel kann auch für die Betrachtung von Objekten im Auflichtdunkelfeld genutzt werden.

Verfasser: Dipl. Biol. Thomas Fromm, Carstennstraße 29a, 12205 Berlin, E-Mail: Micrasterias@web.de



MIKROKOSMOS

Kurze Mitteilung

Lichtfluss in Blättern

Die Lichtverteilung im Innern von Laubblättern ist von großer Bedeutung für die Effizienz der Photosynthese. Querschnitte durch verschiedene Blatttypen (Abb. 1) lassen erkennen, wie unterschiedlich die geometrischen Verhältnisse der inneren Anatomie der Blätter sind. Der Einfluss der inneren Blattarchitektur wurde mit Hilfe gerichteter Beleuchtung an



Abb. 1: Schematische Darstellung der verschiedenen Blatttypen, Blattquerschnitte. a Blatt von *Rhododendron catawbiense*; laminarer Blatttyp. b Nadel von *Picea rubens*; ohne Palisadenschicht. c Primärnadel von *Abies fraseri*; mit einfacher Palisadenschicht. d Keimblatt von *Abies fraseri*; mit einfacher Palisadenschicht. P Palisaden-Parenchym, S Schwamparenchym, U undifferenziertes Mesophyll (aus Johnson et al., 2005).

Blattquerschnitten (Abb. 2) untersucht, wobei man die Chlorophyll-Fluoreszenz nach der Beleuchtung in verschiedenen Richtungen (adaxial = auf die Oberfläche des Blattes; abaxial = auf die Unterseite des Blattes) gemessen hat. Die Lichtabsorption und der Chlorophyllgehalt sind direkt proportional der Fluoreszenz. Zur Messung wurde das Blatt zwischen zwei Glashalter eingespannt (Abb. 3), von der Seite beleuchtet und die austretende Fluoreszenz an der Schnittfläche detektiert.

Die wichtigsten Ergebnisse der Untersuchung sind: In beiden Koniferen-Nadeln (Abb. 1b und c) drang bei adaxialer Beleuchtung das Licht wesentlich tiefer in das Blatt ein als bei abaxialer Beleuchtung. Die Fluoreszenz war im Mesophyll bei adaxialer Beleuchtung gleichmä-



Abb. 2: Die Orientierung des Blattes zur Messung der Fluoreszenz als Maß für die Lichtabsorption im Innern des Blattes. Das in den Blatthalter (Abb. 3) eingespannte Blatt wird auf den Objekttisch des Umkehrmikroskops gelegt und kann in einer der vier Richtungen (adaxial, abaxial, Schnittfläche oder im Auflicht) beleuchtet werden. Das Bild der Chlorophyll-Fluoreszenz, die an der Schnittfläche des Mesophylls austritt, wird mit einer gekühlten CCD-Kamera (Belichtungszeit 10–500 ms) aufgefangen (aus Vogelmann und Evans, 2002).



Abb. 3: Diagramm des Blatthalters. Das Blatt wird zwischen zwei Glasplatten geklemmt, an beiden Seiten durch Glasplättchen gehalten, um die Reflektion an der Grenzfläche Blatt/Glas zu verhindern. Das so vorbereitete Präparat wird auf den Objekttisch eines Umkehrmikroskops gelegt und mit dem Erregerlicht von rechts bestrahlt. Die austretende Fluoreszenz des Chlorophylls wird an der freien Schnittfläche (nach unten) mit einer gekühlten CCD-Kamera aufgefangen (aus Vogelmann und Han, 2000).

ßiger verteilt in Blättern mit Palisadenzellschicht als in Nadeln (zylindrisch) ohne Palisaden. Blaues Licht dringt tiefer ein als rotes oder grünes Licht. In beleuchteten laminaren Blättern von *Rhododendron* (Abb. 1a) mit 2–3 Palisadenparenchym-Schichten, nahm das rote und blaue Licht im Palisadenmesophyll rasch ab, während die durch grünes Licht induzierte Fluoreszenz hoch blieb und bis zum Schwammparenchym durchdrang. Bei abaxialer Beleuchtung war die höchste Absorption von grünem, rotem und blauem Licht im Schwammparenchym und nahm, von der beleuchteten Schnittfläche aus gesehen, nach innen zu fast linear ab. In allen untersuchten Arten und Blatttypen drang das grüne Licht tiefer in das Blatt ein als das rote oder blaue.

Die Autoren deuten ihre Befunde folgendermaßen: Die Konzentration des Chlorophylls in den abaxialen Teilen des Blattes mit Palisadenparenchym ist geringer, ist aber in Blättern ohne Palisadenparenchym gleichmäßiger verteilt. Die Funktion der Palisadenzellen ist nicht nur durch die geringere Anzahl Chloroplasten bedingt. Das tiefere Eindringen von Licht ins Mesophyll bei abaxialer Beleuchtung suggeriert, dass strukturelle Faktoren eine Rolle spielen. Der Besitz von Nadeln bei den Koniferen könnte dann phylogenetisch gebunden sein an die mehr der Sonne ausgesetzten und trockeneren Standorte der Nadelbäume im Vergleich mit Baumarten mit laminaren Laubblättern.

Literaturhinweise

- Johnson, D. M., Smith, W. K., Vogelmann, T. C., Brodersen, C. R.: Leaf architecture and direction of incident light influence mesophyll fluorescence profiles. Am. J. Bot. 92, 1425–1431 (2005).
- b) Holden Hght Hindenker Heisophyl Hadroschere profiles. Am. J. Bot. 92, 1425–1431 (2005).
 Vogelmann, T. C., Han, T.: Measurement of gradients of absorbed light in spinach leaves from chlorophyll fluorescence profiles. Plant, Cell Environ. 23, 1303–1311 (2000).
- Vogelmann, T. C., Evans, J. R.: Profiles of light absorption and chlorophyll within spinach leaves from chlorophyll fluorescence. Plant, Cell Environ. 25, 1313–1323 (2002).

H. F. Linskens, Nijmegen

Nachricht

BMG-Praxiswochenende: Digitale Mikrofotografie

Die Mikroskopische Gesellschaft Berlin (BMG) veranstaltete vom 9. bis 11. Januar dieses Jahres ein Praxiswochenende zum Thema *Digitale Mikrofotografie*. Neben der Vermittlung von Grundlagen sollte vor allem die Praxis im Vordergrund stehen. Soweit wie möglich, brachten die Teilnehmer dieses Workshops ihr Equipment mit, um die erworbenen Kenntnisse praxisnahe mit der eigenen Ausrüstung umsetzen zu können.

Am Freitagabend wurde durch einen Vortrag von Sascha Buchczik *Digitale Mikrofotografie – Eine kleine Einführung* in die Thematik eingeleitet. Ein Video von Martin Kreutz, Konstanz, führte uns zum Abschluss eindrücklich vor, welche Möglichkeiten



Abb. 1: Arbeitsplatz für digitale Mikrofotografie. Der Rechner steht etwas im Hintergrund (Fotos: G. Zahrt, Berlin).

die digitale Mikrofotografie in sich birgt, wenn man alle Randbedingungen optimiert.

Danach wurde die für die Arbeit an den Folgetagen notwendige Software zur Bilderfassung und -bearbeitung auf den mitgebrachten Rechnern installiert. Es standen Demo-Versionen professioneller Programme zur Verfügung.

Am Sonnabend früh ging es ans Fotografieren. Ein weites Spektrum technischer Möglichkeiten wurde dazu aufgeboten (Abb. 1). Von der Freihandfotografie mit einer digitalen Style-Kamera über Okular-Adaptionen bis hin zur Anpassung digitaler Spiegelreflexkameras mit und ohne Zwischenoptik an einen Trino-Tubus waren alle Möglichkeiten vertreten.

Unsere Experten – die BMG hat einige davon – waren dann auch sehr behilflich, für die jeweilige Technik die optimalen Einstellungen zu erreichen. Fragen der Belichtungszeiten und erschütterungsfreie Auslösung sowie das Problem des richtigen Weißabgleichs kamen zur Sprache und wurden lebhaft diskutiert. Dauerpräparate und Material für Frischpräparate standen als Bildquellen reichlich zur Verfügung.

Nach dem wir uns beim "Italiener nebenan" gestärkt hatten, ging es dann am Nachmittag an die Demonstration der gemachten Aufnahmen. Sascha Buchczik sammelte die Bilder mit einem USB-Stick ein, um dann über einen Beamer allen die Betrachtung zu ermöglichen. Hinweise auf mögliche Fehlerquellen bei den erzielten Aufnahmen waren hilfreich für die weitere Verbesserung der eigenen Technik.

Es folgte die Demonstration der ersten Schritte zur Bildbearbeitung, wie Import von RAW-Daten, Tonwertanpassung, Veränderung der Gradationskurve



Abb. 2: Begutachtung des Ergebnis digitaler Bildbearbeitung.

und Einsatz von Filtern. Jeder Teilnehmer konnte im Anschluss an die Demonstration eines Teilschrittes diesen sofort auf seinem Rechner mit den eigenen Aufnahmen nachvollziehen. Beim Einsatz der hoch komplexen Software waren in vielen Fällen Hilfestellungen der Experten notwendig, um zu den demonstrierten Ergebnissen zu kommen. Auch die Nutzung von Werkzeugen zur Bildmanipulation wie beispielsweise Freistellungen von Bilddetails oder Stempelwerkzeuge konnte nach Demonstration der notwendigen Schritte an den eigenen Bildern geübt werden.

Am Sonntag dann drangen wir etwas in die Tiefen der Bildverarbeitung ein. Nach dem Aufzeigen weiterer Bearbeitungswerkzeuge – beispielsweise Veränderung der Helligkeit und Farbe sowie Management von Schatten und Lichtern – ging es folgend an das Finish der Bilder (Abb. 2). Diese mussten beschriftet, mit Hinweispfeilen zur Erläuterung von Details versehen und – wichtig für die Dokumentation – mit Maßstabbalken komplettiert werden. Dies ist mit den Mitteln der Bildverarbeitung über Fotos von Objektmikrometern bei feststehenden optischen Einstellungen relativ einfach möglich.

Die Umwege, die beim Einsatz von digitalen Kompaktkameras mit Zoom-Funktion zu gehen sind, konnten aus Zeitmangel nicht aufgezeigt werden. Auch das Stacken, also die Verbindung mehrerer Schärfeebenen aus getrennt aufgenommenen Bildern, musste auf einen (hoffentlich bald stattfindenden) Folgekurs verschoben werden.

Fazit: Es war ein sehr gelungener Workshop, der allen Teilnehmern wichtige Kenntnis der Mikrofotografie vermitteln konnte. Und nicht zuletzt: Ein herzliches *Danke* ist von den Teilnehmern an Sascha Buchczik zu richten, der diese Veranstaltung im Vorfeld hervorragend geplant und schließlich dann auch sehr professionell geleitet hat.

Klaus-Dieter Nolte, Berlin

Mikroskopie reliktischer Granate in metamorphen Gesteinen der Zentralalpen Österreichs

Robert Sturm

Granat gilt als wichtiges gesteinsbildendes Mineral, dessen Kristallisation vorzugsweise unter mittel- bis hochgradigen Metamorphosebedingungen erfolgt. In den tektonometamorphen Einheiten der österreichischen Zentralalpen zählt die Mineralphase zu den Hauptbestandteilen zahlreicher Gesteinstypen, wobei den so genannten Grüngesteinen eine besondere Rolle hinsichtlich ihres Gehaltes an Granatkristallen unterschiedlicher Größe zuteil wird. Die Granate sind hier nämlich hauptsächlich einem älteren, hochgradigen (eklogitischen) Metamorphoseereignis zuzuordnen. Nach Durchlauf unterschiedlicher retrograder Gesteinsumwandlungsprozesse wurden sie ob ihrer erhöhten chemischen und mechanischen Resistenz in neue Mineralverbände integriert, wo sie als grobkörnige Klasten einer zumeist feinkörnigen Matrix gegenüberstehen. Im folgenden Beitrag sollen derartige reliktische Granate mikroskopisch dokumentiert werden. Zudem soll der Wert dieser Mineralphasen zur Interpretation großtektonischer Ereignisse diskutiert werden.

Wielen Menschen sind die Granatgruppe und insbesondere der dunkelrot gefärbte Almandin wegen seiner häufigen Verwendung als Schmuckstein (Karfunkelstein) ein Begriff. In den Erdwissenschaften ist es jedoch weniger die Eigenschaft des Granats als Dekorstein, welche Interesse hervorruft, sondern sein Wert als Zeigermineral mittel- und hochgradiger Metamorphoseereignisse sowie seine Bedeutung für die Rekonstruktion von Druck- und Temperaturbedingungen schon lange zurückliegender Gesteinsumwandlungsprozesse (z. B. Spear, 1993; Sturm und Steyrer, 2003). Diese so genannte Geothermobarometrie erfuhr in den 1970er Jahren mit der Einführung moderner Rechenmethoden einen enormen Aufschwung und zählt gegenwärtig zu den Hauptdisziplinen der metamorphen Petrologie.

Das Mineral Granat

Wenn man sich dem Mineral Granat etwas mehr im Detail widmen möchte, so folgt dessen chemische Zusammensetzung der allgemeinen Formel $A_3^{2+}B_2^{3+}Si_3O_{12}$, wobei die A^{2+} -Position vorzugsweise durch die Elemente Mg, Fe²⁺,

Mn²⁺ oder Ca, die B³⁺-Position hingegen vor allem durch die Elemente Al, Fe³⁺, Cr³⁺ oder V3+ besetzt wird. Zu den am häufigsten in der Natur anzutreffenden Endgliedern der Granatgruppe zählen Pyrop ($Mg_3A_2Si_3O_{12}$), der bereits oben angesprochene Almandin (Fe₃Al₂Si₃O₁₂), Spessartin (Mn₃Al₂Si₃O₁₂) sowie die beiden Kalziumgranate Grossular Ca₃Al₂Si₃O₁₂ und Andradit Ca₃Fe₂³⁺Si₃O₁₂ (Schumann, 1975; Matthes, 1990). Besonderes Augenmerk ist auf die Kristallformen des Granats zu legen, die sich allesamt von der idealen Würfelform {100} ableiten lassen, jedoch durch die Ausbildung von 12 (Rhombendodekaeder), 24 (Ikositetraeder), 36 oder 48 Kristallflächen (Hexakisoktaeder) gekennzeichnet sind.

Die Kristalle treten sowohl in Form ideal kristallisierter (idiomorpher) als auch in Form gerundeter Komponenten im Mineralverband auf und verfügen nicht selten über einen ausgeprägten, aus erdwissenschaftlicher Sicht als sehr wertvoll zu erachtenden Zonarbau. Zu den physikalischen Eigenschaften von Granat zählen unter anderem dessen unvollkommene Spaltbarkeit, dessen muscheliger beziehungsweise splittriger Bruch, eine Mohs-Härte von 6,5 bis 7,5 und eine zwischen 3,5 und 4,5 g/cm³ schwankende Dichte. Seine Farbe reicht je nach chemischer Zusammensetzung von schwarz, tiefrot und bräunlich-rot bis rotgelb und gelblich-grün (Matthes, 1990).

Das natürliche Vorkommen von Granat beschränkt sich großteils, wenn auch nicht ausschließlich, auf Metamorphite. Dort kristallisiert die Mineralphase vornehmlich unter mittel- bis hochgradigen Druck- und Temperaturbedingungen, wie sie etwa bei der Bildung von Granatglimmerschiefern auf der einen Seite und Blauschiefern beziehungsweise Eklogitgesteinen auf der anderen Seite vorherrschen. Granat-Eklogit entsteht typischerweise bei so genannten Subduktionsprozessen – die ozeanische Kruste wird unter die kontinentale geschoben – in einer Tiefe von 40 bis 60 km und unter Temperaturen höher als 600 °C.

Durch die aktive oder passive intrakrustale Hebung des Eklogitgesteins infolge tektonischer Prozesse oder der Erosion überlagernder Gesteinseinheiten kommt es in vielen Fällen - so auch in dem in weiterer Folge dargestellten – zu einer Rückumwandlung des eklogitischen Mineralensembles, von welcher vor allem grobkörnige Primärkomponenten wie Granat selbst verschont bleiben können. Dies ist vor allem dann der Fall, wenn die Hebungsgeschwindigkeit des Gesteins die Umwandlungsgeschwindigkeit einzelner Mineralbestandteile übersteigt. Der Vollständigkeit halber soll hier auch noch erwähnt werden, dass Granat in Form von Melanit in magmatischen Gesteinen oder in Form des Topazolith in tektonischen Klüften kristallisiert. Zudem besteht die Möglichkeit, das Mineral in erhöhter Konzentration auf Seifenlagerstätten – darunter versteht man durch Erosion freigesetztes und vornehmlich an Flüssen angelagertes Primärlagerstättenmaterial anzutreffen (Schumann, 1975).

Methoden zur Mikroskopie und Mikroanalyse ausgewählter Granatkristalle

Sowohl für die lichtmikroskopische Untersuchung als auch für die Analyse einzelner Granatkristalle mit Hilfe der Elektronenstrahlmikrosonde (Back-Scattered Electron Imaging) wurden polierte Dünnschliffe jener Grüngesteine angefertigt, bei welchen bereits die makroskopische Analyse auf den Gehalt reliktischer Mineralkomponenten hindeutete. Die Produktion petrographischer Dünnschliffe steht im Detail bei Sturm (2008) beschrieben. Polierte, für die mikrochemische Analyse geeignete Dünnschliffe weichen von diesem Prozedere in zwei wesentlichen Punkten ab: Zum einen wird der Schleifvorgang durch einen intensiven Poliervorgang unter Verwendung verschiedenkörniger Diamantpasten ergänzt, welcher jene für die Bildgebung an der Mikrosonde notwendige Erzeugung einer perfekten planen Oberfläche garantiert. Zum anderen wird die polierte Oberfläche nicht mit einem Deckglas versehen, sondern mit einem elektrisch leitfähigem Medium, in der Regel Kohlenstoff, bedampft.

Die an den polierten Dünnschliffen durchgeführte Lichtmikroskopie wurde mit einem petrographischen Mikroskop der Marke Zeiss Polyvar, welches über eine entsprechende Ausstattung mit Polarisationsfiltern zur Betrachtung der Proben im Hell- und Dunkelfeld verfügte, durchgeführt. Die bildgebende Analyse auf der Basis rückgestreuter Elektronen erfolgte an einer Elektronenstrahlmikrosonde vom Typ Jeol JXA-8600 am ehemaligen Institut für Geologie und Paläontologie der Universität Salzburg. Zur Erzielung optimaler Bildergebnisse wurde am Gerät eine Beschleunigungsspannung von 15 kV eingestellt. Die Stromstärke des Elektronenstrahls wurde in Abhängigkeit vom gewünschten Kontrast zwischen 20 und 40 nA variiert, was jene in der herkömmlichen Rasterelektronenmikroskopie zur Anwendung gelangende Stromstärke um etwa das Zehnfache übersteigt. Der Durchmesser des auf die polierte Probe treffenden Elektronenstrahls wurde mit circa 1 µm festgelegt. Die Aufnahme der Bilder erfolgt anhand einer analogen, mit der Bildausgabeeinheit verbundenen Großformatkamera.

Lichtmikroskopie reliktischer Granate aus zentralalpinen Grüngesteinen

Sowohl die Licht- als auch die Elektronenmikroskopie von zentralalpinen Granaten eklogitischen Ursprungs liefern in der überwiegenden Mehrzahl beeindruckende Bilder, welche letztendlich Schlüsse hinsichtlich des Verlaufes großräumiger geotektonischer Prozesse gestatten. Unter dem Lichtmikroskop stellt sich der Granat zumeist als idomorpher Kristall dar, dessen Größe von Bruchteilen eines Millimeters bis zu anderthalb Zentimeter reicht und der in einer feinkörnigen, hauptsächlich aus Hornblende, Plagioklas und Quarz zusammengesetzten Matrix eingebettet ist (Abb. 1 und 2).

Die reliktische Granatphase weist neben ihrer nahezu idealtypischen Form noch zwei weitere Besonderheiten auf: Zum einen werden einzelne Kristalle von einem dünnen, nur maximal 100 bis 200 Mikrometer mächtigen Mantel aus Epidot, einem mittelgradig metamorphen Mineral, umgeben. Diese Epidothülle war durch die Reaktion des Granatrandes mit seiner umgebenden Matrix während der Hebung des Wirtsgesteins entstanden und übte eine, wenn man so will, konservierende Wirkung auf die eingeschlossene, eklogitische Mineralphase aus (Abb. 1e, f und 2). Zum anderen sind die zahlreichen, in den Granatkristallen eingeschlossenen Mineralphasen zu nennen, die für wertvolle geothermobarometrische Berechnungen herangezogen werden können (Sturm et al., 1997) und zudem einer Einregelung unterlie-



Abb. 1: Grüngestein mit reliktischen Granaten in einer feinen Matrix aus Hornblende und Plagioklas. a, c und e parallele Polarisationsfilter; b, d und f gekreuzte Polarisationsfilter. Balken: 5 mm. a und b Übersicht. c und d Vergrößerung mit zentraler Granatphase. e und f Detaildarstellung eines reliktischen Granats. Ep Epidot, Grt Granat, Hbl Hornblende, Pg Paragonit.



Abb. 2: Lichtmikroskopische Detailfotografie eines reliktischen Granaten mit umlaufenden Epidotsaum. Die Gesteinsmatrix setzt sich vornehmlich aus Hornblende, Plagioklas und Epidot zusammen. a parallele Polarisationsfilter, b gekreuzte Polarisationsfilter. Balken: 5 mm. Ep Epidot, Grt Granat, Hbl Hornblende, Pg Paragonit.

gen, welche nur in den seltensten Fällen parallel zur Schieferung der feinen Gesteinsmatrix orientiert ist.

Die lichtmikroskopische Untersuchung lässt neben Granat noch weitere Relikte einer ursprünglichen hochgradigen Metamorphose erkennen. Hier ist insbesondere auf einzelne Paragonitund Omphazitkristalle hinzuweisen (Abb. 1a, b), die in ähnlicher Weise wie Granat von einer Reaktionshülle aus Epidot umschlossen sind und somit von einem weiteren retrograden Abbau verschont blieben. Paragonit und Omphazit repräsentieren ein Schicht- beziehungsweise Kettensilikat mit erhöhtem Gehalt an Natrium und einer bevorzugten Entstehung unter blauschiefer- bis eklogitfaziellen Druck- und Temperaturbedingungen (Abb. 5). Der lichtmikroskopische Befund lässt bereits den sicheren Schluss zu, dass im Zuge des alpinen Gebirgsbildungsprozesses alter Mineralbestand, der hauptsächlich durch Granat zum Ausdruck gebracht wird, in ein neu geformtes, feinkörniges Gestein übernommen worden war. Mit Hilfe detaillierter mineralchemischer Untersuchungen ist es nun möglich, den Weg des Granates in der Erdkruste von seiner Entstehung bis zu seiner Freilegung an der Erdoberfläche nachzuverfolgen.

Elektronenmikroskopische Analysen

Das mit Hilfe der Lichtmikroskopie gewonnene Bild von den eklogitischen Granatrelikten erfährt durch die elektronenmikroskopische Untersuchung seine zusätzliche Bestätigung. Anhand der Bildgebung auf Basis rückgestreuter Elektronen lassen sich einzelne Mineralphasen aufgrund ihrer individuellen, von der Art der enthaltenen Elemente abhängigen Grau-



Abb. 3: Elektronenmikroskopische Aufnahme (Back-Scattered Electron Mode) von reliktischen Granaten und ihrer umliegenden Gesteinsmatrix, welche sich vornehmlich aus Hornblende (Hbl) und Plagioklas (Plg) zusammensetzt. Die Reliktgranate sind jeweils von einem Epidotsaum (Ep) eingeschlossen. Im Falle des Bildes b wird das Mineralensemble durch Quarz (Qz) ergänzt.



Abb. 4: Weitere Beispiele reliktischer Granate und ihrer Einbettung in eine feine, zeitlich wesentlich später einzuordnende Gesteinsmatrix. Besonders auffällig sind die großen dunklen Einschlussphasen in Bild d (Px), welche mit Hilfe der mikrochemischen Analyse als Omphazit, ein Na-Pyroxen, identifiziert werden konnten. Ep Epidot, Grt Granat, Hbl Hornblende, Pg Paragonit.

werte recht klar voneinander trennen. Granat erscheint hier durch den Gehalt an schwereren Elementen wie Eisen oder Chrom als hellste Phase, während Epidot, Pyroxen und Hornblende jeweils ein dunklerer Grauwert zuzuordnen ist (Abb. 3 und 4). Als schwarze Phasen mit geringster Dichte an rückgestreuten Elektronen treten Quarz, Plagioklas und der hinsichtlich seiner reliktischen Bedeutung hervorzuhebende Paragonit auf (Abb. 3a, b).

Aus den elektronenmikroskopischen Aufnahmen der Abbildungen 3 und 4 lassen sich einige für die geotektonische Interpretation nicht unerhebliche Zusatzerkenntnisse gewinnen. So kann einerseits die Feststellung getroffen werden, dass Epidot in der Tat einen dünnen Saum um die reliktischen Mineralphasen herum bildet, der in einzelnen Fällen von kleinen weißen Kristallen – hier handelt es sich um den Eisenspinell Magnetit – durchsetzt ist (Abb. 4b, c). Die Anwesenheit dieser Phase deutet auf lokale Umwandlungsreaktionen unter verstärkt reduzierenden Bedingungen hin.

Noch wesentlich bedeutsamer ist jedoch die mit Hilfe dieses Bildgebungsverfahrens gebotene Möglichkeit zur Differenzierung unterschiedlicher im Granat enthaltener Einschlussphasen. Die genaue Analyse der Bilder und nicht zuletzt auch die mikrochemische Messung verdeutlichen, dass einzelne Granatkristalle von einer Vielzahl an Mineralen durchsetzt sind, unter welchen Omphazit, Glaukophan, verschiedenen Na-Amphibolen, Paragonit, Epidot und Quarz die höchste Signifikanz zuteil wird. Die drei erstgenannten Mineralphasen besitzen dabei einen besonderen Wert für die theoretische Berechnung des Druckes und der Temperatur zum Zeitpunkt ihrer Entstehung (Spear, 1993; Sturm et al., 1997).

Ein drittes essentielles Detail, welches sich erst mit Hilfe der Elektronenmikroskopie erkennen lässt, betrifft die Beschaffenheit der feinen, die Reliktminerale umgebenden Matrix. Diese nämlich setzt sich vorzugsweise aus einem fein verzahnten Gefüge aus Hornblende und Plagioklas – in der Fachsprache bezeichnet man ein derartiges Gefüge als symplektitisch – zusammen. Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die elektronenmikroskopische Bildgebung zwar höheren Aufwand in Hinblick auf die Probenpräparation und -bearbeitung nach sich zieht, jedoch wertvolle Zusatzergebnisse für die Interpretation der Gesteinsgenese liefern kann.

Rekonstruktion großtektonischer Ereignisse

Mit Hilfe jener aus der Mikroskopie gewonnenen Resultate lässt sich der Ablauf verschiedener petrogenetischer beziehungsweise metamorpher Prozesse im zentralalpinen Bereich näherungsweise rekonstruieren. Zu diesem Zweck gelangt standardgemäß ein Druck-Temperatur-Diagramm (kurz: p-T-Diagramm) zur Anwendung (Abb. 5), in welches jener Pfad eingetragen wird, der die jeweiligen, zu einzelnen Abschnitten der Gesteinsentwicklung herrschenden Druck- und Temperaturbedingungen am besten nachzuzeichnen vermag.

Zur Bestimmung des genauen Pfadverlaufs reicht der mikroskopische Befund allein freilich nicht aus, sondern ist durch detaillierte mikrochemische Analytik und damit gekoppelter Geothermobarometrie zu ergänzen. Wie dem in Abbildung 5 gezeigten, betaförmigen Pfad (rot) entnommen werden kann, haben jene Grüngesteine mit reliktischem Mineralbestand im Wesentlichen vier petrogenetische Phasen durchschritten. Am Anfang steht hier die Eklogitisierung mit der Bildung jener im Zentrum dieses Beitrags stehenden Granate. Es ist anzunehmen, dass besagter Gesteinsbildungsprozess unter Druckbedingungen von 14 bis 16 Kilobar und bei einer Temperatur von etwa 600 °C erfolgte.

Durch tektonische Prozesse gelangte das Eklogitgestein in höhere Krustenniveaus und wurde einer retrograden Metamorphose unterzogen, die hauptsächlich in der Bildung von Glaukophan, einem Na-haltigen Amphibol, resultierte. Der teilweise Einschluss dieser Mineralphase in randlichen Zonen des Granats legt den Schluss nahe, dass das Granatwachstum über die Phase der Eklogitisierung hinweg seine Fortsetzung fand. In einer dritten petrogenetischen Phase erfolgte eine neuerliche Temperaturerhöhung infolge einer die Gesteinseinheiten erfassenden Regionalmetamorphose. Das Ergebnis war die Bildung jener noch heute großteils erhaltenen Hornblende-Plagioklas-Matrix, das heißt der



Abb. 5: Druck-Temperatur-Diagramm zur Veranschaulichung all jener metamorphen Phasen, welche auf die Reliktminerale im Zuge von Gesteinshebungsprozessen eingewirkt und zur vollständigen Umformung der umgebenden Gesteinsmatrix geführt haben.

niedriger temperierte Mineralbestand wurde durch einen höher temperierten ersetzt. In einer finalen petrogenetischen Phase erfolgte eine partielle Chloritisierung, wie sie typischerweise in Grüngesteinen der hier beschriebenen Art vorgefunden werden kann.

Literaturhinweise

- Matthes, S.: Mineralogie. Eine Einführung in die spezielle Mineralogie, Petrologie und Lagerstättenkunde. Springer-Verlag, Berlin 1990.
- Schumann, W.: Mineralien und Gesteine. Die wichtigsten Mineralien und Gesteine nach Farbfotos bestimmen. Kaiser-Verlag, Klagenfurt 1975.
- Spear, F.: Mineralogical phase equilibria and pressure temperature time paths. Mineralogical Society of America (MSA), Boston 1993.
- Sturm, R.: Gesteinsmetamorphose unter dem Mikroskop Mineralumwandlungsprozesse bei abnehmenden Druck- und Temperaturbedingungen. Mikrokosmos 97, 267–272 (2008).
 Sturm, R., Dachs, E., Kurz, W.: Investigation of high-
- Sturm, R., Dachs, E., Kurz, W.: Investigation of highpressure relics in greenschists of the Grossglockner area (Central Tauern Window, Austria). Zentralbl. Geol. Paläontol. 3/4, 345–363 (1997).
- Sturm, R., Steyrer, H. P.: Zirkonquantifizierung zur Volums- und Massenbilanzierung in duktilen Scherzonen – eine exemplarische Studie aus dem Zillertal-Venediger-Kern (Hohe Tauern). Mitt. Österr. Geol. Ges. 93, 55–76 (2003).

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

Nachricht

Das Universum im Mikroskop – Biodiversität und Ästhetik der Diatomeen

In der Zeit vom 13. März bis zum 1. Juni 2009 findet in Kooperation mit Matthias Burba, Hamburg, diese Galerieausstellung im Botanischen Museum Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 6–8, statt.

Diatomeen sind einzellige Kieselalgen. Bei einer Größe von weniger als einem Millimeter können sie nur mit Hilfe eines Mikroskops gesehen werden. Sie leben in großer Zahl in Seen, Flüssen und Meeren und besiedeln selbst kleinste feuchte Lebensräume wie Baumrinden. Die Zahl der Diatomeenarten wird heute auf etwa eine Million geschätzt; 20.000 sind allerdings erst beschrieben. Die ökologische Bedeutung dieser Artengruppe ist enorm, werden ihr doch etwa 25% der Sauerstoffproduktion der Welt zugerechnet. Aber nicht nur diese wissenschaftlichen Tatsachen machen sie zu einem interessanten Beobachtungsobjekt: Ihre gläsernen Schalen sind von unvergleichlicher Schönheit. Sie faszinieren durch ihre ausgeprägte Symmetrie (Abb. 1).

Schon im 19. Jahrhundert waren Diatomeen gesuchte Beobachtungsobjekte von (vielen) Amateuren und (wenigen) Wissenschaftlern. Die Präparation und das Arrangement dieser kleinsten Algen zu Reihen, Kreisen oder anderen, kunstvollen Formen war eine Domäne der Amateure. Johann Diedrich Möller (1844–1907) beherrschte die Kunst, Diatomeen zu legen in Perfektion (Burba, 2007). Er trieb mit den Präparaten einen einträglichen Handel, legte aber zugleich großen Wert auf die Veröffentlichung seiner Arbeiten in Fachkreisen.

Das größte Präparat dieser Art ist das "Universum", 1891 von Johann Diedrich Möller der Öffentlichkeit vorgestellt (Burba, 2008). Auf einem Objektträger wurden auf einer Fläche von 5×6 mm über 4.000 verschiedene Diatomeenarten in Reihen gelegt. Ein gedruckter Katalog bezeichnete jede Spezies mit ihrer exakten Position.

Die Ausstellung zeigt eine Vielzahl weiterer Präparate aus dem 19. Jahrhundert in modernen Mikrofotografien, in denen die Biodiversität der Diatomeen nach unterschiedlichen systematischen und geografischen Kriterien oder um der Ästhetik willen arrangiert wurden (Burba, 2009). Die Ausstellung gibt darüber hinaus einen Einblick in die komplexe Herstellungstechnik dieser historischen Präparate. Eine Darstellung der aktuellen Systematik der Diatomeen auf der Basis molekularbiologischer Forschungsergebnisse – illustriert mit elektronenmikroskopischen Fotografien – schlägt die Brücke vom "Universum" des 19. Jahrhunderts in die heutige Zeit.

Literaturhinweise

- Burba, M.: Johann Diedrich Möller (1844–1907) Über die Kunst, Diatomeen zu legen. Mikrokosmos 96, 7–17 (2007).
- Burba, M.: Die größte Typenplatte der Welt und ihre Herstellung. Mikrokosmos 97, 321–327 (2008).
- Burba, M.: Mikroskopische Salonpräparate Naturschönes und Kunstschönes auf kleinstem Raum. Mikrokosmos 98, 70–75 (2009).

Redaktion MIKROKOSMOS



Abb. 1: Ausschnitt aus einem Diatomeen-Legepräparat.

93

Untersuchungen zur Gravitaxis bei Euglena gracilis – Mikroskopie im freien Fall

Sebastian M. Strauch und Robert Ruthenberg

Woher wissen Einzeller, wo oben und unten ist? Diese zunächst simpel erscheinende Frage ist sehr schwer zu beantworten. Verfügen höhere Lebewesen – den Menschen einbezogen – dafür über komplexe Sinnesorgane, müssen Einzeller wie *Euglena gracilis* (Augentierchen) die Schwerkraftrichtung ohne Zuhilfenahme komplexer Organe wahrnehmen. Genau dieser Frage, nämlich der nach der Schwerkraftperzeption bei Einzellern, gehen Forscher der Universität Erlangen-Nürnberg nach.

ravitaxis ist die Reaktion eines freibeweglichen Organismus auf die Schwerkraft. Sie induziert eine orientierte Bewegung des Organismus entweder in Richtung des Schwerkraftvektors (= positive Gravitaxis) oder entgegen des Schwerevektors (= negative Gravitaxis). In älteren Publikationen wird auch der Begriff Geotaxis verwendet (wegen der Richtung des Erdschwerevektors).

Photosynthethisch aktive Einzeller nutzen die Gravitaxis, um ans Licht beziehungsweise an die Oberfläche eines Gewässers zu kommen, wo die Sonnenstrahlung für die Photosynthese am effektivsten ist. Durch ein Zusammenspiel von Gravitaxis und Phototaxis regeln sich die Organismen im optimalen Bereich ein. Andere Organismen gelangen mit Hilfe der Gravitaxis an die Oberfläche, um sich fortzupflanzen. Die Chance, auf einen Partner zu treffen, ist dort nämlich deutlich höher als in den Tiefen des Gewässers.

Gravitaxis-Hypothesen

Zurzeit gibt es verschiedene Hypothesen zur Erklärung der Gravitaxis von Einzellern, von denen die zwei wichtigsten im Folgenden kurz erläutert werden:

- 1. Passive Ausrichtung oder Bojen-Effekt: Das Hinterende der Zelle ist schwerer als das Vorderende. Die Zelle richtet sich somit wie eine Boje aus. Das Flagellum am Vorderende von *Euglena* brächte unter solchen Bedingungen die Zelle automatisch nach oben.
- Gravirezeptor: Die Zelle verfügt über Rezeptoren, mit denen sie die Richtung des Schwerefeldes wahrnimmt und durch eine physiologische Signalübertragung (Signal-

transduktion) eine gerichtete Kurskorrektur auslöst, zum Beispiel durch einen modifizierten Geißelschlag.

Die physiologische Signaltransduktion erfolgt durch die Weiterleitung des Signals vom Ort des Entstehens (Rezeptor) zum Ort der Reaktion (Geißel) unter Zuhilfenahme verschiedener zwischengeschalteter Proteine. Um bestimmte Fragen zur Gravitaxis von photosynthetisch aktiven Geißeltieren (Flagellaten) beantworten zu können, ist es sinnvoll, diese Einzeller auch unter Schwerelosigkeit zu untersuchen, so, wie es schon Ende der 80er, Anfang der 90er Jahre des vergangenen Jahrhunderts erfolgreich bei verschiedenen Arten der einzelligen Wimpertiere (Ciliaten) geschehen ist.

Euglena als Versuchsobjekt

Am Lehrstuhl für Ökophysiologie der Pflanzen der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg erforscht Prof. Dr. Donat-Peter Hä-



Abb. 1: Dichte Kultur von *Euglena gracilis* im differentiellen Interferenzkontrast (Foto: Klaus Hausmann, Berlin).

94 S. M. Strauch und R. Ruthenberg

der mit seinen Mitarbeitern unter anderem die physiologischen Mechanismen der Gravitaxis anhand des Einzellers *Euglena gracilis* (Abb. 1). Diese einzellige Alge zeigt ein präzise orientiertes Schwimmverhalten im Wasser. Dabei benutzt sie externe Parameter wie Licht, Sauerstoff und Schwerkraft als Reize.

Es wurde bisher gezeigt, dass eine Vielzahl zellulärer Bestandteile eine Rolle in der Wahrnehmung und Weitergabe des Beschleunigungsreizes haben, von denen inzwischen einige durch molekularbiologische Methoden charakterisiert wurden. Um genauere Parameter während der Reorientierung zu erhalten, verwenden die Forscher das Fluoreszenz-Phasenkontrast-Mikroskops BZ-8000 des Unternehmens Keyence, Neu-Isenburg, in der Schwerelosigkeit, die für gewisse Zeit in Rahmen von Flugzeug-Parabelflügen erzeugt werden kann. Damit sollten die genaue Reorientierung einer einzelnen Euglena gracilis-Zelle sowie die intrazellulare Calciumkonzentration – bestimmt durch calciumsensitive Fluoreszenzfarbstoffe - unter Einfluss von Beschleunigungsreizen dokumentiert und analysiert werden. In einem zweiten, unabhängigen Experiment galt es, die photosynthetische Sauerstoffproduktion der Alge bei verschiedenen Beschleunigungen zu messen, um mögliche Effekte auf den photosynthetischen Apparat bei Hyper- und Mikrogravitation zu beobachten.

Da während der Photosynthese Sauerstoff produziert und Kohlendioxid verbraucht wird, rücken photosynthetische Organismen als interessante Komponente für regenerative Lebenserhaltungssysteme immer mehr in den Blickpunkt. Diese Experimente stellen daher einen ersten Schritt der notwendigen detaillierten Studien über die photosynthetische Leistung von *Euglena gracilis* im Weltraum dar.

Parabelflug-Experimente mit dem Fluoreszenz-Phasenkontrast-Mikroskop Biozero BZ-8000

Mitarbeiter von Professor Häder nahmen aus diesen Forschungsgründen an zwei Parabelflugkampagnen in 2006 und 2007 teil. Neben der Durchführung der geplanten Experimente ging es bei der ersten Parabelflugreihe darum, die grundsätzliche Tauglichkeit des Fluoreszenz-Phasenkontrast-Mikroskops BZ-8000 bei Parabelflügen zu testen (Abb. 2). Schließlich bieten diese nicht nur für rund 22 Sekunden na-



Abb. 2: Die invertierten Fluoreszenz-Phasenkontrast-Mikroskope der Modellreihe BZ-8000 bieten die drei Betrachtungsarten Hellfeld-, Fluoreszenz- und Phasenkontrastmikroskopie (Foto: Keyence, Neu-Isenburg).

hezu Schwerelosigkeit, sondern vor und nach der Mikrogravitation (µg) werden die Gerätschaften mit dem 1,8fachen der Erdanziehung belastet. In der Regel versagen dabei häufig Festplatten in den benutzten Computern, so dass man alleine daran die hohen Belastungen aller eingesetzten Geräte erahnen kann.

Mikroskop-Parameter

Beim Fluoreszenz-Phasenkontrast-Mikroskop Biozero aus der Modellreihe BZ-8000 handelt es sich um ein hochpräzises Mess- und Analysegerät, das über einen eingebauten Dunkelraum verfügt, so dass erstmals Fluoreszenzmikroskopie in jedem hell erleuchteten Raum möglich ist. Das Fluoreszenzmikroskop ist voll motorisiert (X-Y-Z-Achse, Filterwechsler, optischer Zoom). Über eine Firewire-Schnittstelle (IEEE1394) werden die Daten auf einen Computer übertragen, worüber auch das neuartige Gerät gesteuert wird. Der optische Zoom erlaubt Vergrößerungen im Bereich 0,5 bis 3fach zusätzlich zur Vergrößerung des Objektivs (je nach Objektiv 4bis 100fach) bei gleich bleibender numerischer Apertur. Das extrem kompakte Fluoreszenzmikroskop Biozero benötigt nur eine Stellfläche von 31 × 43 cm.

Es können bis zu vier Filtersysteme gleichzeitig eingesetzt und über die elektronische Steuerung gewechselt werden. Mit nur einem Mausklick lassen sich Bilder, die mit unterschiedlichen Filtern erzeugt wurden, am vierfach geteilten Bildschirm gleichzeitig anzeigen. Durch Anklicken des jeweiligen Bildschirmabschnitts kann man zwischen den vier Kanälen umschalten und eine Farbüberlagerung durchführen.

Darüber hinaus lassen sich zahlreiche Messfunktionen und Bildeinstellungen per Mausklick ebenso komfortabel durchführen wie die Darstellungen von Intensitätsmessungen und diverse Statistiken. Eine effektive Unschärfereduktion kann am Bildschirm in Echtzeit durchgeführt werden. Bei Bedarf lassen sich 3D-Analysen quasi in Echtzeit erstellen. Dank eines ausgeklügelten Algorithmus kann das 3D-Bild sehr rasch durch ein so genanntes Volume Rendering Verfahren (Visualisierung der Helligkeitsebenen von Punkten/Voxel in einem 3D-Raum) gezeichnet werden. Neben 3D-Rotationen und beliebigen 3D-Vergrößerungen kann der Benutzer auch Echtzeit-Farbanpassungen sowie Echtzeit-Kontrastanpassungen an den 3D-Bildern vornehmen.

Soviel zur Theorie und Technik des Gerätes. Wie bewährte es sich in der Praxis unter Extrembedingungen, nämlich in der Schwerelosigkeit?

Ergebnisse und technische Tücken

Während der ersten Parabelflugkampagne (Abb. 3 und 4) wurden zahlreiche Filmsequenzen und Einzelbilder in diversen Modi aufgenommen. Dabei wurde die Empfindlichkeit der Kamera variiert, um ein optimales Verhältnis von Auflösung und Belichtungszeit zu erreichen. Der Z-Stack-Modus wurde verwendet, um Serienbilder automatisch aufzunehmen; dazu wurden die Abstände zwischen den Ebenen möglichst klein eingestellt. Die Filmaufnahmen zeigten den Übergang zwischen der Hyper-g- und Mikro-g-Phase und ließen einen Unterschied im Schlagmuster der Flagelle erkennen.

Weiterhin wurde versucht, Fluoreszenzaufnahmen zu machen. Allerdings waren die Belichtungszeiten deutlich zu lang; die Vibrationen beim Flug störten zu sehr. Zudem waren die Zellen zu beweglich, um sie ordentlich abzubilden. Videosequenzen zeigten die generelle Praktikabilität, wenn die Fluoreszenz stark genug und die Vergrößerung eher gering gewählt ist. Das allerdings lässt derzeitig noch keine detaillierten Analysen bei höheren Vergrößerungen zu. Multicoloraufnahmen dauerten ebenfalls zu lang; die Montage der Bilder übereinander wäre schon wegen der Vibrationen nur mit statischen Motiven möglich gewesen.

Schließlich wurde das 60fach-Ölimmersionsobjektiv getestet. Dabei zeigte sich, dass der Immersionsöltropfen aufgrund der erhöhten Schwerkraft so stark deformiert wurde, dass das Bild stets aus dem Fokus lief und die Hyper-g-Phasen vor der eigentlichen Parabel nahezu komplett fehlten. In den µg-Phasen waren zwar gute Abbildungen möglich, allerdings wurden die Deckgläser so stark deformiert, dass zuvor anvisierte Zellen oft nicht mehr zu finden wa-



Abb. 3: Fluoreszenzmikroskopie im freien Fall in einem speziellen Airbus A300 der französischen Firma NOVESPACE (Fotos: Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg und DLR-Parabelflug: Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt e.V. (DLR), Köln). – Abb. 4: Bio-Forscher arbeiten in Schwerelosigkeit mit dem Biozero beim Parabelflug (Foto: Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Martin Schuster).

ren. Das waren wichtige, wenn auch schmerzliche Erfahrungen. Dank einer ausreichend hohen Zelldichte konnten aber doch noch einige wenige Zellen beobachtet werden.

Zusammenfassend kann man festhalten, dass nach den drei Flügen an drei Tagen im Oktober 2006 mit insgesamt 93 Parabeln sich das Mikroskop in einwandfreiem Zustand befand und nach wie vor fehlerfrei arbeitete. Allerdings konnten die Fluoreszenz wegen der unerwartet hohen Flugzeugvibrationen sowie die Immersionsoptik wegen zuvor nicht bekannter Schwerelosigkeits- und Hypergravitationseffekte auf das Immersionsöl und auf das Deckglas nicht sinnvoll eingesetzt werden.

Zweite Parabelflugkampagne mit gedrehtem Mikroskop

Im November 2007 sollte das Mikroskop um 90 Grad gedreht während der Parabelflüge eingesetzt werden. Der Hintergrund war der, dass dadurch die Bewegungsfreiheit von *Euglena gracilis* vergrößert wird und die Zellen in der nunmehr vertikal angeordneten Beobachtungsküvette nach oben schwimmen können.

Für die zweite Parabelflugkampagne wurde also das Mikroskop um 90 Grad gedreht und in einer eigens dafür angefertigten Styroporschale platziert. Erneut wurden an drei Tagen 93 Parabeln geflogen. Diesmal wurde ausschließlich das schnelle Videobild des BZ-8000-Mikroskops genutzt. Diese Videofunktion mit einer Aufnahmedauer von bis zu einer Stunde vermag zeitliche Veränderungen am Objekt oder kleinste Bewegungsänderungen zuverlässig aufzuzeichnen. Aufgrund der Vielzahl an Einzelbildern stehen erste Ergebnisse noch aus. Doch auch diese zweite Parabelflugkampagne hat das BZ-8000-Mikroskop einwandfrei überstanden.

Weitere Nutzungsmöglichkeiten des BZ-8000-Mikroskops

Wie die Forscher unterstreichen, werden vor allem die Messfunktionen des Mikroskops intensiv genutzt (Abb. 5). Neben einer Längenmessfunktion von Geraden oder beliebigen Linien verfügen die BZ-8000-Mikroskope über weitere Messfunktionen wie Radiusbestimmungen, Mittelpunktmessungen, Kreisflächen- und Polygonbestimmungen sowie Winkel- und Parallelabstandsmessungen. Da der Messbalken stets mit eingeblendet wird, braucht man den



Abb. 5: Forschungsziel ist eine Antwort auf die Frage: Woher wissen Einzeller wie beispielsweise *Euglena gracilis,* wo oben und unten ist? (Foto: Robert Ruthenberg, Nürnberg).

Vergrößerungsfaktor nicht extra zu notieren. Derartige Optionen sind allerdings kein Novum des Keyence-Gerätes, sondern finden sich seit geraumer Zeit in Mikroskopen verschiedenster Anbieter.

Die Experimente unter Schwerelosigkeit wären mittels eines konventionellen Fluoreszenzmikroskops kaum durchzuführen gewesen. Denn ein solches Instrument besteht aus mindestens drei voneinander getrennten Geräten wie Laser, Kühlung und Steuerung und weist zudem sehr lange optische Wege auf, die unter Vibrationen für unscharfe Bilder sorgen, was sich dann allerdings auch beim kompakt gebauten Biozero-Mikroskop als limitierender Faktor herausgestellt hat.

Offenbar muss noch einiges an Forschungsarbeit geleistet werden, um die Fluoreszenzvariante im schwerelosen Parabelflug sinnvoll nutzen zu können. Alternativ könnte man natürlich das Gerät in einem Weltraumlabor einsetzen, in dem es wohl keine störenden Vibrationen gibt. Die Kosten für derartige Experimente dürften allerdings ungleich höher sein, als es beim Parabelflug der Fall ist.

Informationen zum Biozero-Mikroskop können bezogen werden von: KEYENCE Deutschland GmbH, Vertrieb/Marketing, Siemensstraße 1, 63263 Neu-Isenburg, Tel.: 0 61 02/3 68 90, Fax: 0 61 02/3 68 91 00, E-Mail: info@keyence.de, Internet: http://www.keyence.de.

Verfasser: Dipl.-Biol. Sebastian Michael Strauch, Lehrstuhl für Ökophysiologie der Pflanzen, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, und Dipl.-Ing. Robert Ruthenberg, freier Journalist in Nürnberg.

MIKROKOSMOS

Aus der Industrie

Erstes inverses Routinemikroskop mit LED-Lichtquelle – Das Leica DM IL LED

Brillante Optik und optimale Beleuchtung sind Schlüsselelemente für bestmögliche Ergebnisse in der Mikroskopie. Als erstes inverses Routinemikroskop vereint das Leica DM IL LED (Abb. 1) herausragende Leica HC-Optik mit modernster LED-Beleuchtung. Die wartungsfreundliche Lichtquelle, die keine Wärme entwickelt, die großen Arbeits- und Bedienfreiräume sowie die hohe Stabilität des Systems sorgen für optimale Bedingungen für das Mikroskopieren mit lebendem Probenmaterial. Das Leica DM IL LED und die Fluoreszenzvariante Leica DM IL FLUO sind außerordentlich flexibel einsetzbar und können mit vielen unterschiedlichen Optikund Zubehörkomponenten individuell ausgestattet werden - Vorteile, die in dieser Mikroskopklasse ihresgleichen suchen.

Auf alles eingestellt

Das Leica DM IL LED eignet sich für vielfältige Zellund Gewebekulturuntersuchungen in Biologie und Medizin, für entwicklungsbiologische Studien oder Mikromanipulation bis hin zu Lebendzellexperimenten in der Transgenik oder Elektrophysiologie. Für Fluoreszenzanwendungen wie GFP-Markierungen bietet die Variante Leica DM IL FLUO vielfältige Einsatzmöglichkeiten – auf Wunsch ebenfalls mit LED-Fluoreszenzbeleuchtung. Die kompakte Beleuchtungseinheit mit stromsparender Abschaltautomatik beinhaltet eine vorzentrierte LED mit einer Lebensdauer von 50.000 Stunden. Lampenwechsel werden damit überflüssig. Die 10-Watt-Leistung der LED wird vollständig in Licht umgewandelt.

Flexibel und Modular

Durchlichtbeleuchtung, optimierte Kondensoren und Kontrastiermethoden sind speziell auf zellbiologische Anwendungen abgestimmt. Alle verfügbaren Kontrastiermethoden lassen sich einfach und schnell an individuelle Anwendungen anpassen. Ein besonderes Plus: Der integrierte Modulationskontrast (IMC). Das von Leica Microsystems weiterentwickelte, einzigartige Verfahren benötigt keine Spezialobjektive.



Abb. 1: Gruppenaufnahme aus der Leica DM IL LED-Serie.

Das Stativ ist in hohem Maße kompatibel mit Komponenten der Leica Forschungsmikroskope. Für das Leica DM IL LED wurden erstmals Kondensoren entwickelt, die jeweils für alle Kontrastierverfahren geeignet sind. Der S80-Kondensor schafft mit seinem Arbeitsabstand von mindestens 80 mm und einer Apertur von 0,30 größtmöglichen Freiraum um die Probe bei gleichzeitig optimalem Kontrast. Die stufenlos einstellbare Kondensorhöhe bietet einzigartige Flexibilität beim Einsatz von peripheren Mikrowerkzeugen. Mit einer Apertur von 0,45 und mindestens 40 mm Arbeitsabstand ermöglicht der S40-Kondensor besonders hohe Auflösungen – ideal für Phasenkontrast und IMC.

Weitere Informationen: Leica Microsystems GmbH, Ernst-Leitz-Str. 17–37, 35578 Wetzlar, Tel.: 0 64 41/29 25 50

97

Brechwertmessungen an Diatomeen – Technik und neue Messungen

Peter Höbel

Beschäftigt man sich mit der Präparation und Einbettung von Diatomeen (Abb. 1 und 2), so treten zwangsläufig auch Fragen über Auflösung und Kontrastierung auf. Da der Kontrast direkt von der Differenz der Brechungsindizes zwischen Diatomeenschale und Einschlussmedium abhängt, ist eine nähere Betrachtung wünschenswert. Einschlussmedien können relativ einfach mit einem Refraktometer gemessen werden, wogegen Diatomeen durch Größe, Form und Material sich den üblichen Verfahren entziehen. Es geht in diesem Artikel darum, ein sicheres Verfahren zu beschreiben, was genaue, reproduzierbare und überprüfbare Werte liefert.

er Brechwert von Diatomeenschalen wird in Literaturstellen mit Werten von 1,41 bis 1,43 beschrieben. Diese Angaben liegen etwas unter dem Brechwert von SiO₂ (Siliziumdioxid, Opal). Was aber bauen Kieselalgen außer SiO₂ noch in ihre Schale ein, was diesen Wert beeinflusst? Wie sicher sind überhaupt diese Messungen? Wer hat wann solche Messungen unter welchen Bedingungen angestellt? Der Fragenkatalog wurde immer länger, und so entschied ich mich zu eigenen Versuchsreihen.

Das Rad sollte nicht noch einmal erfunden werden und so prüfte ich zunächst die bekannten Methoden der Refraktionsmessungen für kleine Partikel in einem flüssigen Medium

- a) nach der Becke'schen Lichtlinie
- b) nach der Schroeder van der Kolk'schen-Methode.

Beide Methoden funktionieren an dünnen, ebenen Kristallplättchen mit Bruchkanten recht brauchbar. Diatomeenschalen zeigen aber eine absolut unbrauchbare Gestalt für diese Methoden, so dass nur sehr grobe Abschätzungen und wenig gesicherte Ergebnisse zu erzielen waren. Trotzdem gab es erste Hinweise, dass die in der Literatur genannten Refraktionswerte für Diatomeen nicht allgemeine Gültigkeit haben.

Grundgedanke zur Refraktionsmessung kleinster, durchsichtiger Partikel ist immer eine Immersionsmessung, bei welcher versucht wird, das Medium im Brechwert dem Brechwert der Partikel anzupassen. Ist das gelungen, so werden die feinen Partikel unabhängig von ihrer Form unsichtbar. Das flüssige Medium kann sodann mit einem herkömmlichen Refraktometer bestimmt werden. Es galt nun herauszufinden, mit welcher mikroskopischen Technik



Abb. 1 und 2: Diatomeenschalen. - Abb. 1: Mastogloia binotata. - Abb. 2: Raphoneis amphiceros.

sich eine sichere Unterscheidung des Brechwertes (n) von $n_{Medium} > n_{Partikel}$ oder $n_{Medium} < n_{Partikel}$ erkennen lässt und wie eine Steigerung der Messgenauigkeit erfolgen kann.

Schnell zeigte sich der Phasenkontrast als hilfreich und sicher, gibt er doch die bekannten Halo-Effekte, welche unter anderem vom Brechwert abhängig sind. Der ganz große Vorteil liegt in der Intensitätsumkehr der Halo-Erscheinung, das heißt, an der Grenzlinie vom Medium zur Diatomeenschale kehrt sich der Hell-Dunkel-Verlauf um. Es stellte sich auch heraus, dass die Intensität beziehungsweise der Intensitätsverlauf der Halo-Erscheinung als wichtige Größe ausgewertet werden kann.

Für eine sehr exakte Messung reicht es nicht, den Umkehrpunkt zu finden, sondern es wird eine Messreihe mit nahe am Umkehrpunkt liegenden Medien gefordert, um dann mit mathematischen Methoden eine genaue Bestimmung des Brechungsindex zu finden.

Präparation der Diatomeen und Mikroskopaufbau

Die zu testenden, gereinigten Diatomeenschalen – meist in Wasser oder Alkohol aufbewahrt – werden als kleiner Tropfen auf ein Deckglas gegeben, dann unter leichter Wärme eingetrocknet und so vorsichtig am Deckglas fixiert. Nun legt man sehr sorgsam das Deckglas (Diatomeen nach unten) auf einen gereinigten Objektträger, als wolle man ein Präparat mit dem Medium Luft herstellen. Da das Deckglas nur lose aufliegt, muss nun der Objektträger sehr vorsichtig auf den Mikroskoptisch gelegt werden. Jetzt erfolgt die Einstellung und Auswahl der zu messenden Diatomeenschale für alle weiteren Arbeitsschritte.

Das Mikroskop wurde zuvor mit allen Einstellungen für den Phasenkontrast gerüstet. Gut geeignet zeigt sich ein 40× Objektiv und eine Bestückung des Trinotubus mit einer Kamera zur Dokumentation. Als Lichtquelle dient eine weiße Power-LED mit bis zu 240 Lm. Die LED wird über eine Konstantstromquelle betrieben, um über längere Zeiträume eine konstante Beleuchtung zu garantieren.

Zur Dokumentation dient eine C-Mount-Kamera von ImagingSource DBK41AU02, welche über eine schnelle USB-Verbindung mit dem PC gekoppelt ist. Live-Bilder in Monitorgröße und eine komplette Steuerung über den PC erlauben ein rasches Arbeiten und Speichern der Bilddokumente. Eine ganz wesentliche Forderung an die Kamera und die Steuersoftware ist ein unkomprimiertes Bild mit linearer Übertragung der Intensitätsinformation. Nur so kann eine Intensitätsauswertung der Halo-Erscheinung mit hoher Präzision gesichert werden. Die Datenspeicherung der Bilder erfolgt im BMP-Format.

Testmedien

Welche flüssigen Medien sind nun für die Untersuchung geeignet? Die Forderung zu Beginn war, an einer einzigen Diatomeenschale alle nötigen Messungen durchzuführen. Das heißt,



Abb. 3: *Melosira nummuloides*, im linken Bild in ein Medium mit Brechwert 1,4200 und im rechten Bild in ein Medium mit Brechwert 1,4785 eingebettet. Als Medium wurde eine Mischung aus Isopropanol und Toluol gewählt.

man soll nicht an unterschiedlichen Exemplaren messen und hinterher einen Mittelwert bilden, sondern an einer Schale alle Messungen durchführen und wichtige Vergleiche der Messungen verschiedener Exemplare hinterher anstellen.

Nach einigen Versuchen zeigte sich, dass es durchaus möglich ist, einen Tropfen einer Testsubstanz vorsichtig zwischen Objektträger und Deckglas einzubringen, ohne dass sich die Diatomeen verschieben oder verdrehen. Die Wärmefixierung lässt die Schalen soweit am Deckglas haften, dass das durchströmende Medium keine Störung verursacht.

Ein erster Gedanke war eine Wasser-Glycerin-Mischung (Brechwert nD von Wasser = 1,3330, nD von 99,95% igem Glycerin = 1,4735). Dieser Variationsbereich sollte reichen. Der erste Versuch scheiterte aber an der schlechten Benetzung der Diatomeenschalen durch Glycerin und weiter an der Tatsache, dass das Medium sich kaum wieder unter dem Deckglas entfernen ließ. So musste nach einem Gemisch mit höherem Dampfdruck und günstigen Brechwerten gesucht werden. Es fand sich in Isopropanol mit Toluol, was Brechwerte im Bereich von nD = 1,3772 bis nD = 1,4969 zulässt.

Je nach Dichte der Diatomeenverteilung unter dem Deckglas verdampft das Gemisch nach 5-20 Minuten, ausreichend Zeit für Aufnahmen und Auswertung, aber auch schnell genug für nachfolgende Messungen mit einem neuen Medium und somit neuen Brechwerten. Erst wenn mit Sicherheit die letzten Spuren der Mixtur verflüchtigt sind, kann eine neue Testsubstanz eingebracht werden. Es ist unwesentlich, mit welchem Brechwert man eine Testreihe beginnt. Wichtig aber ist es, dass unmittelbar vor jeder Messung an einem kalibrierten Refraktometer der Brechwert auf vier Nachkommastellen gemessen wird. Da der Brechungsindex von Flüssigkeiten stark temperaturabhängig ist, sollte das Mikroskop nahe beim Refraktometer stehen, um so eine annähernd gleiche Temperatur zu sichern.

Es ist zweckmäßig, in fünf bis zehn kleinen Gefäßen schon vorbereitete Gemische aus Isopropanol und Toluol zu erstellen und den Brechungsindex grob zu bestimmen. Da nur der exakte, nicht aber ein bestimmter Brechungsindex wichtig ist, macht diese Vorbereitung die Durchführung der Messreihe einfacher.

Aufnahme einer Messreihe

Nachdem alle Vorbereitungen getroffen sind, beginnt man vorsichtig einen Tropfen des Mediums mit direkt zuvor gemessenem, bekanntem Brechwert so an den Rand des Deckglases zu tropfen, dass dieser zwischen Deckglas und Objektträger gezogen wird. Hier ist etwas Übung erforderlich und vielleicht auch ein zweiter Tropfen.

Im Bild wird nach erneuter Scharfstellung der bekannte Halo-Effekt an der Grenzschicht zwischen Medium und Diatomeenschale erkennbar (Abb. 3). Es folgt die sofortige Bildaufnahme und Kennzeichnung für eine spätere Auswertung. Sehr entscheidend für eine hohe Messgenauigkeit ist, dass die Kamera im linearen Bereich arbeitet, also keine unter- oder überbelichteten Bildstellen erzeugt. Die Einstellung der Kamera oder Beleuchtungsintensität kann noch vor der ersten Aufnahme erfolgen.

Je nach Verlauf des Intensitätsprofils vom Medium zur Diatomeenschale (hell nach dunkel bei $n_{Medium} < n_{Objekt}$) wird die nächste Testsubstanz nach Verdunstung des Mediums ausgewählt und auf den Objektträger getropft. Es entsteht so eine Bildreihe mit unterschiedlichem Helligkeitsverlauf und einer Intensitätsumkehr (Abb. 4–7).

Auswertung einer Messreihe

Sind auf die beschriebene Weise mindestens drei, besser aber fünf oder mehr solcher Bilddokumente auch mit einer Helligkeitsumkehr gespeichert, so kann die Auswertung des Helligkeitsprofils beginnen. Hierzu wird ein aus



Abb. 4–7: Gomphonema acuminatum in Isopropanol und Toluol mit unterschiedlicher Mischung und somit auch unterschiedlichen Brechungsindices von nD = 1,4035 (Abb. 4), nD = 1,4190 (Abb. 5), nD = 1,4555 (Abb. 6) und nD = 1,4766 (Abb. 7).

Abb. 8: Gomphonema acuminatum in einem Medium mit nD = 1,4035. Eingezeichnet ist eine Messlinie, welche durch das Programm FITSWORK in der Intensität ausgewertet wird. – Abb. 9: Intensitätsprofil der in Abbildung 8 markierten Linie in skalierter, grafischer Form. Hieraus wird zwischen Maximum und Minimum der Intensitätssprung abgelesen.



dem Bereich der Astronomie bekanntes (freeware) Programm mit dem Namen FITSWORK genutzt. Dieses Programm erlaubt es, in einfacher Weise ein Intensitätsprofil längs einer frei wählbaren Linie zu erstellen und den Intensitätsverlauf als Grafik abzuspeichern.

In Abbildung 8 ist die Messlinie eingezeichnet, welche dann durch das Programm ausgewertet und in grafischer Form inklusive Skalierung dargestellt wird (Abb. 9). Interessant ist nur der Intensitätssprung von hell nach dunkel. Er beträgt im Beispiel 220 - 57 = 163 Pixel für ein Medium mit nD = 1,4035. Als Vereinbarung wird bei einem Verlauf von hell nach dunkel (vom Medium zum Diatomeenkörper) ein negativer Zahlenwert benutzt, das heißt, für diese Messung der Wert -163.

Somit ist das erste Zahlenpaar (-163 bei nD = 1,4035) gefunden. Jetzt ist es sinnvoll, weitere Messungen an anderen Stellen dieser Kieselalge

vorzunehmen, um ein ausgewogenes Ergebnis zu erhalten. Wichtig ist, dass nur an solchen Stellen gemessen wird, wo die Kieselalge auch scharf abgebildet erscheint.

Wie viele Einzelmessungen erstellt werden müssen, hängt von der Streuung der Ergebnisse ab; Messungen sollten aber minimal an zwei Stellen erfolgen. Es gilt jetzt alle Bilddokumente auszuwerten, was immer ein Zahlenpaar aus Intensitätswert und Brechwert beinhaltet.

Berechnung des exakten Brechungsindex der Diatomeenschale

Hat man nun eine Zahlenkolonne aus 10 oder besser 20 Wertepaaren ermittelt, so erfolgt eine lineare Regressionsrechnung nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate, ein von Carl Friedrich Gauß entwickeltes Verfahren, mit dem beliebige Wertepaare durch eine Linearkombination



Abb. 10: Mathematische Auswertung und grafische Darstellung der gewonnenen Messpunkte. Beim Helligkeitsverlauf "O" kann der gesuchte Brechwert durch die Gerade ermittelt werden, beziehungsweise es wird der Wert der Konstanten nach der Regressionsrechnung abgelesen.

Gemessene Diatomeen	Brechwert nD	Korrelations- koeffizient	Standard- abweichung	Anzahl der Messungen
Amphipleura pellucida	1,475	0,993	0,0048	13
Bacillaria paxiliffer	1,465	0,992	0,0054	16
Coscinodiscus marginatus, fossil Newport-Beach CA	1,392	0,993	0,0021	16
Fragilaria affinis	1,443	0,998	0,0014	6
Gomphonema acuminatum	1,438	0,996	0,0014	20
Melosira nummuloides	1,447	0,997	0,0016	15
Navicula lyra, fossil Newport-Beach CA	1,408	0,968	0,0064	10
Nitzschia siama	1,442	0,990	0,0058	17
Pleurosiama anaulatum, Solequelle	1,463	0,997	0.0021	16
Pleurosigma angulatum aus Teneriffa	1,399	0,994	0,0040	14

Tabel	le	1:	Brec	hwertr	nessui	ngen	versc	niec	lener	Dia	tome	enc	irte	en
-------	----	----	------	--------	--------	------	-------	------	-------	-----	------	-----	------	----

approximiert werden können. Die Berechnung liefert nicht nur den gesuchten Brechwert, sondern auch eine Standardabweichung und den Korrelationskoeffizienten. Programme hierfür findet man in reicher Zahl im Internet.

In Abbildung 10 wird am Beispiel von Gomphonema acuminatum mit 20 Messungen und fünf unterschiedlichen Testmedien gezeigt, wie sich ein recht genauer Brechungsindex von nD = 1,439 und einer Standardabweichung von 0.0014 ermitteln lässt. Da man den Brechwert für den Fall der Unsichtbarkeit der Diatomeenschale im Medium sucht, das heißt Helligkeitsverlauf = 0 und somit $n_{Medium} = n_{Diatomeen}$, ist der Wert für den Koeffizienten unwichtig und nur die Konstante mit 1,43864 entspricht dem gesuchten Brechungsindex. Ein Korrelationskoeffizient von >0,9 wird bereits als sehr hoch bezeichnet. Im Beispiel darf also von einer sehr exakten Messung ausgegangen werden, was auch durch die geringe Standardabweichung bestätigt wird.

Zusammenstellung gemessener Diatomeenschalen und Ausblick

Bereits die kleine Auswahl einiger gemessener Diatomeen (Tabelle 1) zeigt, dass es keinesfalls einen so engen Bereich der Brechungsindizes, wie er in der Literatur beschrieben wird, gibt, und dass sich dieses Ergebnis mit weiteren Untersuchungen noch ausweiten wird. Zudem ist der Brechungsindex stark davon anhängig, von welchem Fundort das Material stammt (Beispiel *Pleurosigma*). Es wird auch ersichtlich, wieso *Amphipleura pellucida* mit einem sehr hohen Brechwert oft als kontrastarm beschrieben wird. In weiteren Untersuchungen mit Fluoreszenzbeobachtungen wurde auch sichtbar, dass gerade fossile Diatomeen teilweise stark fluoreszierende Stoffe mit in die Schale eingebaut haben. Vielleicht ergibt sich hier ein Zusammenhang mit dem geringeren Brechungsindex dieser Diatomeen.

Das vorgestellte Verfahren sollte grundsätzlich mit jedem Phasenkontrast-Mikroskop nachvollziehbar sein. Einziger kritischer Punkt ist die Dokumentation mit einer Digitalkamera. Nur wenige Kameras erlauben die volle Steuerung aller Parameter; wichtig sind die lineare Intensitätsübertragung und das Abschalten einer Komprimierung der Bilddaten. Viele Kameras für den astronomischen Sektor erfüllen jedoch diese Forderung in vollem Umfang. Zudem haben diese Kameras keinen mechanischen Verschluss und erzeugen keine Spiegel- oder Verschlussartefakte, welche bei diesen Vergrößerungen bereits zu Störungen führen können.

Vielleicht regt dieser Beitrag die Neugier mancher Leser an und trägt dazu bei, die Skala der Brechwerte bei Diatomeen noch zu erweitern.

Literaturhinweise

- Bertzen, G., Müller R.: Diatomeen: Präparation und Ökologie. Praktikumsskript der Ökologischen Station in der Jugendherberge Sorpesee, 2002.
- Göke, G.: Moderne Methoden der Lichtmikroskopie. Franckh'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart 1988.
- Meller, A.: Einschlußmittel mit hohem Brechungsindex für Diatomeen. Mikrokosmos 74, 55–60 (1985).
- Mütze, K.: ABC der Optik. Verlag Werner Dausien, Hanau/Main 1960.

Verfasser: Dipl. Ing. Peter Höbel, Im Föhrenwald 35, 91054 Erlangen, E-Mail: peter.hoebel@t-online.de, Internet: www.mikroskopie-ph.de

MIKROKOSMOS

Bakterien als Produzenten

Claudia Keil

Sie sind klein und vollbringen doch Großes: Mikroorganismen. Darunter finden sich auch Bakterien, die seit Jahrhunderten für verschiedene Produktionszwecke von Lebens-, Futter- und Genussmitteln eingesetzt werden. Schon vor 8.000 Jahren nutzten die Sumerer in Mesopotamien die Fähigkeit der alkoholischen Gärung von Hefen zum Brauen von Bier. Seit 6.000 Jahren wurden in Ägypten unbewusst Milchsäurebakterien in Form von gesäuertem (gegorenem) Mehlbrei zum Backen von lockerem Brot eingesetzt.

ls der Mensch begann Schafe, Ziegen und Rinder zu zähmen und die Milch seiner Haustiere zu nutzen, lernte er, dass länger haltbare Sauermilch (Dickmilch) entsteht, wenn frische Milch einige Zeit stehen blieb. In frisch gemolkener Milch können sich Milchsäurebakterien sehr schnell vermehren und den darin enthaltenen Milchzucker (Laktose) zu Milchsäure (Laktat) vergären. Diese Ansäuerung unterdrückt das Wachstum von Fäulnis- und Krankheitserregern und dient damit der Konservierung.

Weitere alte Fermentationsverfahren zur Haltbarmachung und besseren Verdaulichkeit von Lebensmitteln, an denen Milchsäurebakterien beteiligt sind, ist das Einsäuern von Kohl (Sauerkraut) und Gurken sowie die Herstellung von Käse und haltbaren Rohwürsten wie Salami und Zervelatwurst.

Mikroorganismen als Rohstoff-Produzenten

Seit einiger Zeit versucht die Weiße Biotechnologie Mikroorganismen auch zur Produktion von Enzymen, Antibiotika, Impfstoffen, Vitaminen, anderen Proteinen oder Kohlenstoffverbindungen einzusetzen, die durch chemische Verfahren nur schwer, teurer oder gar nicht herzustellen sind. Dadurch könnten Produktionskosten um bis zu 50% sinken, da die Unternehmen durch Mikroorganismen auf den Einsatz teurer Chemikalien beziehungsweise erdölbasierter Produkte verzichten können.

Ein Beispiel für die biotechnologische Herstellung eines ersten, pharmazeutisch relevanten Proteins ist das Insulin. Aufgrund des steigenden Insulinbedarfs sowie der schlechteren Verträglichkeit und Allergien begann man in den

Mikrokosmos 98, Heft 2, 2009 www.elsevier.de/mikrokosmos 80er Jahren Insulin mit Hilfe von transgenen Bakterien und Hefen zu produzieren anstatt es, wie seit 1923 üblich, aus der Bauchspeicheldrüse von Schweinen und Rindern zu gewinnen. Bei der transgenen Herstellung von Insulin wird das Gen für dieses Hormon aus menschlichen Zellen isoliert und in Bakterien (*Escherichia coli*) oder Hefepilzen (*Saccharomyces cerevisiae*) eingebaut. Die so gentechnisch umprogrammierten Zellen produzieren ein dem menschlichen Insulin nachempfundenes Molekül, welches sich nicht wie Schweine- oder Rinderinsulin in seiner chemischen Struktur vom menschlichen unterscheidet und damit besser verträglich ist (Abb. 1).

Für die Produktion von humanem Insulin werden beispielsweise das Strukturgen sowie die Selektions- und Steuerungselemente an die β -Galaktosidaseeinheit von *E. coli*-Bakterien angehängt, so dass die Zellen ein Fusionsprotein produzieren. Dieses Fusionsprotein wird nun durch proteinchemische Aufarbeitung, enzymatische Abspaltung der nicht benötigten Peptidsequenzen und oxidative Kopplung der Schwefelbrücken zu Humaninsulin überführt.



Abb. 1: Insulin, links Schweineinsulin, rechts Humaninsulin (aus: Wikipedia).



Abb. 2: Edelstahl Fermenter der Firma Binder Behälterbau (Foto: www.binder-behaelterbau.de).

Massenproduktion im Fermenter

In der Praxis werden die Bakterien in sterilisierbaren Fermentern in einer Glukose-Nährlösung vermehrt (Abb. 2). Dies erfolgt über einer Fermenterkaskade von zum Beispiel 200, 2.000 und 40.000 Litern im Hauptfermenter. Der Prozess wird dabei über die Belüftung, den Sauerstoffpartialdruck, die Temperatur und den pH-Wert gesteuert und der Vermehrungszustand über eine Trübungsmessung geprüft.

Der Ablauf der Insulinproduktion ist wie folgt (Abb. 3): Ist im Hauptfermenter die Biomasse auf circa 6 t angewachsen, wird die Biosynthese des Fusionsproteins gestartet. Nach Abschluss der Synthesephase wird die Bakteriensuspension in einen Erntebehälter überführt. Dort werden die Bakterien abgetötet, von der Nährlösung abgetrennt und mit Hilfe eines mechanischen Verfahrens in einem Hochdruckhomogenisator aufgeschlossen. Dabei wird die Zellmasse mit hohem Druck durch feine Düsen gepresst, wodurch die Zellen aufplatzen und ihren Inhalt mit dem Fusionsprotein freigeben. In den darauf folgenden Schritten werden die überflüssigen Peptide enzymatisch abgespalten. Schließlich durchläuft das Rohinsulin mehrer Filter und Reinigungsstufen, zum Beispiel eine Affinitätschromatrographie-Säule, so dass zum Schluss hoch

Fermtec-Betrieb

In Reaktoren, so genannten Fermentern, produzieren gentechnisch veränderte *E. coli*-Bakterien Humaninsulin. Haben die Zellen eine bestimmte Menge erzeugt, werden sie abgetötet.

Chemtec-Betrieb

Die abgetöteten Bakterien werden zusammengepresst und platzen. Das Produkt wird chemisch abgetrennt und das Insulin über Filter vorgereinigt.

Insultec-Betrieb/Hormone-Betrieb Im dritten Abschnitt durchläuft die Lösung mehrere Reinigungsstufen. Am Ende des Prozesses kristallisiert hoch gereinigtes Insulin aus.

Abb. 3: Ablauf der Insulinproduktion (nach: Sanofi-Aventis, www.diabetesportal.at).

gereinigtes Insulin zu den verschiedenen Insulinpräparaten weiterverarbeitet werden kann. Im Rahmen des Protein-Engineering lassen sich auch andere, künstliche Insulinvarianten mittels E. coli herstellen, bei denen gezielt Aminosäuren ausgetauscht wurden. Diese genetische Manipulation hat zur Folge, dass beispielsweise die schnelle Verfügbarkeit des subcutan (unter die Haut) injizierten Insulins erhöht beziehungsweise stark verlangsamt wird. Durch eine Beschleunigung der Verfügbarkeit von Insulin im Blutplasma können Patienten von einer schnelleren Wirkung profitieren, andererseits bedeutet eine Verlangsamung, dass das injizierte Insulin-Depot nach und nach über 24 Stunden den Wirkstoff freigibt, wodurch nur noch eine Injektion am Tag notwendig wird. Seit 2005 sind in Deutschland keine tierischen Insulin-Zubereitungen mehr zugelassen.

Literaturhinweise

- Renneberg, R. (Hrsg.): Biotechnologie für Einsteiger. Spektrum Akademischer Verlag/Elsevier Verlag, München 2006.
- http://de.wikipedia.org/wiki/Insulin
- http://www.diabetesportal.at (Sanofi-Aventis)

Verfasserin: Dr. Claudia Keil, durakult GmbH i.V., Freie Universität Berlin, Mikrobiologie, Königin-Luise-Str. 12–16, 14195 Berlin, E-Mail: ckeil@durakult.com, Internet: www.durakult.de

MIKROKOSMOS

Ein Hilfsmittel zum Einschluss in Glyceringelatine

Udo Rüterswörden

Zur Anfertigung von Präparaten von mittelfristiger Haltbarkeit, darunter auch solchen, die mit dem Gemisch nach Etzold gefärbt sind, eignet sich Glyceringelatine. Das Verfahren ist bei Dieter Gerlach (1977) beschrieben: Man erhitzt das Glas (des Objektträgers) ganz leicht über der kleinen Flamme eines Bunsenbrenners solange, bis der Brocken (Glyceringelatine) eben zu schmelzen beginnt. Es darf auf keinen Fall zu stark erhitzt werden, da sich die Masse sonst später nicht mehr verfestigt.

er an seinem mikroskopischen Arbeitsplatz keinen Bunsenbrenner zur Verfügung hat oder nicht mit offener Flamme hantieren möchte, sei auf ein anderes Hilfsmittel hingewiesen. Es handelt sich um ein Heizelement, einen PTC (Positive Temperature Coefficient) Thermistor, wie er beispielsweise von der Firma Conrad vertrieben wird. Das Bauteil wird an ein Netzteil angeschlossen. Bei Erreichen der Betriebstemperatur von 200° C erhöht es seinen Wider-

stand. Damit regelt sich die Temperatur von allein.

Das von Conrad vertriebene Bauteil (Abb. 1) ist mit einer Betriebsspannung von 12 V und einer Leistung von 150 W angegeben. Da das Datenblatt auch andere Typen nennt, ist unbedingt zu beachten, dass das dort lieferbare Bauteil nur an ein geeignetes Netzteil, nicht jedoch direkt an die Netzspannung angeschlossen werden darf. Die Leistung ist unnötig hoch; zwei der drei Heizelemente werden entnommen und

kommen ins Ersatzteillager. Mit einem Element fließen bei 13,8 V anfangs 4,8 A, bei Erreichen der Betriebstemperatur 0,57A (Abb. 2).

Das Datenblatt gibt eine Temperatur von 75-120° C bei 10 mm Abstand an. Dies ist wohl etwas hoch gegriffen. Bei dem gewählten Aufbau liegt die Temperatur unter dem angegebenen Mini-Glyceringelatine malwert. verschiedener Hersteller ist sicher zum Schmelzen zu bringen, ohne dass eine Überhitzung eintritt.

Literaturhinweis

Gerlach, D.: Botanische Mikrotechnik, 2. Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1977.

Verfasser: Prof. Dr. Udo Rüterswörden, Weissdornweg 16, 53177 Bonn

entnommen; nur das mittlere wird genutzt. – Abb. 2: Bei Erreichen der entsprechenden Temperatur schmilzt die Glyceringelatine (Pfeil).

2 Abb. 1: PTC-Thermistor der Firma Conrad. Zwei Heizelemente sind



Kurze Mitteilung

Wozu sind Blattzähne gut?

chon lange Zeit diskutieren Ökologen die Frage: Warum sind die Ränder mancher Pflanzenblätter ungeteilt, glattrandig (Abb. 1a), während bei anderen Pflanzenarten der Blattrand zerteilt, gesägt, gezähnt, gekerbt oder gebuchtet ist (Abb. 1b-g). Man hat gefunden, dass die Blattränder von Laub abwerfenden Blütenpflanzen, die vor allem auf nassen Böden, im Unterholz von Wäldern und entlang von Wasserläufen vorkommen, häufig zerschlitzt sind. Auch soll die relative Anzahl der Pflanzenarten mit zerteiltem Blattrand mit der mittleren Jahrestemperatur korrelieren. Andere Autoren haben gefunden, dass in der nördlichen Hemisphäre der Anteil der Bäume mit zerschlitztem Blattrand nach Norden hin zunimmt. So bleibt also die Frage nach der physiologischen Basis der Blattrandgestaltung offen.

Eine Gruppe amerikanischer und kanadischer Forscher haben nun an einer Pflanzenart einen Versuch zur experimentellen Klärung der Frage gemacht. Sie benutzten Chloranthus japonicus, eine tropisch-subtropische Pflanze aus der Familie der Chloranthaceae, die weitläufig verwandt mit den Pfeffergewächsen ist. Dazu haben sie die Blätter als Ganze in Methylsalicylat durchsichtig gemacht, sodass der Verlauf der Gefäße deutlich erkennbar ist. Weiterhin haben sie an Handschnitten die Struktur der Blattzähne (Abb. 1e) mit klassischen Färbemethoden untersucht. Sie fanden, dass die Fläche der Blattzähne in vollständig entwickelten Blättern weniger als 2% der Gesamtfläche ausmacht; bei jungen, noch in der Entfaltung befindlichen Blättern war der Flächenanteil 12%. Die Blattzähne ragten 2-5 mm aus der Blattfläche heraus. Sie waren frei von Lignin (negativer Nachweis mit Phlorogluzin), aber reich an Pektinen (positive Färbung mit 1%igem Alcian-Blau in 3%iger Essigsäure). Jeder Blattzahn endet in Hydathoden (Wasserspalten), und zwar mit 9-15 an der adaxialen (Ober-)Seite der Blattzähne, aber auf der abaxialen Seite fehlen sie in jungen Blättern und entwickeln sich erst später.



Abb. 1: Unterschiedliche Formen des Blattrandes. a Glatter Rand (ganzrandig, z. B. Faulbaum). b–g Zerschlitzter Blattrand: b gesägt (z. B. Brennnessel), c doppelt gesägt (z. B. Hainbuche), d schrotsägeförmig (z.B. Löwenzahn), e gezähnt (z. B. Stechpalme), f gekerbt (z. B. Alpenrose), g gebuchtet (z. B. Eiche).

Die Blätter von Chloranthus zeigten unter den Bedingungen hoher Luftfeuchtigkeit eine starke Guttation, das heißt eine Ausscheidung von flüssigem Wasser aus den Hydathoden, bedingt durch den hohen Wurzeldruck. Die Transpiration von Wasser in Dampfform durch die Spaltöffnungen reichte unter den gegebenen Bedingungen offensichtlich nicht aus, um den Wasserstrom in Gang zu halten. Die Forscher blockierten nun die Wasserspalten experimentell, indem sie diese einzeln an den Blattzähnen mit flüssigem Paraffinwachs (Schmelzpunkt 45 °C; Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) verschlossen, und dies sowohl an der Spitze an der adaxialen Seite als auch an der abaxialen Unterseite. Da der Guttationsdruck aber das Paraffin abdrückte, wurde zusätzlich ein nicht toxischer Klebstoff (Band-Ad Water Blocks Plus, Johnson & Johnson, Mississauge, Ontario, Canada) angebracht, sodass die Guttation vollständig ausgeschaltet war. Der normale Gasaustausch durch die Spaltöffnungen an der Blattlamina war nicht gestört, wie sich aus der Kontrolle der funktionierenden Photosynthese erwies. Durch die Unterbindung der Guttation kam es aber nach kurzer Zeit in den interzellulären Zwischenräumen des Mesophylls zu einem Wasserrückstau: Die Zellen des Mesophylls waren mit einem Wasserfilm

überzogen. Dies resultierte in einer Hemmung der Photosynthese, da der Gasaustausch behindert war.

Die Schlussfolgerung ist, dass die Hydathoden an den Spitzen der Blattrandzähne eine Überflutung des Mesophylls durch den Wurzeldruck verhindern, da sie den Abfluss des Wassers garantieren.

Literaturhinweis

Feild, T. S., Sage, T. L., Czerniak, C., Iles, W. J. D.: Hydathodal leaf teeth of *Chloranthus japonicus* (Chloranthaceae) prevent guttation-induced flooding of the mesophyll. Plant, Cell Environ. 28, 1179–1190 (2005).

H.F. Linskens, Nijmegen



Aus der Industrie

dura kult – Evolutions-Revolution für Mikroorganismen

Sie sind winzig und vollbringen doch Großes: Mikroorganismen wie Bakterien und Pilze sind für die Herstellung von Brot, Bier, Wein oder Käse essentiell. Seit einiger Zeit versucht die Biotechnologie Mikroorganismen auch zur Produktion von Enzymen, anderen Proteinen oder Kohlenstoffverbindungen einzusetzen, die durch chemische Verfahren nur schwer oder gar nicht herzustellen sind. Dadurch könnten die Produktionskosten um bis zu 50% sinken, da die Unternehmen durch Mikroorganismen auf den Einsatz teurer Chemikalien verzichten können. Das Problem ist, dass weniger als 0,01% aller natürlichen Mikroorganismen bisher von der Industrie genutzt werden können. Nach weiteren Mikroorganismen wird also dringend gesucht.

Bisher glich dieses Unterfangen der Suche nach der sprichwörtlichen Nadel im Heuhaufen: Zunächst werden den Mikroorganismen Teile der Erbinformation entnommen und diese dann archiviert. Wie beim Puzzlen versucht man dann, die Gensequenzen aus dem Archiv zu einem funktionierenden Organismus mit neuen Eigenschaften zusammenzusetzen. Eine zeit- und kostenaufwändige Suche, die oft nur zu instabilen oder nicht lebensfähigen Zellen führte.

Die Biologen Dr. Claudia Keil und Dr. Jens Baumgardt entwickelten zur Lösung dieses Problems durakult[®] – ein innovatives und patentiertes Bioreaktorsystem. durakult funktioniert wie ein geschlossenes System, in dem bestimmte Umweltbedingungen erzeugt werden können. Durch diesen künstlich be-

schleunigten "Evolutionsprozess" überleben und vermehren sich nur die Zellen, die optimal an die gewählten Umweltbedingungen angepasst sind und gewünschte Eigenschaften aufweisen. Da die eingestellten Umweltbedingungen den späteren industriellen Bedingungen entsprechen, sind diese Zellen sehr stabil in der Produktion. Im Unterschied zu herkömmlichen Techniken werden die Zellen mit der durakult-Technologie nicht gentechnisch verändert, sondern entwickeln ihre industriell verwertbaren Eigenschaften ganz natürlich nach den Mechanismen der Evolution. Darüber hinaus ist es mit dem durakult-Bioreaktor möglich, gentechnisch manipulierte Mikroorganismen weiter zu optimieren, um ihre neuen Eigenschaften stabil ins Erbgut zu integrieren. Um dieses innovative Produkt in den kommenden Monaten erfolgreich auf den Markt zu bringen, sucht das Team von durakult noch Kooperationspartner aus den Bereichen der Chemikalien- und Lebensmittelherstellung, die mit ihnen industrierelevante Entwicklungsaufträge in Angriff nehmen möchten.

Nähere Informationen und Kontakt: Dr. Claudia Keil und Dr. Jens Baumgardt, Freie Universität Berlin, Mikrobiologie, Königin-Luise-Str. 12–16, 14195 Berlin, Tel.: 0 30/ 8 38 53 110, E-Mail: ckeil@durakult.com, Internet: www.durakult.com

Nicht alle Blumen welken – Die Zellkerne in alternden Blütenblättern

Eberhard Schnepf

Die Lebensdauer von Blütenblättern ist begrenzt. Meist schon Tage, manchmal Stunden nach dem Öffnen der Blüte naht ihr Ende. Sie welken oder werden vor dem Welken abgeworfen. Wann und wie degenerieren die Zellkerne dabei? In manchen Pflanzen bald, in anderen erst sehr spät oder fast gar nicht. Schließlich werden sie oft pyknotisch, das Chromatin kondensiert.

osen, Tulpen Nelken, alle Blumen welken ... Dieser Vers für das Poesiealbum ist schön, aber falsch. Zwar ist die Lebensdauer von Blütenblättern begrenzt, alternde Blütenblätter von Stiefmütterchen, Glockenblumen, Amaryllis und vielen anderen Pflanzen welken, zerknittern, fallen in sich zusammen, vertrocknen schließlich. Aber andere Pflanzen werfen die Blütenblätter oder die ganzen Blütenkronen ab, wenn diese noch ganz normal aussehen und voll turgeszent sind. Beispiele dafür sind Forsythien, Kirschen und Holunder. Die Blütenblätter mancher Pflanzen beginnen an der Spitze zu welken oder sich einzurollen, sind aber basal noch turgeszent, wenn sie abgeworfen werden.

Die Blütentypen und ihre Physiologie

Van Doorn (2001) hat über 200 Arten geprüft, ob sie dem Welketyp, dem Abwurftyp oder dem Zwischentyp angehören, und wie ihre Blüten auf das Phytohormon Ethylen reagieren. Der Abwurf der Blütenblätter wird durch Ethylen beschleunigt, das Welken nur bei manchen Pflanzen, bei anderen nicht. Das Welken der Blütenblätter am Ende ihres Daseins, vor dem Abtrennen, ist ein Zeichen von Seneszenz, von programmiertem Zelltod. Im Gegensatz zu manchen anderen Autoren benutzen van Doorn und Woltering (2004), die führenden Wissenschaftler auf diesem Gebiet, die beiden Begriffe synonym. Sie haben kürzlich ein ausführliches Review über die Physiologie und Molekularbiologie der Seneszenz von Blütenblättern publiziert (van Doorn und Woltering, 2008).

Beim Welketyp nehmen die Expression des Gens für eine Cystein-Protease, der Protein-Abbau und der Abtransport von Aminosäuren in

den Blütenblättern der Inkalilie (Alstroemeria) dramatisch zu (Wagstaff et al., 2002). Diese Prozesse beginnen ganz früh. Andere Proteasen bleiben in ihrer Aktivität unverändert. Ähnliche Befunde hat man bei Petunien und Trichterwinden (Ipomoea) gemacht. Auch lösliche Proteine, anorganische Kationen und Zucker werden abtransportiert. Phospholipide werden abgebaut, wodurch schließlich die Membranen geschädigt und zerstört werden. Tonoplast und Plasmalemma verlieren ihre Semipermeabilität, der Vakuolensaft tritt aus. Deshalb werden die Finger durch Anthocyane gefärbt, wenn man ein verwelkendes Blütenblatt einer Amaryllis anfasst. Bei den Pflanzen, die ihre Blütenblätter vor dem Welken abwerfen, wird davor nur wenig Protein abtransportiert. Bei ihnen werden Enzyme synthetisiert und zur Sollbruchstelle hin sezerniert, die dort die Zellwände andauen. Das wird durch Ethylen reguliert (van Doorn und Steadt, 1997).

Kernveränderungen beim Welke-Typ

Ob, wann und wie sich die Zellkerne in alternden Blütenblättern verändern, lässt sich leicht mikroskopisch untersuchen, beispielsweise durch Färbungen mit Karminessigsäure. Ein Beispiel für die Kerndegeneration in welkenden Stiefmütterchen-Blüten ist kürzlich im MIKROKOSMOS gezeigt worden (Schnepf, 2007). Die Chromozentren verschwinden, das Chromatin wird schaumig, klumpt sich aber auch zusammen, und schließlich verschrumpeln und fragmentieren die Kerne.

In alternden Amaryllis-Blüten verwelken die Spitzen der Blütenblätter etwas schneller als die basalen Teile. In den welkenden Bereichen sind



Abb. 1–12: Kerne aus Blütenblättern, gefärbt mit Karminessigsäure, aufgehellt mit Phenol. Vergr. 580fach. – Abb. 1 und 2: Amaryllis. – Abb. 1: Offene Blüte. Zellen mit großen Kernen und viel (unzureichend fixiertem) Cytoplasma. – Abb. 2: Blüte verwelkt. Zellen mit stark geschrumpften Kernen und kondensiertem Chromatin; Cytoplasma weitgehend verschwunden.

die Kerne viel kleiner und kompakter (Abb. 1) als in den turgeszenten Zellen von offenen Blüten (Abb. 2). Diese pyknotische Degeneration ist ein Indiz für einen DNA-Abbau und für den programmierten Zelltod. Nicht ganz so drastisch verändern sich die Kerne der Schließzellen von Spaltöffnungen. Wie ein Vergleich von Abbildung 1 und 2 zeigt, ist das Cytoplasma in den alten Zellen fast verschwunden. Ähnliche Fälle von Kerndegeneration in seneszenten Blütenblättern beschreiben Yamada et al. (2006).

Kernveränderungen beim Abwurf-Typ

Ein ganz frühes Zeichen für das nahende Ende der Blütenblätter ist, dass die Nukleolen kleiner werden und verschwinden. Die Proteinsynthese wird heruntergefahren. Das ist auch bei den meisten Pflanzen zu beobachten, bei denen die Blütenblätter vor dem Welken abfallen. Gibt es auch bei diesen Pflanzen Anzeichen für einen programmierten Zelltod? Das haben Yamada et al. (2007) bei einer japanischen Kirsche (Prunus yedoensis) und einem Rittersporn (Delphinium belladonna) untersucht. Beide werfen voll turgeszente und äußerlich intakt aussehende Blütenblätter ab. Yamada et al. (2007) analysierten die Chromatin-Kondensation, die Verkleinerung des Zellkerns, die Fragmentierung der DNA und den DNA-Gehalt des Zellkerns, alles Anzeichen für einen programmierten Zelltod. Bei der Kirsche fanden sie keinen Abbau von DNA, keine Chromatin-Kondensation und keine Kernverkleinerung vor der Abtrennung der Blütenblätter. Beim Rittersporn verkleinerte sich hingegen der Kern vor der Abtrennung stark, das Chromatin verklumpte und die DNA-Menge nahm drastisch ab.

Ich habe Blüten von Forsythien, Sternmagnolien und einer Mahonie (Mahonia bedei) untersucht. Diese Büsche werfen die Blütenblätter beziehungsweise Blütenkronen ab, wenn sie noch voll turgeszent sind (außer wenn sie durch Frost geschädigt wurden). Die Zellkerne in den Blütenblättern dieser drei Pflanzen sehen unmittelbar nach dem Abtrennen meist ziemlich normal aus. Allerdings fehlten in einem abgefallenen Magnolien-Blütenblatt, das aber noch weiß und turgeszent war, die Nukleolen. Die Kerne waren etwas kleiner geworden (Abb. 3 und 4). Auch hier war das Cytoplasma in den alten Zellen weitgehend verschwunden. Sogar in einem Magnolien-Blütenblatt, das schon mehr als einen Tag auf der Erde lag und sich braun verfärbt hatte und dessen Zellen kollabiert und anscheinend tot waren, hatten sich



Abb. 3 und 4: Sternmagnolie. – Abb. 3: Blüte gerade geöffnet. Kerne mit kleinem Nukleolus, Cytoplasma (unzureichend fixiert) geschrumpft, aber gut erkennbar. – Abb. 4: Blütenblatt abgefallen, aber noch turgeszent. Kerne etwas verkleinert, ohne Nukleolus. Cytoplasma reduziert.

110 E. Schnepf



Abb. 5 und 6: Kürzlich abgefallenes Blütenblatt von einer Tulpe, die in einer Vase stand. – Abb. 5: Basaler Bereich, noch voll turgeszent. Kerne nicht degeneriert. – Abb. 6: Apikaler Bereich, beginnendes Welken. Kerne bizarr verformt. – Abb. 7 und 8: Tulpe im Freiland, Blütenblatt vor etwa zwei Tagen abgefallen. – Abb. 7: Basaler Bereich, noch turgeszent. Kerne noch nicht degeneriert. – Abb. 8: Mehr apikaler Bereich. Kerne aufgedunsen, mit aufgelockertem Chromatin.

die Kerne kaum verändert. Bei diesen drei Sträuchern ist das nahende Sterben der Blütenblätter also nicht mit einer auffälligen Kerndegeneration verbunden.

Kernveränderungen bei Tulpen

Viele Tulpensorten werfen die Blütenblätter ab, wenn diese apikal zu welken beginnen und sich dort einrollen, basal aber noch voll turgeszent sind. Von einem gerade abgefallen Blütenblatt einer Tulpe, die in einer Vase stand, stammen die Abbildungen 5 und 6. Im basalen Teil sahen die Kerne recht normal aus (Abb. 5). Im stärker gealterten apikalen Bereich hatten die Kerne bizarre Formen angenommen (Abb. 6). Degenerationserscheinungen dieser Art sind allerdings nicht die Regel. Das Blütenblatt, von dem die Abbildungen 7 und 8 stammen, lag etwa zwei Tage nach dem Abfallen auf der Erde. Es war apikal schon ziemlich verschrumpelt, basal aber noch turgeszent. Hier waren die Kerne kaum verändert (Abb. 7). Apikal waren sie hingegen aufgedunsen und das Chromatin war aufgelockert, fast schaumig (Abb. 8).

Bei einem Blütenblatt, das noch länger auf der Erde lag und schon von einzelnen Pilzhyphen überwachsen war, hatten sich die Kerne verkleinert und abgeplattet, das Chromatin war immer noch schaumig aufgelockert (Abb. 9). In wohl schon toten Zellen ist das Chromatin schließlich kondensiert, wird pyknotisch (Abb. 10).

Nicht nur die Kerne der Epidermiszellen degenerieren, wenn auch spät, natürlich auch die Kerne der lang gestreckten Zellen, welche die Abb. 9: Tulpe, Blütenblatt vor etwa zwei Tagen abgefallen. Apikaler Bereich, völlig verschrumpelt. Kerne mit ziemlich schaumigem Chromatin. – Abb. 10: Tulpe, Blütenblatt stark verwelkt, basaler Bereich. Kern pyknotisch, Chromatin stark kondensiert. Zelle wohl schon tot.





Abb. 11 und 12: Kerne aus Zellen, welch die Leitungsbahnen begleiten. – Abb. 11: Blütenblatt vor etwa zwei Tagen abgefallen. Kerne noch recht normal aussehend. – Abb. 12: Stark verwelktes Blütenblatt. Kerne verformt.

Leitungsbahnen begleiten. Die Kerne aus dem Blütenblatt, das zwei Tage auf der Erde lag, sehen noch recht normal aus (Abb. 11). Später wird auch hier das Chromatin schaumig und die Kerne verformen sich stark (Abb. 12).

Zwei Schlussbemerkungen: In Blütenblättern, die vor dem Welken abgeworfen werden, muss es nicht gleich nach der Abtrennung zu einer dramatischen Kerndegeneration kommen. Die Blumenindustrie ist sehr daran interessiert, das Welken ihrer Ware, unter anderem durch eine spezifische Hemmung von Proteasen (Pak und van Doorn, 2005) aufzuhalten. Deshalb werden diese Abläufe gerade in den Niederlanden intensiv untersucht.

Literaturhinweise

- Pak, C., van Doorn, W. G.: Delay of *Iris* flower senescence by protease inhibitors. New Phytol. 165, 473–480 (2005).
- Schnepf, E.: Endoreduplikation beeinflusst die Größe und das Differenzierungspotential von Pflanzenzellen. Mikrokosmos 96, 367–377 (2007).
- van Doorn, W. G.: Categories of petal senescence and abscission: a re-evaluation. Ann. Bot. 87, 447–456 (2001).

- van Doorn, W. G., Steadt, A. D.: Abscission of flowers and floral parts. J. Exp. Bot. 35, 821–857 (1997).
- van Doorn, W. G., Woltering, E. J.: Senescence and programmed cell death: substance or semantics. J. Exp. Bot. 55, 2147–2153 (2004).
 van Doorn, W. G., Woltering, E. J.: Physiology and
- van Doorn, W. G., Woltering, E. J.: Physiology and molecular biology of petal senescence. J. Exp. Bot. 59, 453–480 (2008).
- Wagstaff, C., Leverentz, M. K., Griffiths, G., Thomas, B., Chanasut, U., Steadt, A. D., Rogers, W. J.: Cystein protease gene expression and proteolytic activity during senescence of *Alstroemeria* petals. J. Exp. Bot. 53, 233–240 (2002).
- Wagstaff, C., Malcolm, P., Rafiq, A., Leverentz, M., Griffiths, G., Thomas, B., Stead, A., Rogers, H.: Programmes cell death (PCD) processes begin extremely early in *Alstroemeria* petal senescence. New Phytol. 160, 49–59 (2003).
- Yamada, T., Ichimura, K., van Doorn, W. G.: DNA degradation and nuclear degradation during programmed cell death in petals of *Antirrhinum*, *Argyranthemum*, and *Petunia*. J. Exp. Bot. 57, 3543–3552 (2006).
- Yamada, T., Ichimura, K., van Doorn, W. G.: Relationship between petal abscission and programmed cell death in *Prunus yedoensis* and *Delphinium belladonna*. Planta 226, 1195–1205 (2007).

Verfasser: Prof. Dr. Eberhard Schnepf, Dürerweg 11, 69168 Wiesloch

Kieselalgen aus dem Nordseewatt

Joachim Hormann

Das europäische Wattenmeer erstreckt sich von Holland bis nach Dänemark. Es beherbergt nicht nur den bekannten Wattwurm, sondern ist auch ein einzigartiger amphibischer Lebensraum Tausender weiterer Tier- und Pflanzenarten. Seine Biomasse je Flächeneinheit soll größer sein als die des Regenwaldes. An der Nordsee sind alle drei Wattarten vertreten: Sand-, Misch- und Schlickwatt mit ihrer unterschiedlichen Korngröße. Manchmal sind in Kleinbiotopen alle drei Arten und Übergangsformen daraus vorhanden.

ei Niedrigwasser ist das Watt mit einem hauchdünnen hell- bis dunkelbraunen Kieselalgenrasen überzogen. Bei ablaufendem Wasser wandern die Algen am Tage aus



Abb. 1: Das Watt bei Keitum/Ost-Sylt.

dem Boden heraus, um Photosynthese zu betreiben. Dieser Algenrasen ist bei ruhigem Wetter ein bis zwei Stunden nach dem Trockenfallen zu erkennen. Bei Flut sind die meisten Kieselalgen wieder im Boden verschwunden und vor ihren Fressfeinden geschützt. Die Literatur gibt eine Individuendichte pro Quadratzentimeter von 0,5 bis 3 Millionen an, bei bis zu 40 Arten. Es treten hauptsächlich die Gattungen Gyrosigma, Navicula, Nitzschia, Pleurosigma, Pinnularia, Stauroneis und Surirella auf.

Probenentnahme

Die entnommenen Proben stammen aus dem Keitumer Schlickwatt an der Ostküste Sylts (Abb. 1), etwa ein bis zwei Meter von der



Abb. 2: Wattboden geschlämmt. Viel organische Beimischung, sehr feine Sandkörnung. Diatomeen. Übersichtsaufnahme mit Objektiv 2,5×. – Abb. 3: Starke Schaumbildung bei Behandlung der Schlickwattprobe mit Wasserstoffperoxid auf Grund des hohen organischen Anteils.



Abb. 4: Verschiedene ausgelesene Kieselalgen, Objektiv 40×. Unter den Kieselalgen können frei bewegliche Boden-Diatomeen zu finden sein, wie die Naviculaceen und Surirellaceen, aber auch Arten, die als Aufwuchs an Sandkörnern angeheftet sind, sowie reine Schalen aus alten Sedimenten.

Hochwasserlinie entfernt. Mit einer Messerklinge hebt man den Kieselalgenrasen ab, ohne allzu viel Wattboden mit einzusammeln. Viele Arten sondern beträchtlich Schleim ab, sodass es kaum gelingt, einen reinen Algenrasen ohne Substrat zu erhalten, was die spätere Präparation erschwert.

Aufbereitung der Proben

Die Vorgehensweise hängt etwas davon ab, welche Art des Wattbodens man als Verunreinigung mit eingetragen hat. In jedem Fall dürfte ein gewisser Anteil Sand nicht zu vermeiden sein. Selbst im Schlickwatt ist eine beträchtliche Menge Sand enthalten, wenn auch in sehr feinkörniger Form (Definition des Schlickwatts: Korngröße <0,06 mm). Man kann versuchen, mit Absetzen und Dekantieren zum Ziel zu kommen oder bei größeren Formen über einem Sieb mit 56 µm Maschenweite zu Schlämmen (Abb. 2). Dabei bleiben allerdings viele Exemplare an den Sandkörnern kleben.

Zumindest bei Proben aus dem Schlickwatt kommt man meines Erachtens um die klassische

Methode der Aufbereitung mit Säuren unter labormäßigen Bedingungen nicht herum, falls man reine Schalen erhalten will (Abb. 3 und 4). Dies wurde schon oft beschrieben, so beispielsweise in dem Sonderheft der Naturwissenschaftlichen Vereinigung Hagen e. V. *Einführung in die Präparation der Diatomeen* (1993).

Der Grundsatz "wenig Material, aber viel Chemie im Becherglas" ist beim Wattboden besonders angezeigt.

Literaturhinweise

- Brockmann, Ch.: Die Watt-Diatomeen der schleswig-holsteinischen Westküste. Abhandlung der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft, E. Schweizerbart, Stuttgart 1950.
- Naturwissenschaftliche Vereinigung Hagen: Einführung in die Präparation der Diatomeen. Hagen 1993.

Internetseiten

- www.schutzstation-wattenmeer.de/wissen/bodenmikroalgen
- www.lighthouse-foundation.org/index.php?id=71

Verfasser: Joachim Hormann, Arndtstr. 34, 70197 Stuttgart, E-Mail: johormann@t-online.de

Digitale Blitzlichtfotografie in der Auflichtmikroskopie am Beispiel von Seifenhäuten

Karl E. Deckart

Zur digitalen Fotografie – auch mit dem Schwerpunkt Blitzlichtfotografie – haben wir im MIKROKOSMOS bereits einige Beiträge veröffentlich. In diesem Beitrag werden nun allerdings besondere Aspekte betrachtet. Es wird nicht mit üblicher Durchlicht-, sondern Auflichtmikroskopie gearbeitet, was am speziellen Objekt liegt, nämlich den sehr fragilen Seifenhäuten. Unser Autor hat im folgenden Artikel seine Erfahrungen zusammengestellt.

o gut die besten digitalen Spiegelreflexkameras auch sein mögen, in der Regel können sie ihre Belichtung mit externen Fremdblitzen nicht automatisch steuern. Also müssen Belichtungsserien erstellt werden, um korrekte Belichtungen zu erhalten. So wie diese sehr generelle Aussage in der allgemeinen Fotografie zutrifft, ist sie auch in der Mikrofotografie zwingend notwendig.

Ich bin gut vertraut mir der Problematik des Fotografierens von Seifenhäuten im Makrobereich M 1:1 auf 4 × 5 Inch Planfilm. Aus diesem Wissen heraus wurde der Wunsch nach Mikroaufnahmen von Seifenhäuten geboren. Auch hier gelten die gleichen Bedingungen: Geeignete Rezeptur, wabernde Farbspiele, mehr oder mindere Kurzlebigkeit, Belichtungsserien und alle der Mikrofotografie anhängende Schwierigkeiten. Zusätzlich muss man wissen, dass die der Seifenhaut eigene Farbe nur in der Totalreflexion ihre Schönheit preisgibt. Zurückblickend ist das Ergebnis sehr einfach, logisch und nachvollziehbar aber manchmal ist eben der Weg doch sehr steinig!

Benötigte Gerätschaften

Ich besitze ein ausgezeichnetes Baukasten-Marken-Mikroskop und neuerdings eine der besten digitalen Spiegelreflexkameras (SLK). Sogar die mechanischen Anschlüsse sind systemkonform und aufeinander abgestimmt. Folgende Gerätschaften (Abb. 1) kamen zum Einsatz: Nikon OPTIPHOT Auf-/Durchlicht mit eingebautem Zentralverschluss; Belichtungsautomat mit X-

Mikrokosmos 98, Heft 2, 2009 www.elsevier.de/mikrokosmos Sychronisation; Regeltrafo; Doppelkondensor von Stahlschmidt für Auflicht; Metz-Blitz T30, umgebaut von Stahlschmidt; diverse Graufilter; Fokussierlupe; Kamera: Nikon D3-Gehäuse mit Kabelauslöser.

Bei dieser guten Ausrüstung denkt man, alles ist ganz einfach: Kamera auf das Mikroskop



Abb. 1: Die zur digitalen Blitzlichtfotografie von Seifenhäuten in der Auflichtmikroskopie verwendeten Gerätschaften.

adaptieren, Seifenhaut im Spezialrahmen darunterlegen und auf den Auslöser drücken. Jedoch bereits hier stellen sich erste Fragen:

- Belichtet man mit dem kameraeigenen Verschluss, wobei der mikroskopeigene vor und nach der Belichtung natürlich geöffnet sein muss, oder
- benutzt man die SLK als so genannte Kammer und belichtet mit dem Belichtungsautomaten des Mikroskops? So muss während der Belichtung der Kameraverschluss natürlich geöffnet sein.

Der erste Versuch

Im ersten Versuch wurde bei offenem Mikroskopverschluss mit dem Kameraverschluss belichtet, jedoch ohne Blitz, im Glauben die Bewegung des Waberns sei so gering, dass sie mit kurzer Belichtungszeit beherrschbar sei. Die Ergebnisse belehrten mich eines Besseren. Konversionsfilter und die 100 Watt Beleuchtung reichten bei weitem nicht aus, um zu befriedigenden Ergebnissen zu kommen.

Der zweite Versuch

Dann kam die zweite der oben genannten Methoden zur Anwendung: Die SLK wurde auf 20 sec Langzeitbelichtung eingestellt und in die jetzt offene Kamera mittels Mikroskopverschluss belichtet, gesteuert durch den systemeigenen Belichtungsautomaten. Als Erstes stellten sich die oben genannten Hindernisse genau so wie erwartet ein. Zusätzlich war das Schwingen und Nachschwingen des Gehäuses durch die Spiegel- und Verschlussbewegung so gravierend, dass auch diese Methode nicht zum Erfolg führen konnte.

Der dritte Versuch

Hier wurde versucht, mittels eines halb durchlässigen Spiegels externes Blitzlicht in den Auflichtstrahlengang einzuspiegeln. Diese Methode scheiterte schließlich daran, dass das Verhältnis zwischen mikroskopeigenem Einstelllicht und externem Blitzlicht nur sehr schwer herauszufinden war. Außerdem waren die richtige Entfernung des Blitzes sowie seine Richtung von maßgeblicher Bedeutung. Allerdings hatte sich bei diesem Versuch bereits herausgestellt, dass die Belichtung mittels Mikroskopverschluss nur bei langer Öffnung der Kamera zum Erfolg führen könnte. Hierbei liefert der Kamera-Kabelauslöser das entscheidende Detail, denn nur mit ihm beziehungsweise seinem Feststeller kann man die Kamera so lange offen halten wie nötig.

Mit einem 15-Punkte Ablaufschema der notwendigen Handgriffe kam man gelegentlich zu brauchbaren Ergebnissen.

Der vierte Versuch

Jetzt endlich kam der Doppelkondensor mit integriertem Blitz zum Einsatz.

Erneute Schwierigkeiten traten auf, da weder die Kamerasensoren, noch die Sensoren des Mikroskops die Blitzmenge erkennen beziehungsweise steuern konnten. Außerdem gab es an meiner Version des Blitzes keine Möglichkeit, seine Leistung zu steuern. Es musste also immer mit voller Leistung geblitzt werden. Weiterhin gab es für den mikroskopeigenen Belichtungsautomaten zwar einen X-Synchronkontakt aber kein Kabel. Also wurde der Blitz von Hand am Blitzgerät selbst ausgelöst.

In diesem vorletzten Versuch wurden entsprechende Graufilter in den Auflichtstrahlengang gebracht, die das viel zu helle Blitzlicht abschwächten und nur die gewünschte Lichtmenge passieren ließen. Das Einstelllicht, das im Normalfall auch das Betrachtungslicht ist, wurde durch den Regeltrafo mit dem Auge auf angenehme Helligkeit eingestellt. Die mit 2.000 ASA sehr hohe Einstellung des Belichtungsautomaten bewirkte, dass ihr Einfluss bei der mikroskopinternen Belichtung so gering war, dass ihr Licht gegenüber dem immer noch extrem hellen Blitzlicht nicht ins Gewicht fiel.

Der fünfte Versuch ist das Ziel!

Im Wesentlichen entspricht der fünfte Versuch in vielen Details dem vierten Versuch, aber mit dem gravierenden Unterschied, dass durch Mithilfe des Mikroskopherstellers der X-Kontakt des Belichtungsautomaten jetzt genutzt werden kann. Man muss zwar weiterhin mit zwei Verschlüssen arbeiten, nämlich den Kameraverschluss langzeitöffnen, auf ein schönes Motiv auf der Seifenhaut warten, den Mikroskopver-



Abb. 2: Erzielte Muster- und Farbeffekte bei der Auflichtmikroskopie von Seifenhäuten.

schluss auslösen und den Kameraverschluss wieder schließen.

Resümee

Das Fotografieren von Seifenhäuten unter dem Mikroskop ist schier unerschöpflich. Auffallend ist allerdings der etwas geringere Kontrast der digitalen Aufnahmen, verglichen mit jenen aus der analogen Fotografie. Möglicherweise liegt das an der Spiegelwirkung des Aufnahmechips und dem dadurch erhöhten Streulicht im Kamerainneren. Durch Anheben des Kontrastes per Bildbearbeitung am Computer zeigt sich die Natur für den Mikroskopiker mal wieder von ihrer schönsten Seite.

Dank

Ich bedanke mich für die zahlreichen Tipps und Hinweise vieler Mikrofreunde, besonders aber bei den Herren Dr. Martin Kreutz und Rainer Mehnert.

Verfasser: Dipl.-Ing. Karl E. Deckart, Nürnberger Str. 55, 90542 Eckental, Internet: www.deckart.de

MIKROKOSMOS

Verbesserte Darstellung dreidimensionaler, transparenter Objekte in modifizierten Dunkelfeld-Techniken und digitalisiertem Interferenzkontrast

Jörg Piper

Im folgenden Beitrag sollen verschiedene Methoden vorgestellt werden, wie man durch Veränderungen der optischen Komponenten eine verbesserte Beobachtungsqualität bei der Untersuchung von dreidimensionalen, transparenten Objekten im Dunkelfeld erreichen kann. Zusätzlich sollen einige Anregungen gegeben werden, die fotografische Darstellung solcher Objekte im Interferenzkontrast durch digitale Bildbearbeitung zu optimieren und Interferenzkontrast-Bilder in Dunkelfeldansichten zu transformieren.

ikroskelette wie beispielsweise von Diatomeen und Radiolarien stellen eine spezielle Herausforderung dar, wenn deren räumliche Architektur fotografisch dokumentiert werden soll, da diese Objekte im Verhältnis zu ihrer jeweiligen Grundfläche meist eine hohe Raumtiefe aufweisen. Bei konventioneller Anwendung sind Dunkelfeld und Interferenzkontrast mit einigen technisch bedingten Nachteilen behaftet, wenn solche Objekte in ihrer Dreidimensionalität beobachtet und fotografiert werden sollen.

Im Dunkelfeld lässt sich üblicherweise keine Abblendung des beleuchtenden Strahlenganges vornehmen, weshalb die Tiefenschärfe deutlich niedriger als bei Hellfeldbeleuchtung liegt. Vor allem an Grenzstrukturen können typische Randsäume infolge von Überstrahlungseffekten entstehen. Diese sind umso ausgeprägter, je höher die optischen Dichteunterschiede im Bereich der betreffenden Grenzlinie sind. Da die beleuchtenden Strahlen von der Seite her schräg einfallen, können feine Binnenstrukturen im Inneren eines Objektes nicht immer adäquat kontrastiert werden.

Mit Interferenzkontrast können feine Innenstrukturen transparenter Objekte in der Regel deutlich dargestellt werden. Hinreichend dünne beziehungsweise flache Objekte erscheinen in Abhängigkeit von Relief und optischer Dichte dreidimensional betont. Bei dickeren räumlichen Objekten entstehen zweidimensionalere optische Schnittdarstellungen, da jeweils nur eine relativ schmale Schärfenebene bildwirksam abgebildet wird und die außerhalb des Tiefenschärfebereiches liegenden Objektstrukturen weitgehend ausgeblendet werden. Die räumliche Gesamtstruktur eines dreidimensionalen Objektes lässt sich aus einer solchen Schnittdarstellung nur eingeschränkt erschließen.

Erarbeitet wurden daher mehrere technische Ansätze, um die erwähnten Limitierungen bei der Darstellung räumlicher transparenter Objekte zu überwinden. Demonstriert werden die

Abb. 1: Erzeugung von abgeblendetem Dunkelfeld mittels Phasenkontrast-Kondensor, Blick durch

Einstell-Okular, dezentrierter Lichtring (a), Justierungen für konzentrisches (b) und exzentrisches (c) Dunkelfeld. r_i Radius der inneren Randbegrenzung des Lichtringes, r_o Radius des Objektfeldes beziehungsweise des optisch relevanten Objektivdurchmessers.



erreichbaren Effekte anhand einiger Legepräparate von Radiolarien- und Diatomeen-Skeletten. Die Bildbeispiele wurden mit Trockenobjektiven im Vergrößerungsbereich von 16× bis $50\times$ in Verbindung mit einem Leitz/Leica-Vario-Fotookular 5–12,5× unter Verwendung einer Digitalkamera Olmypus Camedia C-7070 erstellt. Bildausschnitte wurden aus den jeweiligen Originalaufnahmen bei Erfordernis herausvergrößert. Die Größenangaben der Bildlegenden beziehen sich auf die längste messbare Distanz des jeweils größten erfassten Objektes einschließlich gegebenenfalls vorhandener Zellfortsätze.

Abgeblendetes konzentrisches Dunkelfeld

Unter bestimmten technischen Voraussetzungen kann eine Dunkelfeldbeleuchtung so modifiziert werden, dass durch Abblenden des Kondensors analog zum Hellfeld eine sichtbare Tiefenschärfeverbesserung resultiert. Zusätzlich werden hierdurch die sonst vorhandenen Überstrahlungen an Grenzstrukturen wesentlich verringert. Feine Konturen können zudem durch die Abblendung klarer hervorgehoben werden.

Zu diesem Zweck wurde ein für Unendlichoptik konzipiertes Mikroskop (Leitz SM-Lux HL) mit einem herkömmlichen Universalkondensor für Phasenkontrast und Dunkelfeld bestückt, der für ein Endlich-Mikroskop gerechnet war (Leitz Phasenkontrast-Kondensor 402a nach Zernike). Dieser Kondensor war mit einem Linsenkopf versehen (NA = 0,9), dessen Schnittweite 11 mm tiefer lag als die herstellerseitig vorgesehene Kondensorkopf-Schnittweite des Unendlich-Mikroskops. Bei diesem Arrangement konnte eine qualitativ gute Dunkelfeldbeleuchtung erzielt werden, indem ein Kondensor-Lichtring in den Strahlengang eingebracht wurde, dessen Innendurchmesser (r_i) leicht über dem Objektfeld-Durchmesser beziehungsweise dem optisch wirksamen Objektiv-Querdurchmesser (r_o) lag.

Abbildung 1a stellt einen geeignet dimensionierten Lichtring in dezentrierter Position beim Blick durch eine Phasenkontrast-Einstell-Lupe dar. Abbildung 1b zeigt einen analogen Blick durch das Einstellteleskop, nachdem dieser Lichtring für konzentrische Dunkelfeld-Beleuchtung in eine zentrierte Stellung gebracht wurde.

Bei der beschriebenen Anordnung ändern sich die optischen Projektionen von Leuchtfeld- und Aperturblende im Strahlengang grundlegend. Die Köhler'sche Leuchtfeldblende wird nicht mehr in das Objektfeld projiziert, sondern sie ist optisch um eine Distanz von etwa 10 cm zurückversetzt. Experimentell kann gezeigt werden, dass eine separate Irisblende in unmittelbarer Nähe des Kondensors etwa 2 cm unterhalb der Aperturblende eingefügt werden müsste, um scharf abgebildet als Köhler'sche Leuchtfeldblende zu fungieren. In gleicher Weise verlagern sich auch die Projektionsebenen von Kollektorlinse und Lichtquelle. Die Aperturblende des Kondensors wird bei dieser Anordnung nicht mehr wie üblich in die hintere Brennebene des Objektivs projiziert, sondern in eine deutlich objektnähere Ebene, welche in einer Mittelstellung zwischen den üblichen Projektionsebenen von Leuchtfeld- und Aperturblende liegt.



Abb. 2: Radiolarien (0,40 mm). Objektiv 20×, konzentrisches, abgeblendetes Dunkelfeld. – Abb. 3: Diatomeen (0,12 mm). Objektiv 20×, konzentrisches, abgeblendetes Dunkelfeld.

Da Lichtquelle, Kollektor und Leuchtfeldblende optisch jeweils etwa 10 cm weiter als üblich vom Kondensor entfernt sind, verlaufen die beleuchtenden Strahlenbündel axialer beziehungsweise weniger schräg. Infolgedessen wird das Objekt noch von den beleuchtenden Strahlen erfasst, obgleich die Schnittweite des verwendeten Kondensorkopfes kürzer als werksseitig vorgesehen ist. Die Aperturblende des Kondensors, welche wie dargelegt zwischen Objekt und hintere Objektivbrennebene projiziert wird, kann nun innerhalb weiter Grenzen geschlossen werden, ohne dass Abschattungseffekte auftreten. Effektiv nutzbar sind etwa 2/3 ihres Verstellbereichs. Bei adäquatem Schließen der Aperturblende ergibt sich eine sehr kontrastreiche Darstellung mit optimierter Detailtreue, Konturbetonung und sichtbar gesteigerter Tiefenschärfe. Da die Beleuchtungsstrahlen weniger schräg als bei konventioneller Dunkelfeldbeleuchtung auf das Objekt treffen, können auch Strukturen im Inneren des Objektes deutlicher zur Darstellung kommen (Abb. 2 und 3).

Abgeblendetes, exzentrisches Dunkelfeld

Wenn bei der beschriebenen Anordnung der Lichtring im Kondensor minimal dezentriert



Abb. 4: Radiolarie (0,26 mm). Objektiv 20×, exzentrisches, abgeblendetes Dunkelfeld (Schrägbeleuchtung, Untergrundaufhellung). – Abb. 5 und 6: Radiolarien (je 0,24 mm). Objektiv Iris 30×, konzentrisches (Abb. 5) und leicht exzentrisches (Abb. 6) abgeblendetes Dunkelfeld. – Abb. 7: Radiolarien (0,28 mm). Objektiv 20×, Auflicht-Dunkelfeld.

wird, so dass dessen innere Randbegrenzung die äußere Grenze des Objektfeldes an einer Stelle geringfügig überlappt, ergibt sich eine schrägere Objektbeleuchtung bei aufgehelltem Hintergrund. Hierdurch kann das dreidimensionale Oberflächenrelief des Objektes deutlicher hervorgehoben werden (Abb. 4 und 6). Die Aufhellung des Bilduntergrundes ist umso ausgeprägter, je dezentrierter die beleuchtenden Strahlen verlaufen. Abbildung 1c zeigt das Prinzip dieser Beleuchtungsanordnung bei Betrachtung durch ein Justierokular. Auch hier kann die Aperturblende wie beschrieben zur Verbesserung der Schärfentiefe und Verringerung von Überstrahlungen eingesetzt werden.

Kombination mit objektivseitiger Abblendung

Beide Varianten des abgeblendeten Dunkelfeldes – konzentrische und exzentrische Beleuchtung – können auch eingesetzt werden, wenn abblendbare Objektive zur Verfügung stehen. Die Bildqualität kann in diesem Fall nach Einstellung einer optimalen Kondensor-Abblendung nochmals verbessert werden, wenn die objektivseitige Irisblende moderat geschlossen wird. Hieraus können – analog zum konventionellen Dunkelfeld – weitere Anhebungen der Tiefenschärfe und zusätzliche Verringerungen von Überstrahlungseffekten resultieren (Abb. 5 und 6).

Auflicht-Dunkelfeld

Sofern ein geeigneter Auflicht-Illuminator und spezielle Objektive für Auflicht-Dunkelfeld zur Verfügung stehen (Abb. 8), können transpa-



Abb. 8: Strahlengang eines Auflicht-Illuminators bei Auflicht-Dunkelfeld (modifiziert nach Leitz), beleuchtende Strahlen gelb, abbildende Strahlen rot.

rente Objekte auch im Auflicht-Dunkelfeld mit guten Resultaten untersucht werden, vor allem, wenn Oberflächenstrukturen dargestellt werden sollen (Abb. 7). Die Tiefenschärfe kann allerdings nicht durch Abblenden gesteigert werden. Daher sind Fotodokumente von räumlichen Objekten in befriedigender Gesamtschärfe nur erstellbar, wenn spezielle Software zur Überlagerung von Bilderstapeln eingesetzt wird (nähere Erläuterungen im Abschnitt zum Interferenzkontrast).

Im Auflicht-Dunkelfeld kann die Justierung der Lichtquelle wahlweise so verändert werden, dass entweder eine konzentrische Objektbeleuchtung nach Art eines Ringlichtes entsteht, oder die Lichtquelle kann moderat dejustiert werden, so dass sich auch im Auflicht eine exzentrische Schrägbeleuchtung aus vorzugsweise einer Richtung ergibt.

Simultane Dunkelfeldbeleuchtung im Durch- und Auflicht

Wenn ein Mikroskop für simultane Untersuchungen im Auf- und Durchlicht ausgelegt ist, können die Methoden der abgeblendeten Dunkelfeldbeobachtung im durchfallenden Licht mit einer gleichzeitigen Auflicht-Dunkelfeldbeleuchtung kombiniert werden. Zusätzliche Kontrastierungseffekte sind durch geeignete Farbfilterungen erreichbar. So kann das Objekt beispielsweise im Durchlicht-Dunkelfeld mit monochromatischem Blaulicht beleuchtet werden. Hieraus resultiert aufgrund der kurzen Wellenlänge eine sichtbare Optimierung der Schärfe und Auflösung. Gleichzeitig kann diesem monochromatischen Blaubild ein Auflicht-Dunkelfeldbild in ungefiltertem Glühlampenlicht überlagert werden. Auf diese Wiese kann eine optimierte Darstellung feiner oberflächlicher Texturen erreicht werden (Abb. 9). Indem unterschiedlich belichtete Bildpaare mittels spezieller Software (z.B. Photomatix Pro) überlagert werden, kann der sichtbare Dynamikumfang erhöht und die Farbkontrastierung weitergehend gesteigert werden (Abb. 10 und 11).

Axiale Dunkelfeldbeleuchtung mit Spiegelobjektiven

Bei Verwendung von Spiegelobjektiven kann mit einem einfachen Hellfeld-Kondensor eine



Abb. 9: Diatomeen (0,12 mm). Objektiv 20×, abgeblendetes Durchlicht-Dunkelfeld in monochromatischem Blaulicht (λ = 486 nm) und Auflicht-Dunkelfeld mit ungefiltertem Licht. – Abb. 10 und 11: Diatomeen (Abb. 11, 0,14 mm) und Radiolarie (Abb. 12, 0,30 mm), kombinierte Dunkelfeldbeleuchtung wie in Abbildung 9, Steigerung des sichtbaren Dynamikumfanges mittels Photomatix Pro.

qualitativ exzellente Dunkelfeldbeleuchtung realisiert werden, deren Tiefenschärfe den beschriebenen Dunkelfeld-Varianten noch überlegen ist. Zu diesem Zweck muss die Aperturblende des Hellfeld-Kondensors exakt zentriert und endgradig geschlossen werden. Weiterhin ist auf eine adäguate Schließung der Köhler'schen Leuchtfeldblende zu achten. Unter diesen Voraussetzungen wird das Objekt von einem zentrisch in der optischen Achse verlaufenden, schmalen Lichtstrahl rechtwinklig durchleuchtet. Sämtliche Anteile der beleuchtenden Strahlen werden innerhalb des Spiegelobjektivs durch eine konstruktionsbedingt vorhandene, zentrisch gelegene Lichtabdeckung geblockt. Die vom Objekt gebeugten und reflektierten bildgebenden Strahlen werden hingegen von der gesamten Apertur des Spiegelobjektivs erfasst. Infolgedessen leuchtet das Objekt auf tiefschwarzem Untergrund in maximiertem Kontrast hell auf. Da die beleuchtenden Strahlen bei dieser Anordnung im Unterschied zum konventionellen Dunkelfeld eine höhere Kohärenz aufweisen und nicht schräg, sondern rechtwinkligaxial auf das Objekt treffen, können auch feine Binnenstrukturen im Inneren des Objektes optimal dargestellt werden. Die Tiefenschärfe liegt sichtbar höher als bei sonstigen lichtmikroskopischen Routineverfahren, da die Aperturblende nur minimal geöffnet bleibt. Unter physikalisch-optischen Aspekten ist hervorzuheben, dass die beleuchtenden Strahlen bei dieser Anordnung in keiner Weise mit den bildgebenden Strahlen verflochten sind und die volle Apertur des Objektivs für die Bildgebung erhalten bleibt. Daher führt in dieser speziellen Situation die endgradige Abblendung des Kondensors

nicht zu sichtbaren Verringerungen von Bildauflösung und Konturschärfe.

Abbildung 12 zeigt eine schematische Strahlengangsskizze dieser Dunkelfeld-Variante am Beispiel eines 50fach vergrößernden Cooke'schen Spiegelobjektivs, mit welchem Abbildung 13 aus einem Arbeitsabstand von 15 mm (!) erstellt wurde.

Interferenzkontrast

Im Interferenzkontrast kann die Architektur eines dreidimensionalen Objektes mit hoher



Abb. 12: Strahlengang eines Cooke-Spiegelobjektivs bei axialem Dunkelfeld, beleuchtende Strahlen gelb, abbildende Strahlen rot.



Abb. 13: Radiolarie (0,30 mm). Cooke-Spiegelobjektiv 50×, axiale Dunkelfeldbeleuchtung. – Abb. 14 und 15: Radiolarien (0,30 bzw. 0,26 mm), Objektiv 16×, Interferenzkontrast, digitales Dunkelfeld.

Raumtiefe während der visuellen Beobachtung nur durch forcierte Änderungen der Schärfenebene erfasst werden. Rechnergestützt können digitale Bildrekonstruktionen mit erhöhter Tiefenschärfe erstellt werden, wenn eine Serie aus mehreren Einzelaufnahmen angefertigt wird, welche in ihrer Gesamtheit das Objekt in lückenlos aufeinanderfolgenden Schärfeebenen über seine gesamte Tiefenausdehnung abbildet. Da die räumliche Tiefenschärfe beim Interferenzkontrast besonders gering ist, müssen in der Regel relativ viele Einzelfotos erstellt werden, um sämtliche relevanten Objektebenen zu erfassen. Schon bei 16facher Objektivvergrößerung sind durchschnittlich etwa 30 Einzelaufnahmen erforderlich, um ein Mikro-Skelett in der z-Achse vollständig zu scannen. Die jeweiligen Einzelbilder können mit geeigneter Software (z. B. Combine Z 5, Helicon Focus, Picolay) zu dreidimensionalen Darstellungen überlagert werden, welche frei von störenden Unschärfen sind.

Objektseitige Details und Konturbegrenzungen können oftmals noch deutlicher akzentuiert werden, wenn das Interferenzkontrastbild in ein digitales Dunkelfeldbild umgewandelt wird, indem der Bilduntergrund mittels gängiger Bildbearbeitungssoftware geschwärzt wird (Abb. 14 und 15). Die hieraus resultierenden Vorteile, welche im Hinblick auf die Lebendfotografie einzelliger Algen bereits von anderen Autoren publiziert wurden (Steinkohl, 2008), zeigen sich auch bei Diatomeen- und Radiolarien-Skeletten.

Diskussion

Die beschriebenen Dunkelfeld-Varianten (konund exzentrisches Dunkelfeld im abgeblendeten durchfallenden Licht, Auflicht-Dunkelfeld, simultanes abgeblendetes Durch- und Auflicht-Dunkelfeld, axiales Dunkelfeld mit Spiegelobjektiven) erscheinen insgesamt geeignet, die visuelle Beobachtung und Fotodokumentation typischer Dunkelfeld-Objekte zu verbessern, vor allem im Hinblick auf eine Darstellung dreidimensionaler Strukturen. In ähnlicher Weise kann die Dokumentationsqualität interferenzkontrastmikroskopischer Aufnahmen verbessert werden, wenn mittels Bildnachbearbeitung eine Umwandlung in "digitales Dunkelfeld" vorgenommen wird. Im direkten Vergleich führen alle beschriebenen Methoden zu deutlich ausgeprägteren Steigerungen der Tiefenschärfe als eine alleinige objektivseitige Abblendung des bildgebenden Strahlenganges im konventionellen Dunkelfeld.

Die endgültige Tiefenschärfe dreidimensionaler Objekte kann meist noch weitergehend gesteigert werden, wenn aus mehreren unterschiedlich fokussierten Einzelaufnahmen Softwaregestützte, schärfeoptimierte Rekonstruktionen erstellt werden. Zusätzliche Optimierungen können aus einer Anhebung des darstellbaren Dynamikumfanges resultieren.

Wenngleich die präsentierte abgeblendete Dunkelfeldbeleuchtung anhand eines speziellen Unendlich-Mikroskops für Halbleiterinspektionen entwickelt wurde, dürften sich vergleichbare Ergebnisse auch mit anderen Unendlich-Mikroskopen erreichen lassen, wenn diese mit geeigneten Phasenkontrast-Kondensoren für Endlich-Optik bestückt werden.

Danksagung

Der Autor dankt Herrn Eberhard Raap, Sangerhausen, für die Überlassung mehrerer von ihm gefertigter Diatomeen- und Radiolarien-Präparate, welche für die durchgeführten praktischen Tests und einige Abbildungen dieses Beitrages verwendet wurden.

Literaturhinweise

- Leitz, E.: Auflicht-Illuminatoren. In: Abbildende und beleuchtende Optik des Mikroskops – Objektive, Okulare, Kondensoren. Druckschrift der Ernst Leitz Wetzlar GmbH, 36, 1969.
- Steinkohl, H. J.: Zellteilungsvorgang bei der Zieralge Micrasterias rotata. Mikrokosmos 97, 129–133 (2008).

Verfasser: Prof. Dr. med. Jörg Piper, Meduna-Klinik, Clara-Viebig-Str. 4, 56864 Bad Bertrich

Buchbesprechungen

Meier-Brook, C.: Latein für Biologen, Mediziner und Pharmazeuten, 3. Auflage. Quelle & Meyer, Wiebelsheim 2009, 81 Seiten, kartoniert, \in 8,95, ISBN 978-3-494-01457-9.

Kremer, B. P., Bannwarth, H.: Einführung in die Laborpraxis. Basiskompetenzen für Laborneulinge. Springer-Verlag, Berlin 2009, 220 Seiten, Schwarzweiß-Graphiken, broschiert, € 19,95, ISBN 978-3-540-85177-6.

Das Buch von Bruno P. Kremer und Horst Bannwarth hält genau das, was es im Titel verspricht: Es vermittelt essentielle Grundlagen für das praktische Arbeiten im Labor. In den ersten fünf Kapiteln werden Basiskompetenzen zu Sicherheit, Chemikalien, Geräten, internationalen Einheiten, Protokollieren und Dokumentieren vermittelt. In den Kapiteln 6–11 lernt man das Quantifizieren von Volumina, Temperatur, pH-Wert, Dichte und Gasen. Unter den Oberbegriffen "Lösen, Mischen, Trennen" wird in den Kapiteln Jeder, dem Latein als Grundlage für wissenschaftliche Fachbegriffe ein Anliegen ist, es aber nicht so recht beherrscht, sollte sich über dieses Bändchen freuen. Denn es ist konzipiert als kurzer Lateinkurs für alle, die kein Latein in der Schule hatten oder nur über ein



Thomas Groß, Heidelberg

(Kap. 17) und findet sehr nützliche Tabellen/Farbtafeln zu Sicherheit und Gefahren (Kap. 18).

Dieses Buch ist für Neuanfänger im Labor, seien es Studenten, Schüler oder Tüftler im Heimlabor, ein echter Glücksfall. Hier steht nicht die Theorie im Vordergrund, die man in so manchen Lehrbüchern der Chemie, Biologie oder Physik findet, sondern die ganz konkrete, praktische Anwendung von Methoden und Geräten. Anschauliche Tabellen (z.B. Einheiten, Umrechnungen, Farbkodierungen) und Graphiken (z.B. Pipettentypen, Destillationsapparatur) machen ein schnelles Nachschlagen einfach; Beispielrechnungen erleichtern die Kontrolle eigener Berechungen. Ein wirklich nützliches und dazu noch preiswertes Handbuch, das dem Laboranfänger manche Frustration ersparen kann!

Renate Radek, Berlin



12–15 der Umgang mit Lösungen, Trennverfahren, Zentrifugation, Chromatographie und Elektrophorese erläutert. Abschließend erfährt man Grundlegendes zu Analysetechniken mittels Mikroskop (Kap. 16) und Photometer

Kristalle aus Flechtenstoffen

Siegfried Hoc

Die mehr als 20.000 verschiedenen Arten von Flechten bilden Sekundärstoffe in hohen Konzentrationen und akkumulieren diese in ihrem Thallus. Mit einfach durchzuführenden mikrochemischen Reaktionen lassen sich diese durch eindrucksvolle Kristallbildungen mikroskopisch nachweisen.

lechten (Lichenes) sind eine Vergesellschaftung zwischen einem Algenpartner aus der Gruppe der Chlorophyta (Grünalgen) oder Cyanophyta (Cyanobakterien) sowie einem Pilzpartner, zumeist aus der Gruppe der Ascomycetes (Schlauchpilze), die in Symbiose leben. Es gibt auch Flechtenarten mit zwei verschiedenen Algenpartnern in einem Thallus.

Flechten finden sich in allen Erdteilen und Vegetationszonen. Sie leben entweder als Krusten-, Bart-, Blatt- oder Strauchflechten epiphytisch auf Blättern und Baumrinden oder sie siedeln epilithisch auf Steinen. Auffällig ist, dass Flechten an Extremstandorten vorkommen, so in trockenen Wüsten oder polaren Kältegebieten, in denen die meisten Pflanzen nicht oder kaum noch gedeihen können. An diesen extremen Standorten sind so genannte lichenisierte Mikroalgen meistens die dominierende Vegetationsform.

Inhaltsstoffe aus Flechten

Aber auch in anderer Hinsicht sind Flechten Extremisten. Sie produzieren große Mengen an Sekundärstoffen, die sie in hohen Konzentrationen im Thallus akkumulieren. Solche sekundären Inhaltstoffe haben im Primärstoffwechsel offenbar keine Funktion, können aber – bezogen auf das Trockengewicht einer Flechte – in Konzentrationen von 20% und mehr enthalten sein.

Die überwiegend phenolischen Säuren sind Biosyntheseprodukte der Pilzpartner. Bisher sind etwa 500 dieser chemischen Verbindungen strukturell aufgeklärt worden. Schon Anfang des 20. Jahrhunderts waren manche von ihnen bekannt und schon damals (Stahl, 1904) hat man ihnen eine Schutzfunktion zugeschrieben. Ihre Toxizität soll beispielsweise vor Schneckenfraß schützen. Bis heute ist diese Funktion jedoch nicht überzeugend belegt worden.



Abb. 1: Kristalle der Olivetorsäure aus *Pseudevernia furfuracea* in GAW. Vergr. 400fach. – Abb. 2: Kristalle der Physodsäure aus *Hypogymnia physodes* in GAW. Vergr. 400fach. – Abb. 3: Atranorin-Kristalle aus *Physcia stellaris* (Schwielenflechte) in GE. Vergr. 100fach. Alle Mikrofotos wurden in polarisiertem Licht mit Hilfsobjekt Quarz Rot 1 aufgenommen.

Mikrokosmos 98, Heft 2, 2009 www.elsevier.de/mikrokosmos Neuere experimentelle Studien haben ergeben, dass verschiedene Flechtenarten für die Raupen des Nachtfalters *Spodoptera littoralis* hoch toxisch sind. Die Raupen meiden die Flechten und in Wahlversuchen auch solches Futter, dem man die Flechtensäure Usninsäure beziehungsweise Vulpinsäure zugefügt hat. Nur wenn sie kein anderes Futter angeboten bekommen, nehmen sie auch Flechtenthalli oder andere Nahrung auf, der Flechtenextrakte zugesetzt worden sind. Sie sterben dann binnen weniger Tage oder sie zeigen ausgeprägte Wachstums- und Entwicklungsstörungen: Die aus den Puppen schlüpfenden Falter sind dann missgebildet.

Nicht so bestimmte Gehäuseschnecken, von denen einige sogar auf Flechten als alleinige Nahrungsquelle spezialisiert sind. Belegt ist das für *Chondrina clienta*, die in Kalksteinrinnen vorkommende Flechten abweidet. Im Schneckenkot konnten Flechtensäuren wie die Usninsäure nachgewiesen werden. Akkumuliert werden die Flechtenstoffe an der Oberfläche der Pilzhyphen im Flechtenthallus. Sekundärstoffe von Pflanzen werden dagegen in den meisten Fällen intrazellulär gespeichert. Von den bisher bekannten Flechtensäuren sind eine große Zahl umgebaute Phenylcarbonsäuren. Darunter bilden die Depside eine umfangreiche Gruppe.

Mikrochemische Tests und Mikrokristallisation

Die Erforschung der Flechteninhaltstoffe geschieht heute mit den modernen Methoden der Naturstoffanalytik. Bis heute aber dienen zur Bestimmung von Flechten und ihren Inhaltsstoffen Farbreaktionen, die schon 1866 eingeführt wurden. Viel aussagekräftiger und daher heute wichtiger sind die Mikrokristallisationstests, die der japanische Lichenologe Y. Asa-

Art	Inhaltsstoff	Kristallisationslösung		
Physcia stellaris (Schwielenflechte) Evernia prunastri (Pflaumenflechte)	Atranorin	GE		
Haematomma ventosus (Blutaugenflechte)	Divaricatsäure	GE		
Evernia prunastri (Pflaumenflechte)	Everniasäure	GE		
Cladonia rangiferina (Rentierflechte) Cladonia furcata (Moosflechte) Cetraria islandica (Moosflechte)	Fumarprotocetrarsäure	GAT		
Parmelia revoluta (Schüsselflechte) Umbilicaria-Arten (Nabelflechten)	Gyrophorsäure	GE		
Parmelia tiliacea (Schüsselflechte)	Lecanorsäure	GE		
Parmelia acetabulum (Schüsselflechte)	Norstictinsäure	GAT		
Pseudevernia furfuracea (Baummoos)	Olivetorsäure	GAW		
Hypogymnia physodes (Blasenflechte) Pseudevernia furfuracea (Baummoos)	Physodsäure	GAW		
Parmelia caperata (Schüsselflechte)	Protocetrarsäure	GAT		
Rhizocarpon geographicum (Tintenflechte)	Psoromsäure	GE		
Parmelia saxatilis (Schüsselflechte)	Squamatsäure	GAT		
Parmelia conspera (Schüsselflechte) Ramalina-Arten (Astflechten) Usnea-Arten (Bartflechten)	Salazinsäure	GE		

Tabelle 1: Übersicht zu den Flechtenarten mit ihren wichtigsten Inhaltsstoffen und deren beste Kristallisationslösungen. GAA Glycerin/Äthylalkohol/Anilin, GAT Glycerin/Äthylalkohol/Toluidin, GAW Glycerin/Äthylalkohol/Wasser, GE Glycerin/Essigsäure.

hina in der Zeit von 1936 bis 1940 entwickelt und publiziert hat. Sie sind heute standardisiert und auf einem Objektträger mit minimalem Aufwand leicht durchzuführen. Benötigt werden die Lösungsmittel Chloroform oder Aceton sowie folgende Kristallisationslösungen: GE = Glyzerin + konzentrierte Essigsäure (Eisessig) im Verhältnis 1:3; GAW = Glyzerin + 96%iger Äthylalkohol + Wasser im Verhältnis 1:1:1; GAT = Glyzerin + 96%iger Äthylalkohol + o-Toluidin im Verhältnis 2:2:1; GAA = Glyzerin + 96%iger Äthylalkohol + Anilin im Verhältnis 2:2:1.

Zunächst wird eine kleine Probe der Flechte mechanisch zerkleinert. Die Brösel versetzt man auf einem Objektträger mit Aceton oder Chloroform. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels erkennt man einen farblosen Ring um das Probegut. Man lässt nun zehn Minuten trocknen und entfernt danach die extrahierten Thallusfragmente mit einem Pinsel.

Auf dem Objektträger wird nun etwas Kristallisationslösung aufgebracht, in welcher der Belag umkristallisiert wird. Man legt ein Deckglas auf und erwärmt über einer Spiritusflamme vorsichtig bis zum Sieden. Nach dem Erkalten werden die Präparate unter dem Mikroskop bei 100- bis 200facher Vergrößerung betrachtet. Besonders eindrucksvolle Bilder liefert polarisiertes Licht, da die auskristallisierten Flechtenstoffe stark doppelbrechend sind (Abb. 1–3). Grundsätzlich sollten von jeder Flechte mehrere Extrakte gewonnen werden, die dann mit den verschiedenen Kristallisationslösungen versetzt werden. Die erhaltenen Kristalle sind nadeloder plattenförmig, oft auch strauch- oder bäumchenartig. Seltener sind große Einzelkristalle oder durchwachsene Mehrlingssysteme.

In der Tabelle (Tabelle 1) sind eine Reihe von Flechtenarten, ihr jeweils wichtigster Inhaltstoff sowie die dafür am besten geeignete Kristallisationslösung zusammengestellt.

Literaturhinweise

- Asahina, Y.: Mikrochemischer Nachweis der Flechtenstoffe, I–XI. J. Jap. Bot. 12 (1936) –16 (1940).
- Bertsch, K.: Flechtenflora von Südwestdeutschland. Verlag Ulmer, Stuttgart 1964.
- Follmann, G.: Flechten (Lichenes). Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart 1968.
- Kappen, L.: Terrestrische Mikroalgen und Flechten in der Antarktis. In: Hausmann, K., Kremer, B. P. (Hrsg.): Extremophile, S. 3–25. VCH Verlag, Weinheim 1994.
- Kremer, B. P.: Mikrochemische Untersuchungen an Flechten. Mikrokosmos 72, 368–373 (1983).
- Kremer, B. P.: Das Experiment: Darstellung von Flechtenstoffen. BIUZ 17, 21–26 (1987).
- Proksch, P.: Die Schutzmittel der Flechten gegen Tierfraß. Deutsche Apotheker Zeitung 135, 21–28 (1995).
- Schömmer, F.: Kryptogamen-Praktikum. Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart 1949.
- Schumm, F.: Präparation der Flechten. Mikrokosmos 54, 125–127 (1965).
- Schumm, F.: Die Becherflechte Cladonia furcata. Mikrokosmos 60, 45–46 (1971).
- Schumm, F.: Flechten Madeiras, der Kanaren und Azoren. Eigenverlag, Wangen 2008.

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

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

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 28.3.2009, pünktlich um 10:00 Uhr.

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

Vorgesehene Themen:

Rezente Radiolarien: Dr. Johannes Mathyl Das Auge: Dr. Johannes Mathyl Kristallbilder: Ernst Hippe Ins Objektiv geblickt: Peter Schreyer Wahrnehmungstäuschungen: PD Dr. Rainer Wolf Radiolarien im Rasterelektronenmikroskop: PD Dr. Rainer Wolf

Anfragen an: Joachim Stanek, Am Moosrangen 28, 90614 Ammerndorf, Tel.: 0 91 27/88 32, E-Mail: info@stanek.name, Internet: www.stanek.name

Mikroskopische Gesellschaft Wien



Programm April bis September 2009

21.04.:	<i>Hermann Hochmeier:</i> Präparationsabend Diatomeen	16
28.04.:	Mag. Walter Ruppert: Präparationsabend Botanik	23.
05.05.:	DI Zeno Zobl: Reisebericht über Extrematura (Spanien) (mit LCD-Beamer)	30.
12.05.:	Herbert Csadek: Astronomische Filme	08.
19.05.:	<i>Prof. Alfred Ratz:</i> Präparationsabend Botanik	15.
26.05.:	Dr. Hans Frey: Die Wiedereinführung	22.

des Habichtkauzes in Österreich

(mit LCD-Beamer)

"Die Lobau-Auen" im Saal des Hotel-Café Waitz am Hauptplatz 9 in A-2442 Unterwaltersdorf 09.06.Univ.-Prof. Dr. Wilhelm Foissner, Universität Salzburg: Meine interessantesten und schönsten Ciliaten (mit LCD-Beamer) 06.:Prof. OStR. Peter Schulz: Präparationsabend Schmetterlingspuppen 06.: Hans Günter Plescher, MSc.: Präparationsabend Botanik 06.: Urlaubsvorbereitungen, Berichte, Vorweisungsabend 09.: Mikroprojektion – Besprechung von Präparaten, Kurzvorträge, Berichte 09.: Peter Recher: Das Leben im Wassertropfen (mit LCD-Beamer) 09.: Herbert Fidi: Präparationsabend Botanik Dr. Susanne Steinböck: 29.09.: Reisebericht (mit Dias)

29. 05.-01. 06.: 7. Internationales Mikroskopiker-Pfingsttreffen mit Workshop

Alle Vorträge und Kurse finden in den Räumen der Gesellschaft in Wien, Marinelligasse 10a an Dienstagen statt und beginnen um 19:15 Uhr. Gäste sind willkommen.

Anmerkung: Die MGW bietet gegen Porto- und Versandspesenersatz Lebendmaterial (*Euglena viridis* und *Paramecium caudatum*) an. Lieferzeit circa vier Wochen nach Bestellung.

Kontaktadresse: Prof. OStR. Erich Steiner, Triestinggasse 35, A-1210 Wien, Tel./Fax: 01/8 13 84 46

Berliner Mikroskopische Gesellschaft



Programm April bis Oktober 2009

- 03. 04.: Dipl. Biol. Ute Leimcke-Kuhlmann, Niederohe: Kieselgur – ein ganz besonderer Schatz der Natur (P)
- 17.04.: Osterferien
- 24. 04.: *Martina und Günther Zahrt, Berlin:* Mikroskopie im Alltag – für Einsteiger und Fortgeschrittene (11) (P)
- 01. 05.: Exkursion: Stralsund Ozeaneum und Stadtführung
- 15.05.: Dr. Regine Szewzyk, Umweltbundesamt Berlin: Qualität von Badegewässern in Deutschland
- 29. 05.: Prof. Dr. Christoph Herm, Hochschule für Bildende Künste Dresden: Rasterelektronenmikroskopie in der Gemäldeuntersuchung
- 31. 05.: Pfingst-Exkursion: Bäume bestimmen (Dr. Erika Hausmann, Berlin) Treffpunkt wird bekannt gegeben (findet nur bei gutem Wetter statt)

- 05. 06.: *Martina und Günther Zahrt, Berlin:* Mikroskopie im Alltag – für Einsteiger und Fortgeschrittene (12) (P)
- 12. 06.: Jutta Fritz, Technische Fachhochschule Berlin: Auflichtmikroskopie in der Metallografie (P)
- 26.06.: Prof. Dr. Klaus Hausmann, Freie Universität Berlin, Institut für Biologie/Zoologie: Pansenciliaten (P)
- 10. 07.: Dr. Erich Lüthje, Kiel: Biologie von Wildbienen (P) Sommerferien
- 04. 09.: PD Dr. Renate Radek, Freie Universität Berlin, Institut für Biologie/Zoologie: Methoden der Limnologie
- 05.–06.09.: PD Dr. Renate Radek, Freie Universität Berlin, Institut für Biologie/Zoologie: Anwendung der Methoden der Limnologie am Heiligensee (P)
- Martina und Günther Zahrt, Berlin: Mikroskopie im Alltag – für Einsteiger und Fortgeschrittene (13) (P)
- 25.09.: Dr. Erika Hausmann, Berlin: Getreide: Kennenlernen und erkennen (P)
- 18.-25.10.: Hiddensee-Exkursion

Die Übungsabende beginnen jeweils um 19:30 Uhr im Institut für Biologie/Zoologie (Johannes-Müller-Saal, Parterre) der Freien Universität Berlin, Königin-Luise-Straße 1–3 (Eingang Haderslebener Straße 1–3), 14195 Berlin. Die mit (P) gekennzeichneten Termine haben einen praktischen Teil.



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:

FLOGEL • KOHN STUTTGART

Konto-Nr. 54 800-605, BLZ 500 100 60, Postgirokonto Frankfurt. **PRO RETINA** Deutschland e.V., Vaalser Str. 108, 52074 Aachen

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; Redaktions-assistentin: 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 - Urban & Fischer, Karlstraße 45, 80333 München,

Tel.: +49(0)89/5 38 30, Fax: +49(0)89/5 38 39 39, E-Mail: info@elsevier.de

Anzeigenleitung: Elsevier GmbH, Karlstraße 45, 80333 München, Ansprechpartner: Dr. Peter Weber,

Tel.: +49(0)89/53 83-7 24, Fax: +49(0)89/53 83-7 25; E-Mail: p.weber@elsevier.com

Anzeigenpreise: Gültig ist die Preisliste vom 1. Januar 2009.

Lieferkonditionen (2009): Band 98 (1 Band mit 6 Ausgaben)

Abopreise* (2009):

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

* Deutschland, Osterreich, Schweiz

*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 – SFG, Aboservice, Postfach 4343, 72774 Reutlingen. Tel.: +49(0)7071/9 35 30, Fax: +49(0)7071/9 35 36 24, E-Mail: bestellungen@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 sowohl 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.

Satz: 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

LUNWOUS GÜF AUIOFOD

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 \notin 30,00 und ein Foto, das auf der Titelseite erscheint, mit \notin 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

Das umseitige Bild zeigt einen Blütenköpfchenstängel von Sonchus asper, der Rauen Gänsedistel.

Aufnahmetechnik: Wild Makroskop, Olympus-Blitz DSLR E410; Beleuchtung: Dunkelfeld-Blitz, Vergrößerung ca. 30fach. Foto: Gerd Günther, Düsseldorf.

Vorschläge für *Das letzte Bild* bitte Herrn Wolfgang Bettighofer, Rutkamp 64, 24111 Kiel, E-Mail: wolfgang.bettig hofer@gmx.de, senden.

Mikrokosmos 2/2009

510543 Bibliothek des OÖ. Landesmuseums

Museumstraße 14 4010 Linz (6)

1

300229

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Mikrokosmos, Zeitschrift für Mikroskopie

Jahr/Year: 2009

Band/Volume: <u>98_2</u>

Autor(en)/Author(s): diverse

Artikel/Article: Mikrokosmos 98/2 1