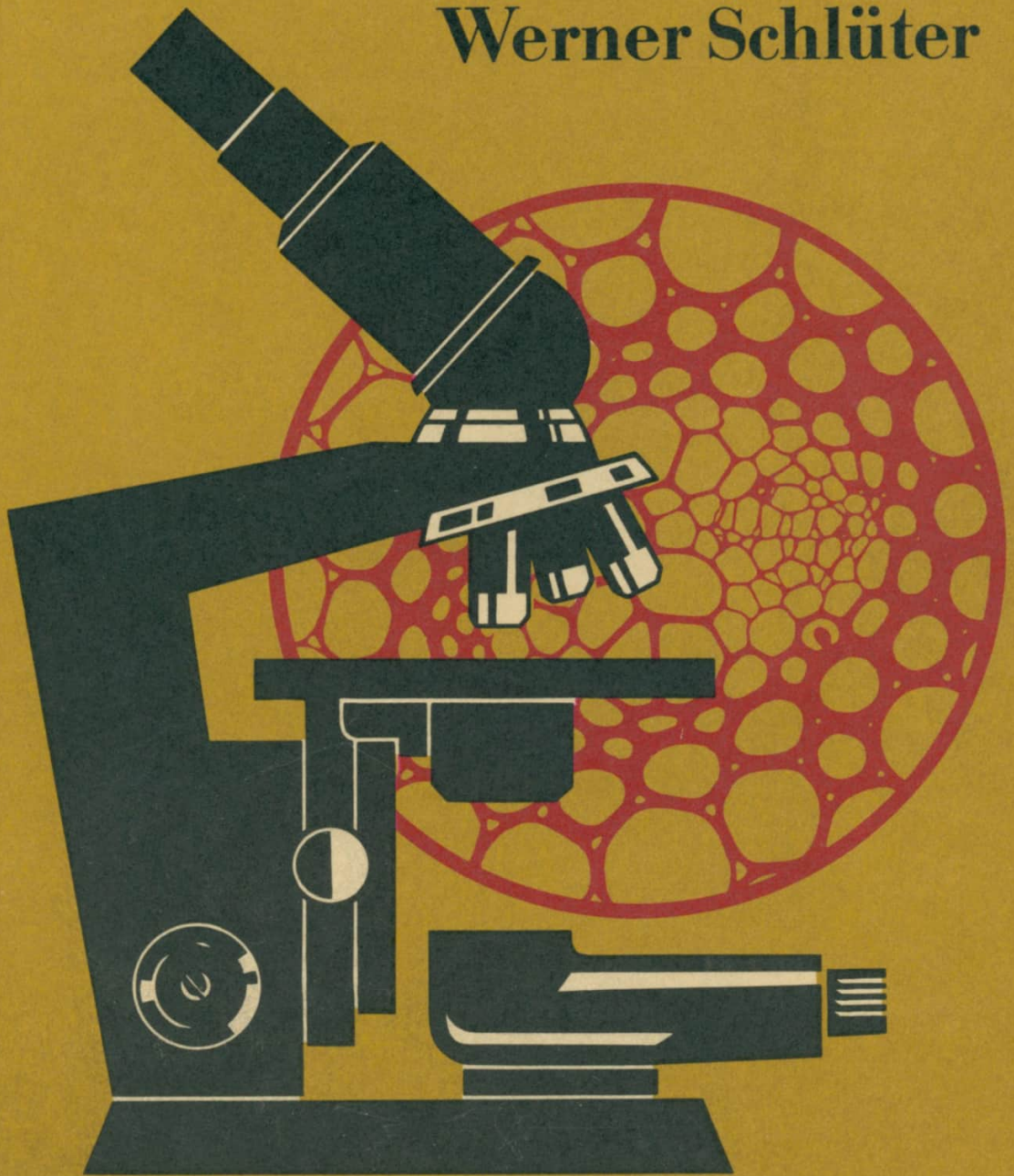
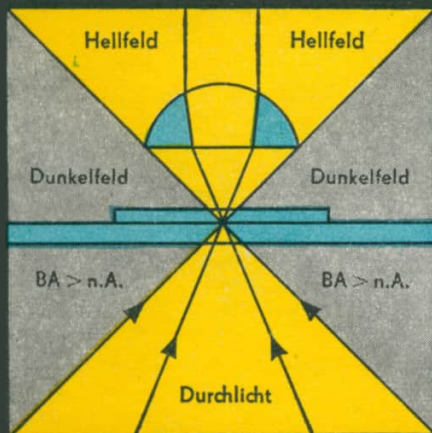
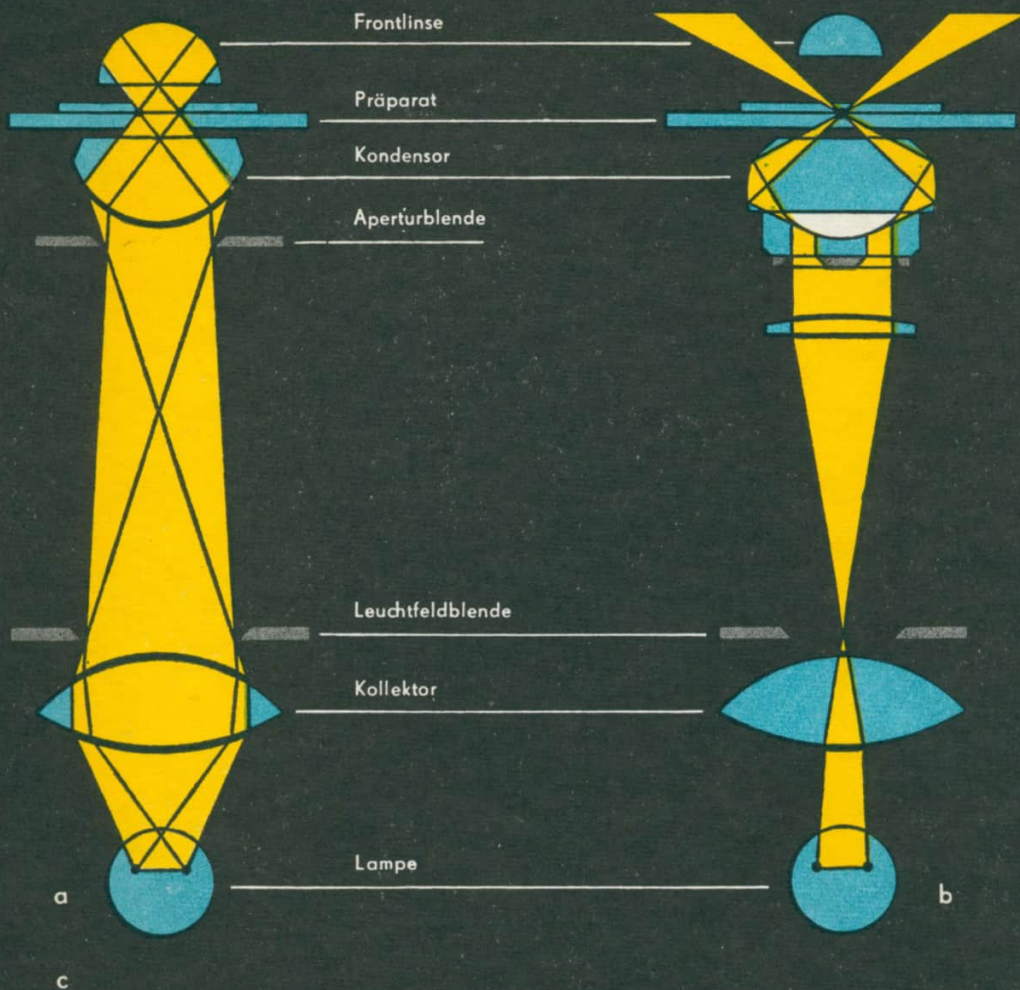


# Mikroskopie

Werner Schlüter



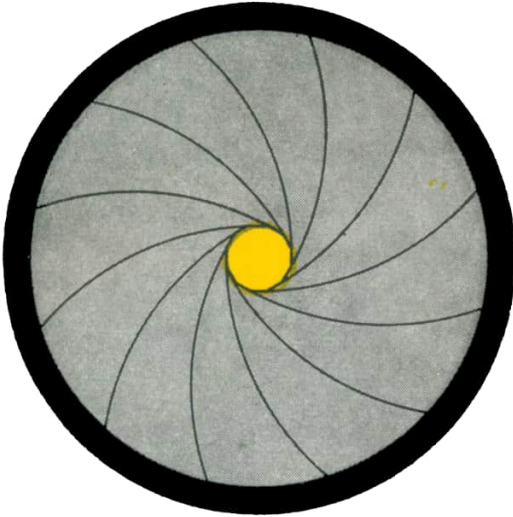
# Durchlichtbeleuchtung



$BA < n.A.$  oder  $BA = n.A.$

- a Durchlicht-Hellfeld-Beleuchtung nach dem Köhlerschen Beleuchtungsprinzip
- b Durchlicht-Dunkelfeld-Beleuchtung mit Dunkelfeldkondensor
- c Schematische Darstellung der Durchlicht-Hellfeld- und Durchlicht-Dunkelfeld-Beleuchtung

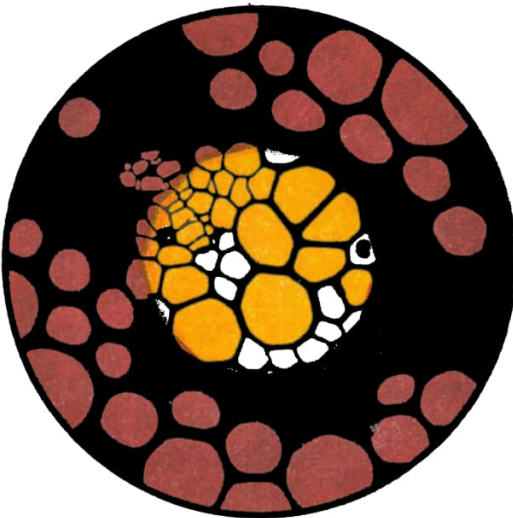
**Zur Beleuchtung nach A. Köhler**



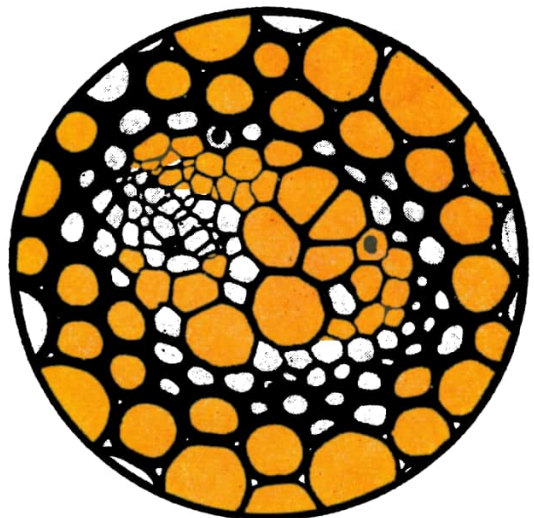
**Leuchtfeldblende geschlossen**



**Bild der Lampenwendel  
auf der geschlossenen Aperturblende**



**Bild der geschlossenen Leuchtfeldblende  
In der Präparatebene in Sehfeldmitte**



**Korrekt ausgeleuchtetes Sehfeld  
nach Öffnen der Leuchtfeldblende**

# MIKROSKOPIE

für Lehrer und Naturfreunde

Eine Einführung in die biologische Arbeit mit dem Mikroskop  
von Werner Schlüter

5. Auflage



Volk und Wissen Volkseigener Verlag Berlin  
1983

**Autor: Studienrat Werner Schlüter**  
**Verdienter Lehrer des Volkes**  
**Redaktion: Klaus Heinzel, Gertrud Kummer**  
**Beilagen: 4 Farbtafeln**

© Volk und Wissen Volkseigener Verlag Berlin 1973  
5. Auflage  
Lizenz-Nr. 203 · 1000/83 (DN 01 21 08-5)  
LSV 1304  
Einband: Werner Fahr  
Typografische Gestaltung: Atelier vvw  
Printed in the German Democratic Republic  
Gesamtherstellung: INTERDRUCK  
Graphischer Großbetrieb Leipzig,  
Betrieb der ausgezeichneten Qualitätsarbeit, III/18/97  
Schrift: 9 T 3 10 Didot Monotype  
Redaktionsschluß: 1. September 1982  
Bestell-Nr. 706 215 3  
DDR 9,40 M

# Inhaltsverzeichnis

<i>Vorwort</i> . . . . .	9
<i>Arbeitsmittel</i> . . . . .	11
Mikroskoptypen . . . . .	11
Vorbemerkungen . . . . .	11
Lupen und Präparier-Lupenstative . . . . .	11
Schülermikroskope . . . . .	13
Kursmikroskope (mittlere Mikroskope) . . . . .	14
Forschungsmikroskope . . . . .	16
Mechanische und optische Teile des Mikroskops . . . . .	16
Mechanische Teile . . . . .	16
Arten, Bau und Verwendung der Objektive . . . . .	17
Arten, Bau und Verwendung der Okulare . . . . .	22
Verwendung der Tuben . . . . .	25
Stereomikroskope . . . . .	26
Bau und Verwendung der Beleuchtungsoptik . . . . .	26
Mikroskopierleuchten . . . . .	29
Strahlengang im Mikroskop . . . . .	32
Behandlung, Reinigung und Pflege des Mikroskops . . . . .	33
Allgemeine Arbeits- und Präpariergeräte . . . . .	35
<i>Hinweise für die Benutzung des Mikroskops</i> . . . . .	40
Hellfeld-Durchlicht-Beleuchtung . . . . .	40
Arbeitsraum und Arbeitsplatz . . . . .	40
Einstellen des Mikroskops . . . . .	40
Weitere wichtige Untersuchungsmethoden . . . . .	47
Schiefe Hellfeld-Durchlicht-Beleuchtung . . . . .	47
Dunkelfeldbeleuchtung . . . . .	50
Kontrastfarbenbeleuchtung . . . . .	54
Reliefbeleuchtung . . . . .	58
Arbeit im polarisierten Licht . . . . .	59
Phasenkontrastmikroskopie . . . . .	62
Fluoreszenzmikroskopie . . . . .	65
Mikroskopisches Messen . . . . .	67
Mikroskopisches Sehen . . . . .	68

<i>Darstellung des mikroskopischen Bildes</i> . . . . .	70
Methoden der Darstellung des mikroskopischen Bildes . . . . .	71
Zeichnung nach dem mikroskopischen Bild . . . . .	73
Zeichenmittel . . . . .	74
Zeichnerische Darstellungsmöglichkeiten . . . . .	77
Zeichnen und Schreiben auf Projektionsfolien . . . . .	82
Hinweise für den Unterricht . . . . .	83
Mikrofotografie . . . . .	84
Allgemeines . . . . .	84
Schwierigkeitsgrad und Fehlerquellen . . . . .	85
Aufnahmeprotokoll . . . . .	86
Methoden der Mikrofotografie . . . . .	87
Beleuchtung, Belichtung und Filter . . . . .	87
Arbeit mit der Spiegelreflex-Kleinbildkamera (Aufsetzkamera) . . . . .	91
Arbeit mit der großformatigen Kamera (Vertikalkamera) . . . . .	93
Mikrofotografie in natürlichen Farben . . . . .	95
Schwarzweiß-Aufnahmematerial und Negativtechnik . . . . .	96
Unterrichtliche Nutzung . . . . .	98
Mikroprojektion . . . . .	98
Grundsätzliches . . . . .	98
Mikroprojektionsgeräte . . . . .	99
ROW-Kleinmikroskop-Projektor . . . . .	99
Demonstrationsaufsätze . . . . .	100
Große Mikroprojektionsgeräte . . . . .	101
Hinweise für den Unterricht . . . . .	102
<i>Grundsätzliches zur Herstellung von Präparaten</i> . . . . .	103
Frischpräparat oder Dauerpräparat? . . . . .	103
Chemikalien . . . . .	104
Untersuchungsflüssigkeiten für Frischpräparate . . . . .	105
Betäubungsmittel . . . . .	106
Fixiermittel . . . . .	108
Mittel zur Vorbehandlung, Aufhellung und Konservierung; Nachweis-Reagenzien . . . . .	115
Färbemittel . . . . .	118
Vitalfarbstoffe . . . . .	120
Fixierungs-Färbungs-Schnellmethoden. . . . .	121
Farbstoffe für postvitale Färbungen . . . . .	122
Farbfixierlösung für Ausstriche . . . . .	125
Farbstoffe für sukzedane und simultane polychromatische Färbungen . . . . .	125
Fluorochrome . . . . .	129
Injektions-Farbstoffe . . . . .	130
Entwässerungs-, Zwischen- und Einbettungsmittel . . . . .	130
Hinweise für die Materialbeschaffung . . . . .	132
Herstellung von Präparaten . . . . .	133
Allgemeine Hinweise zur Herstellung von Frischpräparaten . . . . .	133

Küvetten-Mikroskopie . . . . .	135
Hinweise zur Küvetten-Mikroskopie . . . . .	136
Wichtige Methoden zur Herstellung von Frisch- und Dauerpräparaten . . . . .	138
Methode 1: Präparate trockener Objekte . . . . .	139
Methode 2: Kristallpräparate . . . . .	145
Methode 3: Verkohlungs- und Veraschungspräparate . . . . .	147
Methode 4: Kutikulapräparate . . . . .	149
Methode 5: Aufhellungspräparate ganzer Pflanzenteile . . . . .	153
Methode 6: Ungefärbte Totalpräparate fixierter Objekte . . . . .	154
Methode 7: Opalblau-Präparate . . . . .	156
Methode 8: Ausstrichpräparate . . . . .	157
Methode 9: Präparate, die Fixierung und Färbung, aber keine Herstellung von Schnitten erfordern . . . . .	163
Methode 10: Zupf-, Quetsch- und Mazerationspräparate . . . . .	167
Methode 11: Hand- und Handmikrotomschnitte . . . . .	170
Methode 12: Paraffineinbettung und Mikrotomschnitt . . . . .	175
Methode 13: Behandlung mit Silberlösungen . . . . .	179
Methode 14: Injektionspräparate . . . . .	181
Methode 15: Dünnschliffe . . . . .	181
Methode 16: Oberflächenabdruck-Verfahren . . . . .	182
<i>Spezielle Anweisungen zur Herstellung zoologischer Präparate . . . . .</i>	<i>185</i>
Tierische Zellen . . . . .	185
Einzeller . . . . .	189
Urtierchen (Protozoa) . . . . .	189
Geißeltierchen (Flagellata) . . . . .	190
Wurzelfüßer (Rhizopoda) . . . . .	192
Sporentierchen (Sporozoa) . . . . .	196
Wimpertierchen (Ciliata) . . . . .	198
Befruchtung, Entwicklungsvorgänge und Gewebeformen . . . . .	204
Befruchtung und Entwicklungsvorgänge . . . . .	204
Gewebeformen . . . . .	207
Epithelgewebe . . . . .	208
Stütz- und Bindegewebe . . . . .	212
Muskelgewebe . . . . .	217
Nervengewebe . . . . .	219
Vielzeller . . . . .	222
Schwammtiere (Porifera) . . . . .	222
Hohltiere (Coelenterata) . . . . .	223
Plattwürmer (Plathelminthes) . . . . .	225
Strudelwürmer (Turbellaria) . . . . .	225
Saugwürmer (Trematodes) . . . . .	226
Bandwürmer (Cestodes) . . . . .	227
Rundwürmer (Nematodes) . . . . .	229
Ringelwürmer (Annelida) . . . . .	231
Gliederfüßer (Arthropoda) . . . . .	233
Krebse (Crustacea) . . . . .	233
Spinnentiere (Chelicerata) . . . . .	236



Tausendfüßer (Myriapoda) . . . . .	240
Insekten (Insecta) . . . . .	240
Übergreifende Arbeitsgebiete und Untersuchungen bei Insekten . . . . .	253
Weichtiere (Mollusca) . . . . .	261
Schnecken (Gastropoda) . . . . .	261
Muscheln (Bivalvia) . . . . .	262
Chordatiere (Chordata) . . . . .	263
<i>Spezielle Anweisungen zur Herstellung botanischer Präparate</i> . . . . .	278
Pflanzliche Zellen . . . . .	279
Protoplasma . . . . .	279
Zellsaft . . . . .	286
Zellgrenzschicht (Zellmembran, Zellwand) . . . . .	287
Kern- und Zellteilung . . . . .	289
Spaltpflanzen (Schizophyta) . . . . .	290
Bakterien (Schizomycetes) . . . . .	290
Algen (Phycophyta) . . . . .	293
Geißelalgen (Flagellatae) . . . . .	294
Kieselalgen (Diatomeae) . . . . .	296
Grünalgen (Chlorophyceae) . . . . .	296
Pilze (Mycophyta) . . . . .	299
Algenpilze (Phycomycetes) . . . . .	299
Schlauchpilze (Ascomycetes) . . . . .	300
Ständerpilze (Basidiomycetes) . . . . .	303
Moospflanzen (Bryophyta) . . . . .	304
Lebermoose (Hepaticae) . . . . .	304
Laubmoose (Musci) . . . . .	306
Farnpflanzen (Pteridophyta) . . . . .	308
Schachtelhalme (Equisetinae) . . . . .	308
Farne (Filicinae) . . . . .	309
Samenpflanzen (Spermatophyta) . . . . .	311
Gewebe der Samenpflanzen . . . . .	311
Bildungsgewebe . . . . .	311
Grundgewebe . . . . .	312
Hautgewebe . . . . .	313
Festigungsgewebe . . . . .	315
Leitgewebe . . . . .	317
Organe der Samenpflanzen . . . . .	321
Wurzel . . . . .	321
Sproßachse . . . . .	323
Blatt . . . . .	325
Fortpflanzungsorgane . . . . .	327
<i>Literaturverzeichnis</i> . . . . .	331
<i>Register</i> . . . . .	332

## Vorwort

Die „Mikroskopie für Lehrer und Naturfreunde“ ist eine Einführung in das umfangreiche Gebiet der Mikroskopie. Sie soll vor allem den Biologielehrern der allgemeinbildenden Schulen Anleitung auf dem Gebiet der praktischen Mikrobiologie geben und darüber hinaus mikroskopierenden Naturfreunden sowie anderen an der Mikroskopie Interessierten Hilfe beim Selbststudium und bei praktischen Übungen sein.

Seit der ersten Auflage (1955) fand das Buch sehr gute Aufnahme, weil es offensichtlich den Bedürfnissen der Benutzer entsprach. Infolge des wissenschaftlich-technischen Fortschritts auf diesem Gebiet, der höheren Anforderungen, die durch die neuen Biologielehrpläne gestellt werden sowie der weiteren Verbesserung der Ausstattung der allgemeinbildenden Schulen mit optischen Geräten hat sich die Nachfrage nach diesem Buch erhöht und die Herausgabe weiterer Auflagen erforderlich gemacht.

Der genannten Aufgabenstellung des Buches entsprechend war eine Beschränkung von Inhalt und Umfang erforderlich. So wurden die theoretisch-optischen Grundlagen der Mikroskopie nur soweit behandelt, wie deren Kenntnis Voraussetzung für die Ausnutzung der Leistungsfähigkeit des Mikroskops und seiner Nebenapparate ist. Auch in den Abschnitten zur Herstellung zoologischer und botanischer Mikropräparate wurde keine Vollständigkeit angestrebt. Hier konnte nur eine Auswahl erprobter und besonders geeigneter Objekte berücksichtigt werden. Auch dabei wurde von den Lehrplanforderungen ausgegangen. Der Schwerpunkt wurde auf eine gründliche Einführung in die mikroskopischen Präpariertechniken sowie auf die methodischen Besonderheiten des Mikroskopierens im Unterricht gelegt.

Das Buch enthält umfangreiche Zusammenstellungen und detaillierte Beschreibungen der für den Biologieunterricht wichtigen mikroskopischen Untersuchungsmethoden und Präpariertechniken. Es ist deshalb für den Biologielehrer ein unentbehrliches Arbeitsmittel.

In der vorliegenden Auflage wurden Fortschritte der lichtmikroskopischen Technik und neuere Arbeitsverfahren berücksichtigt, sofern sie für die Arbeit im obligatorischen oder fakultativen Biologieunterricht von Interesse sind.

Die Arbeitsanleitungen und Präparationen wurden auf die gültigen Lehrpläne abgestimmt. Der Biologielehrer erhält damit Beispiele, Anregungen und Empfehlungen, wie dem Schüler die vom Lehrplan geforderten Fakten und Zusammenhänge an Naturobjekten vermittelt werden können. Auch Anregungen für Schüleraufträge werden gegeben.

Die Anschaulichkeit des Titels wird durch zahlreiche Mikrofotografien, die Farbbeilage und die vierfarbige Gestaltung der inneren Umschlagseiten angestrebt. Wir danken in diesem Zusammenhang besonders Herrn Horst Theuerkauf (Gotha), der für die 2., stark überarbeitete Auflage die Farbfotos und mehrere Schwarzweißfotos von Präparaten angefertigt hat, die der Autor zur Verfügung stellte. Dem VEB Carl Zeiss JENA, dem VEB Rathenower Optische Werke und dem Kombinat VEB Pentacon Dresden

danken wir für das Überlassen von Fotos. Alle beschriebenen Untersuchungen sind vom Verfasser auf die Anforderungen der Schule abgestimmt und auf ihre praktische Brauchbarkeit im Unterricht überprüft worden.

Es ist deshalb zu erwarten, daß die vorliegende fünfte Auflage im Rahmen der genannten Aufgabenstellung zur weiteren Verbesserung des naturwissenschaftlichen Unterrichts in unseren allgemeinbildenden Schulen beitragen und für alle Freunde der Mikroskopie eine echte Hilfe sein wird.

Verfasser und Verlag danken allen, die durch Verbesserungsvorschläge, kritische Hinweise sowie fachliche und methodische Begutachtung an der Überarbeitung beteiligt waren.

**Bad Dürrenberg und Berlin 1982**

**Der Verfasser**

**Redaktion Biologie**

# Arbeitsmittel

## Mikroskoptypen

### *Vorbemerkungen*

Verbindet man die oberen und die unteren Randpunkte eines beobachteten Gegenstandes mit der Mitte der Pupille des menschlichen Auges, so ergibt sich der Sehwinkel unter dem der Gegenstand dem Auge erscheint. Je größer die Öffnung des Sehwinkels (Apertur) ist, desto besser ist die Wahrnehmung von Einzelheiten möglich. Entfernt man den Beobachtungsgegenstand vom Auge, so sinkt die Apertur – der Sehwinkel wird kleiner – und die scheinbare Größe des Gegenstandes nimmt ständig ab. Dabei gelangt man an einen Punkt, an dem die Grenze der Wahrnehmung unterschritten wird. Dieser Grenzwinkel beträgt – bei höchster Anstrengung der Sehkraft – eine Bogenminute. Für bequemes und sicheres Erkennen ist ein Sehwinkel von vier Bogenminuten erforderlich.

Bei Annäherung des Auges an einen Beobachtungsgegenstand nimmt die Apertur des Sehwinkels und damit das Auflösungsvermögen ständig zu.

Das menschliche Auge ist durch sein Akkommodationsvermögen imstande, Gegenstände bis 250 mm Abstand vom Hornhautscheitel scharf zu sehen (deutliche Sehweite, Nahpunkt).

Lupen und Mikroskope haben die Aufgabe, die Sehwinkel bei der Betrachtung von Gegenständen, die innerhalb der deutlichen Sehweite liegen, so stark zu vergrößern, daß die Objektstrukturen aufgelöst werden.

### *Lupen und Präparier-Lupenstative*

Als einfaches Mikroskop oder Lupe wird ein optisches System bezeichnet, das aus einer oder mehreren Linsen besteht, deren gemeinsame Brennweite kürzer als die deutliche Sehweite ist. Lupen stehen für den Bereich der Vergrößerungen von 2 : 1 bis etwa 50 : 1 zur Verfügung. Dabei ist zu beachten, daß starke Vergrößerungen kleine Gegenstandsweiten und relativ kleine Sehfelder bedingen.

Mit Lupen sollen Schüler und Anfänger ihre Untersuchungen beginnen und langsam in einen Sehbereich eingeführt werden, der ihnen bis dahin noch unbekannt war. Für Lupen werden nur chromatisch und sphärisch unvollständig korrigierte Linsen verwendet. Es empfiehlt sich daher nicht, für den Freihandgebrauch Lupen mit einer Vergrößerung von über 20 : 1 zu kaufen. Sie sind außerdem schwierig zu handhaben (Verkantung, ruhige Haltung usw.).

Lesegläser hält man dicht über das zu betrachtende Objekt. Sie liefern bei großem Sehfeld Vergrößerungen bis maximal 2 : 1.

**Aplanatische Lupen** bestehen in der Regel aus zwei aufeinander abgestimmten Linsen. Sie ergeben bei einem relativ großen Sehfeld und erträglichem freien Bildabstand sehr deutliche Bilder ohne störende Farbsäume. Aplanatische Lupen erfassen vor allem den Vergrößerungsbereich von 3 : 1 bis etwa 20 : 1. Für die Arbeit mit Schülern sind Lupen mit der Vergrößerung 8 : 1 am geeignetsten.

Einschlaglupen sind für die Arbeit in der Schule – Benutzung im Unterrichtsraum und auf Exkursionen – allen anderen Lupenformen vorzuziehen. Bei der Einführung in die Arbeit mit der Lupe in Klasse 5 müssen die Schüler darauf hingewiesen werden, daß die Lupe dicht an das beobachtende Auge gehalten wird, da sich nur so ein optimal großes Sehfeld erzielen läßt. Außerdem kann die Lupe, in den Augenwinkel gedrückt, sehr ruhig gehalten werden (s. Abb. 12/1). Die Scharfeinstellung wird nur durch Bewegen des Objekts vorgenommen. Brillenträger arbeiten ohne ihre Gläser!

**Präparierlupenstative** (s. Abb. 13/1) erleichtern feinere Präparierarbeiten dadurch, daß seitlich am Objektisch Handauflagen angebracht sind. An einem durch Zahn und Trieb in der Höhe verstellbaren sowie seitlich ausschwenkbaren Lupenarm trägt dieses

Abb. 12/1 Richtiges Halten der Lupe beim Beobachten



Abb. 12/2 Arbeit mit der Kopfbandlupe

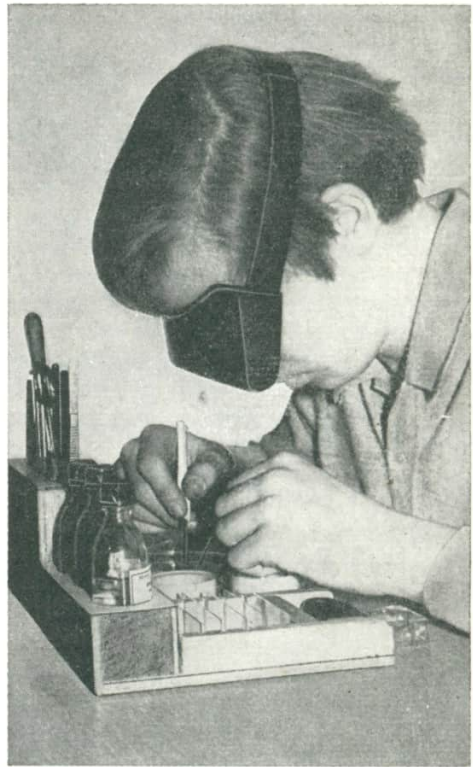
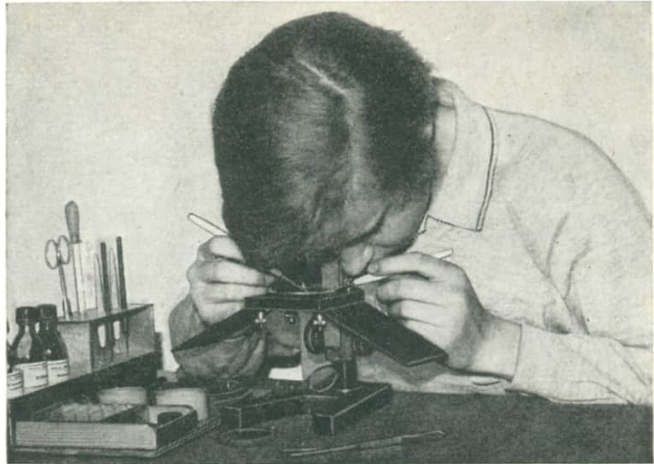


Abb. 13/1 Arbeit mit dem Präparier-Lupenstativ



Instrument auswechselbare Lupen mit Vergrößerungen von 5 : 1 bis maximal 50 : 1. Es handelt sich dabei um Linsencombinationen (aplanatische Lupen), die eine ausreichende chromatische und sphärische Korrektur aufweisen. Es ist zu beachten, daß bei sehr starken Vergrößerungen die Arbeitsabstände (Gegenstandsweite) auf Grund der geringen Brennweite äußerst klein werden. Für Präparationen in der Schule genügt im allgemeinen eine Lupe 5 : 1 und eine 10 : 1. Will man beispielsweise die Mundwerkzeuge eines Maikäfers aus dem Kopf herauspräparieren oder den Fortschritt der Färbung eines in der Herstellung befindlichen Schnittes kontrollieren, so kann man sich diese Arbeiten mit einem Präparier-Lupenstativ sehr erleichtern. Neben vielen Vorzügen hat dieses Gerät den Nachteil, daß nur mit einem Auge beobachtet werden kann. Besonders diffizile Präparationsarbeiten werden durch diesen Mangel oft sehr erschwert.

**Binokulare Kopfbandlupen** (s. Abb. 12/2) ermöglichen beidäugiges Beobachten. Es schirmen durch ihre günstige Konstruktion unerwünschtes Nebenlicht ab. Kopfbandlupen ergeben bei großem Sehfeld, großem freien Objektstand und 2,25facher Vergrößerung hervorragend deutliche räumliche Abbildungen. Brillenträger können mit oder ohne Brille arbeiten. Bei Sezierübungen, feineren Präparationsarbeiten, beim Anfertigen von Handschnitten und vielen anderen Arbeiten sind Kopfbandlupen eine wertvolle Hilfe.

### *Schülermikroskope*

**Schülermikroskope** (Kleinmikroskope oder Einzweckmikroskope) sollen bei robuster Konstruktion und möglichst einfacher Handhabung gute optische Leistungen aufweisen und etwa den Bereich der 50- bis 200fachen Vergrößerung erschließen. Schülermikroskope sind nicht ausbaufähig und nur für die allgemein bekannte und gebräuchliche gerade Hellfeld-Durchlicht-Beleuchtung verwendbar.

Die Kleinmikroskope B und C des VEB Rathenower Optische Werke (s. Abb. 14/1, 14/2) sind typische Schülermikroskope. Das wohlabgewogene Zusammenwirken der mechanischen und optischen Teile garantiert die hohe Leistungsfähigkeit dieser Mikroskoptypen in den Grenzen, die ihnen durch den geplanten Anwendungsbereich gezogen

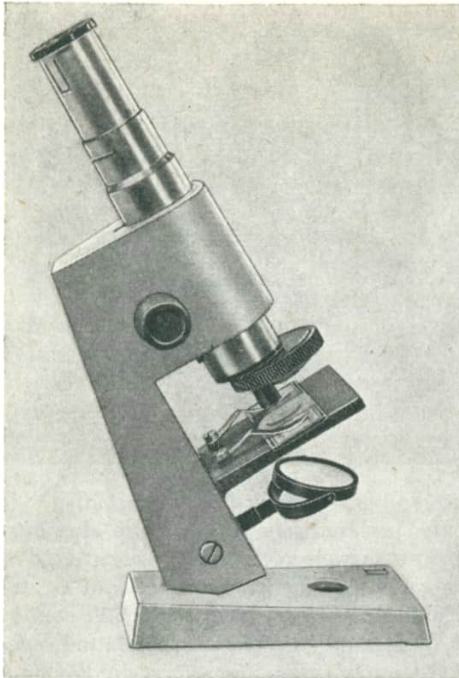


Abb. 14/1 Kleinmikroskop C des VEB Rathenower Optische Werke Rathenow

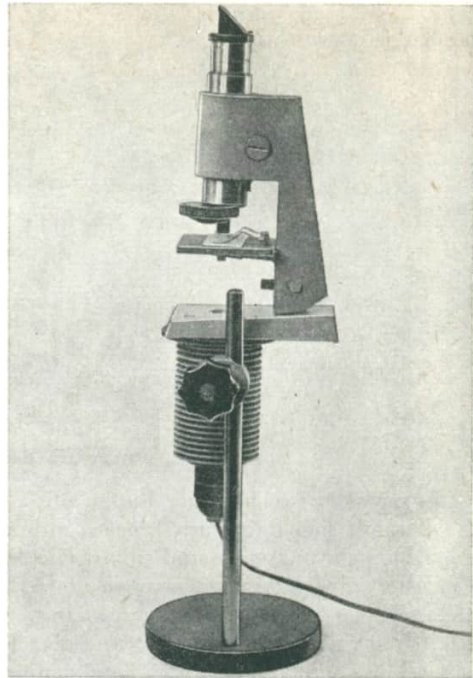


Abb. 14/2 Kleinmikroskop C des VEB Rathenower Optische Werke mit Zusatzgeräten für die Mikroprojektion (senkrechte Stellung zur Projektion von Frischpräparaten)

sind. Die mechanischen Teile sind bewußt sehr einfach, übersichtlich und widerstandsfähig konstruiert. Die optischen Teile sind so aufeinander abgestimmt, daß sich bei richtiger Lichtführung hervorragend scharfe und kontrastreiche, farbfehlerarme und gut geebnete Bilder ergeben, die in dem hier in Frage kommenden Vergrößerungsbereich durchaus den Bildqualitäten größerer Mikroskope nahekommen.

Besonders das Kleinmikroskop C ist auf Grund der gegenüber dem Typ B vorgenommenen Verbesserungen der mechanischen Teile so vorbildlich leicht zu bedienen, daß es bereits von Schülern der 6. und 7. Klasse erfolgversprechend benutzt werden kann. Beide Typen können durch Zusatzgeräte (Projektionsleuchte, Projektionsprisma, Kleinspannungstransformator) bedingt für die Mikroprojektion (s. Abb. 14/2) oder sehr gut zur Herstellung maßstabs- und umrißgetreuer mikroskopischer Zeichnungen (s. Abb. 74/1) verwendet werden (z. B. im fakultativen Unterricht der EOS).

### *Kursmikroskope (mittlere Mikroskope)*

**Kursmikroskope** werden für die mikroskopische Arbeit mit Schülern oberer Klassen der allgemeinbildenden Schulen sowie für die spezielleren Anforderungen in biologischen Arbeitsgemeinschaften und Interessenzirkeln benötigt. Kursmikroskope sind auch die

geeigneten Instrumente für Studenten, Lehrer und mikroskopierende Naturfreunde. Ältere (s. Abb. 32/1) und moderne (s. Abb. 15/1, 15/2) Instrumente unterscheiden sich kaum in ihren optischen Leistungen, wohl aber in der Bequemlichkeit und Sicherheit der Bedienung.

Die richtige Benutzung eines Kursmikroskops setzt schon umfangreiche Sachkenntnis und viel Übung voraus. Kursmikroskope erfassen den Vergrößerungsbereich von etwa 50:1 bis 600:1 und ermöglichen neben Hellfeld-Durchlicht-Untersuchungen auch solche mit Auflichtbeleuchtung, Dunkelfeldbeleuchtung und Untersuchungen im polarisierten Licht. Mit entsprechenden Zusatzeinrichtungen lassen sich Mikrofotos guter Qualität herstellen. Die Leistungsfähigkeit dieser Mikroskoptypen und ihr Anwendungsbereich lassen sich durch die Verwendung von genormten Ergänzungsteilen noch stark ausweiten. Der Tubus ist auswechselbar. Wahlweise kann mit Geradtubus bzw. mit monokularem oder binokularem Schrägtubus gearbeitet werden.

Moderne Kursmikroskope sind so ausgestattet, daß sie fast alle Untersuchungsmethoden über den Gesamtbereich der mit Lichtmikroskopen erreichbaren Vergrößerungen ermöglichen. Sie werden auch für die tägliche praktische Arbeit in wissenschaftlichen Laboratorien, Hochschulen sowie von Ärzten und Fachbiologen benutzt.

Abb. 15/1 Mikroskop EDUVAL® 2 des VEB Carl Zeiss JENA für Kurs- und Ausbildungszwecke (monokular, mit Beleuchtungsspiegel oder Netzanschlußleuchte 220/25)

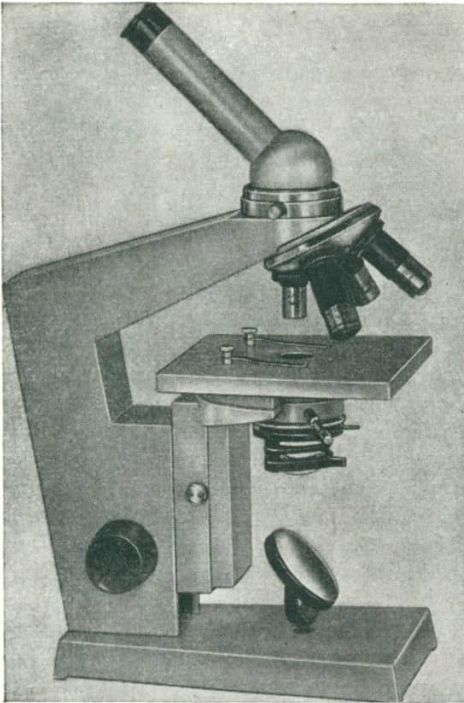


Abb. 15/2 Mikroskop ERGAVAL des VEB Carl Zeiss JENA für Laboratoriumszwecke (binokular, mit eingebauter Beleuchtungseinrichtung)

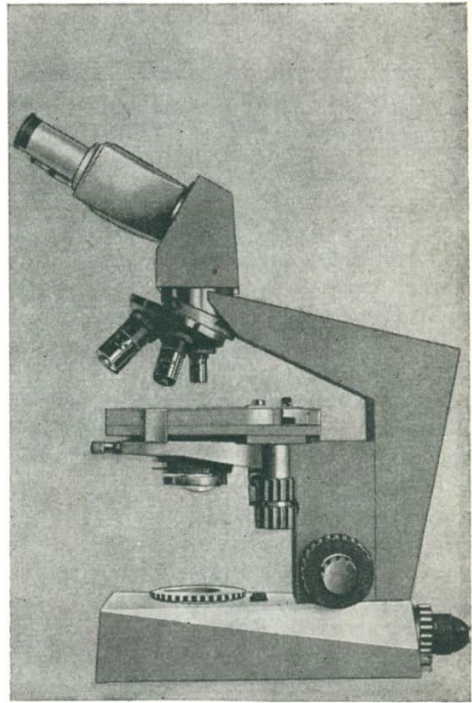
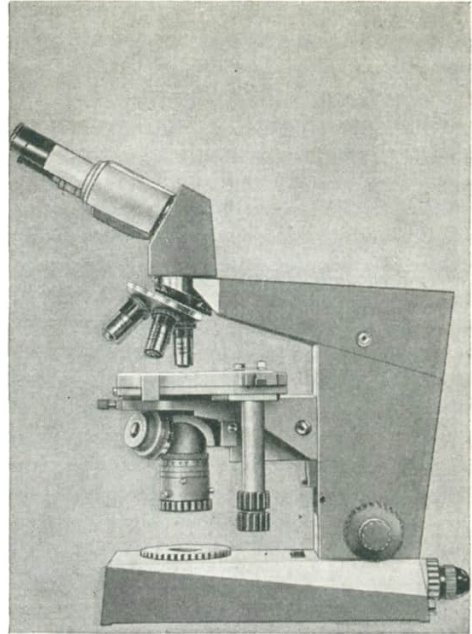




Abb. 16/1 Forschungsmikroskop AMPLIVAL  
des VEB Carl Zeiss JENA



### *Forschungsmikroskope*

**Forschungsmikroskope** ermöglichen bei hohem Bedienungskomfort und großer Wandlungsfähigkeit alle Untersuchungsmethoden über den Gesamtbereich der mit Lichtmikroskopen erreichbaren Vergrößerungen (s. Abb. 16/1). Forschungsmikroskope sind für die Arbeit der Schule, der Lehrer und Naturfreunde nicht erforderlich.

## **Mechanische und optische Teile des Mikroskops**

### *Mechanische Teile*

Jedes Mikroskop besteht aus mechanischen und optischen Teilen. Die mechanischen Teile haben die Aufgabe, die optischen Einrichtungen aufzunehmen und so zu führen, daß von ihnen ein einwandfreies Bild des zu vergrößernden Gegenstandes entworfen werden kann. Ihre Ausführung ist für die Verwendungsfähigkeit mitentscheidend.

Bei den Zeiss-Mikroskopen der L-Baureihe läuft der Tubusträger in einem Zwischenträgerstück, das mit einem Hufeisenfuß verschraubt ist (s. Abb. 32/1). Die mechanische Tubuslänge beträgt 160 mm. Durch die geringe Bauhöhe kann während der Beobachtung eine bequeme Körperhaltung eingenommen werden. Die Hände können zur Bedienung der Triebknöpfe auf dem Tisch liegenbleiben. Der Objektstisch bleibt ständig waagrecht. An dem unteren, blockartig geformten Teil des Tubusträgers ist der Beleuchtungsspiegel kardanisch aufgehängt, kann also in jede beliebige Richtung eingestellt werden. Er ist auf der einen Seite als Plan-, auf der anderen Seite als Hohlspiegel eingerichtet. Am Mittelteil des Tubusträgers ist der runde oder viereckige Objektstisch angebracht. Er hat in der Mitte eine Öffnung, durch die das vom Spiegel reflektierte Licht in das Präparat einfällt. Größere Stative besitzen dreh- und zentrierbare Tische oder Kreuztische. Der Kondensator wird entweder in einer fest mit dem Objektstisch verbundenen Schieböhülse geführt und mit der Hand verstellt oder mit Zahn und Trieb in einer Führung am unteren Abschnitt des Tubusträgers in der Höhe verstellt. Unter

dem Kondensator liegt ein ausschwenkbarer Farbglasshalter, der, je nach Bedarf, zum Beispiel passend gearbeitete Mattglasscheiben, Filter oder Blenden aufnimmt.

Der mittlere Abschnitt des Tubusträgers dient beim Tragen des Instruments als Handgriff. Im oberen Teil des Tubusträgers wird der Tubus, der die Objektiv- und Okulare aufnimmt, von einem Zahnstangentrieb stramm auf zwei glatten Flächen gleitend geführt. Der Tubus kann mit Hilfe des doppelseitig zu bedienenden Grobtriebes schnell gehoben und gesenkt werden. Die letzte Feineinstellung wird beim Beobachten des Präparates, besonders wenn stark vergrößernde Objektive kürzester Brennweite benutzt werden, durch Bedienung des äußerst exakt arbeitenden Feintriebes erzielt. Die Feineinstellung ermöglicht durch ein System von Zahnrädern, die im Zwischenstück liegen, Verschiebungen des Tubus um wenige Mikrometer. Eine volle Umdrehung des ebenfalls beidseitig zu bedienenden Feintriebes hebt oder senkt den Tubus um  $100\ \mu\text{m}$ , also  $0,1\ \text{mm}$ . Der Feintrieb muß sehr vorsichtig bedient werden. Man darf ihn nicht benutzen, wenn eine größere Verschiebung des Tubus notwendig ist. Dazu dient der viel weniger empfindliche Grobtrieb. Der Drehsinn beider Triebe ist gleich. Grob- und Feintrieb wirken auf den Tubusträger.

Mikroskope der typisierten Zeiss Mikroval-Reihe haben koaxial angeordnete Triebknöpfe (s. Abb. 15/2, 16/1) oder einen beidseitig bedienbaren Kombinationstrib, der auf den Objektstisch wirkt. Am unteren Ende des Tubus ist ein Objektivrevolver befestigt, der 4 bis 5 Objektive aufnehmen kann. Die Objektive werden mit Hilfe des Revolvers ausgewechselt. Er bringt durch eine Drehbewegung jedes gewünschte Objektiv mit größtmöglicher Genauigkeit in die optische Achse. Damit der Arbeitsablauf nicht gestört wird, werden die Objektive so in den Revolver geschraubt, daß bei Drehung im Uhrzeigersinn nacheinander Objektive steigender Vergrößerungsleistung in den Strahlengang gelangen.

Im oberen Teil des Haupttubus befindet sich die Okularschiebehülse, die das Okular aufnimmt.

### *Arten, Bau und Verwendung der Objektive*

Von der optischen Qualität der Objektiv- hängt die Leistungsfähigkeit eines Mikroskops in hohem Maße ab. Bekanntlich haften einer jeden Linse gewisse Fehler an (sphärische Aberration, Bildfeldwölbung, Astigmatismus, chromatische Aberration, Koma), die es unmöglich machen, mit einfachen Linsen fehlerfreie Abbildungen zu erzielen. Um diese Bildfehler zu beheben, werden Kombinationen aus Sammel- und Zerstreuungslinsen verschiedener optischer Dichte (Linsensysteme) benutzt. Da die genannten Abbildungsfehler miteinander zusammenhängen und keiner derselben völlig auskorrigiert werden kann, muß bei der Berechnung solcher Linsensysteme versucht werden, einen geschickten, dem Verwendungszweck möglichst gut angepaßten Kompromiß zwischen den Fehlern zu finden. Für die einzelnen Arbeitsgebiete stehen Gruppen von Objektiven verschiedenen Korrektionszustandes zur Verfügung: Achromate, Planachromate, Apochromate und Planapochromate. Ihre wichtigsten Eigenschaften werden nachfolgend beschrieben.

Bei den achromatischen Objektiven, meist kurz Achromate genannt, liegt eine ausgeglichene Korrektion aller Linsenfehler vor, noch vorhandene Restfehler wirken sich kaum störend aus. Obwohl „achromatisch“ farbfrei heißt, liefern die Achromate nicht ganz farbne Bilder. Ihre günstigste Korrektion wird in den gelbgrünen Teil des Spektrums gelegt, für den unser Auge am empfindlichsten ist. Daher ist beim Mikro-

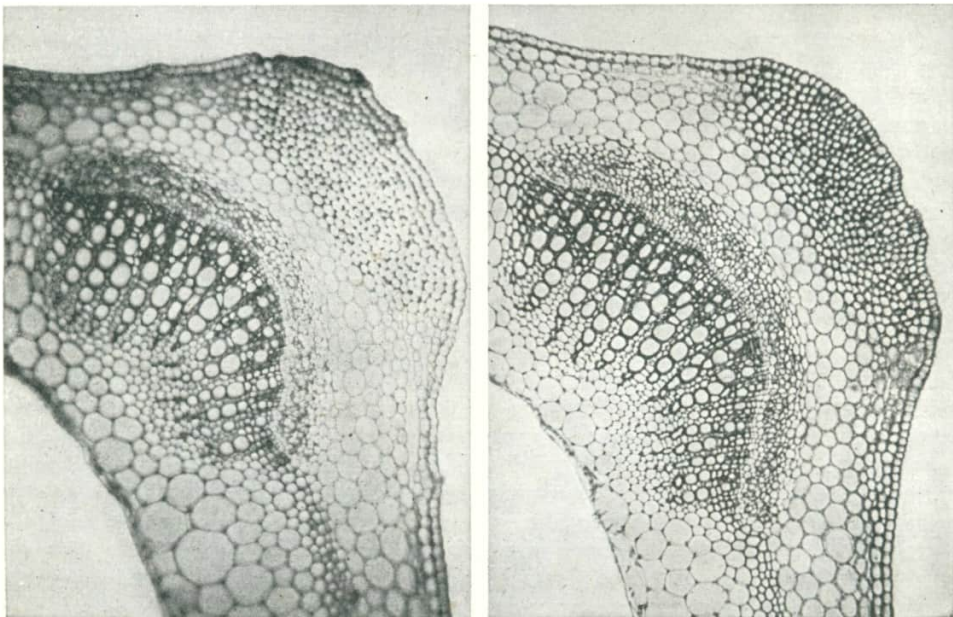
skopieren der Farbreistfehler im blauen und roten Teil des Spektrums kaum zu bemerken. Die Bilder in diesen beiden Spektralbereichen werden etwas weiter vom Objektiv entfernt oder etwas näher an diesem abgebildet. Dadurch sind die von Achromaten erzeugten Bilder von einem ganz leichten farbigen Saum, dem sogenannten sekundären Spektrum, umgeben. Da diese Säume dem Teil des Spektrums angehören, für den unser Auge relativ wenig empfindlich ist, stören sie nicht. Bei guten Objektiven werden sie überhaupt erst bei Anwendung schiefer Beleuchtung sichtbar. Außerdem zeigen Achromate, wenn auf die Bildmitte scharf eingestellt ist, gegen den Rand des Bildfeldes zu eine leichte Unschärfe (Bildfeldwölbung), die sich jedoch durch Betätigen des Feintriebtes ausgleichen läßt. Störend wirken sich die Restfehler der Achromate besonders bei der Mikrofotografie aus (s. S. 84). Für die meisten Forschungszwecke sowie für alle schulischen Arbeiten reichen Achromate vollkommen aus.

Planachromate sind besonders für mikrofotografische Zwecke geeignet, da sie ein ebenes Objekt auch wieder in einer Ebene scharf abbilden. Im übrigen haften ihnen die gleichen Farbreistfehler an wie den Achromaten.

Apochromate haben eine bessere Farbkorrektur als Achromate. Auch bei den Apochromaten tritt Bildfeldwölbung ein, die allerdings bei den in letzter Zeit entwickelten Planapochromaten weitgehend beseitigt ist. Apochromatische Objektive sind die bevorzugten Objektive des Forschers, der feinste Details feststellen muß. Sie lösen besser auf als zum Beispiel Achromate (s. Abb. 18/1). Apochromate sind hochkorrigiert und des-

Abb. 18/1 Taubnessel (*Lamium* sp.); Sproßquerschnitt

Aufnahmen desselben Objekts mit verschiedenen Objektivtypen; links Aufnahme mit Achromat, rechts Aufnahme mit Apochromat. Deutlich ist die gleichmäßig scharfe Wiedergabe der Objektstrukturen bis zum Bildrand bei der Aufnahme mit dem apochromatischen Objektiv zu erkennen (40 : 1/69 : 1)



halb sehr teuer. Die verschiedenen Objektivtypen werden mit speziell konstruierten Okularen kombiniert (Okulartyp A für Achromate, AK für stärkere Achromate und PK für Planachromate, Apochromate und Planapochromate). Die Objektive sind sehr kompliziert aufgebaut. Die dem zu untersuchenden Gegenstand zugewandete Linse (Frontlinse) ist meist plankonvex geschliffen und von nahezu halbkugelförmiger Gestalt. Sie sammelt die vom Untersuchungsobjekt ausgehenden Strahlen. Je stärker die Krümmung der Frontlinse, desto kleiner ist diese und desto stärker vergrößert sie. Schwach vergrößernde Objektive kann man also rein äußerlich an ihrer großen, stark vergrößernde Objektive an ihrer kleinen Frontlinse erkennen. Alle sonst am Objektiv vorhandenen Linsen dienen vorwiegend der Korrektur. Die dem Okular zugewandte Linse wird als Hinterlinse bezeichnet und ist wesentlich größer als die Frontlinse.

Die Brennweite ist der Vergrößerung umgekehrt proportional: sie sinkt also im gleichen Verhältnis wie die Vergrößerung zunimmt. Da sie jedoch von einem innerhalb des Objektivs gelegenen Punkt aus gemessen wird, ist sie nicht gleichzusetzen mit dem sogenannten freien Objektstand, der Entfernung des Brennpunktes von der meist plangeschliffenen Vorderfläche der Frontlinse. Ganz allgemein gesehen sinkt jedoch bei zunehmender Vergrößerung mit der Brennweite auch der freie Objektstand des Objektivs. Stark vergrößernde Objektive müssen also dem zu beobachtenden Gegenstand viel stärker genähert werden als schwach vergrößernde. Damit wächst selbstverständlich die Gefahr, die Frontlinse durch Unachtsamkeit zu beschädigen.

Wie schon betont, bilden mikroskopische Objektive nur in einer Ebene liegende Punkte gleichzeitig scharf ab, lassen sich also nur auf jeweils eine Ebene des Präparats scharf einstellen. Durch Heben und Senken des Tubus oder des Objektisches muß man, um sich einen Gesamteindruck des zu untersuchenden Präparats zu verschaffen, nacheinander auf verschiedene Präparatebenen scharf einstellen. Nur so läßt sich das mangelnde „Durchdringungsvermögen“, die geringe Tiefenschärfe der Objektive, ausgleichen. Diese Tiefenschärfe sinkt mit steigender Vergrößerungsleistung und zunehmendem Auflösungsvermögen des Objektivs.

Das Auflösungsvermögen (Fähigkeit des Objektivs, dicht nebeneinandergelegene Punkte getrennt abzubilden) ist der beste Maßstab für die Qualität der Objektive. Seine Grenze liegt beim Lichtmikroskop bei etwa  $0,2\ \mu\text{m}$ . Es werden also noch Punkte getrennt abgebildet, deren Abstand  $\frac{1}{5000}$  mm beträgt. Die im Präparat dicht nebeneinandergelegenen Strukturen wirken auf das durchfallende Licht wie ein feines Gitter; das Licht wird also auf Grund der wellenoptischen Gesetze an ihnen gebeugt. Es entstehen durch Interferenz sogenannte Beugungsspektren (s. Abb. 20/1). Zonen von durch Interferenz entstandener Helligkeit bezeichnet man als Maxima, dunkle Zonen als Minima. Der Abstand der Zonen voneinander ist um so größer, je feiner die Strukturen des Präparats sind. Das mittlere Maximum wird mit 0, die links von ihm werden mit  $- I$ ,  $- II$  usw., die rechts von ihm mit  $+ I$ ,  $+ II$  usw. bezeichnet. Ernst ABBE wies nach, daß ein objektähnliches Abbild des Gegenstandes nur dann entstehen kann, wenn außer dem 0. auch noch die  $\pm I$ . Maxima vom Objektiv aufgenommen werden. Je mehr Maxima von der Öffnung des Objektivs, der Frontlinse, aufgenommen werden, desto objekttrouer wird die Abbildung, desto größer ist das Auflösungsvermögen des Objektivs.

Das Auflösungsvermögen hängt also stark vom Öffnungswinkel des Objektivs ab. Darunter versteht man den Winkel zwischen den beiden Randstrahlen, die vom Mittelpunkt des Untersuchungsobjekts kommen und gerade noch in die Frontlinse fallen (s. Abb. 21/1). Je größer der Öffnungswinkel, desto schiefere Strahlen können einfallen,

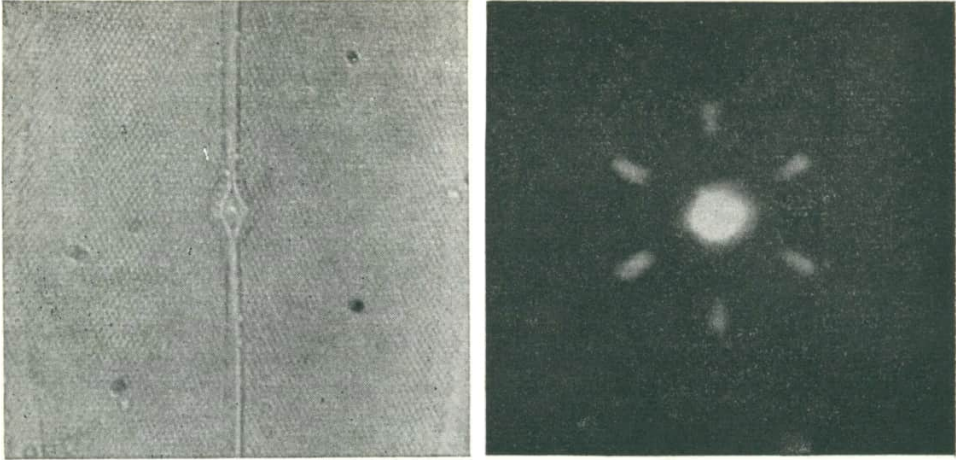


Abb. 20/1 Durch die Kieselalge *Pleurosigma angulatum* (links) erzeugte und in der hinteren Öffnung eines Objektivs HI 90/1,25 zu beobachtende Beugungsmaxima (rechts). In der Mitte das 0. Maximum, strahlenförmig angeordnet die 1. Maxima. Einstellung des Mikroskops bei Herstellung beider Aufnahmen völlig gleich

desto mehr Maxima werden also aufgenommen und tragen zur Bildentstehung bei. Damit wächst auch die Bildhelligkeit. Objektive sehr kurzer Brennweite, also geringen freien Objektabstandes, besitzen einen größeren Öffnungswinkel und damit ein höheres Auflösungsvermögen als solche, die bei schwacher Vergrößerung und großem freien Objektabstand weit vom Präparat entfernt sind und trotz größerer Frontlinse nur einen enger begrenzten Strahlenkegel aufnehmen können.

Der Öffnungswinkel stellt also bei Mikroobjektiven eine sehr wesentliche Größe für deren optische Leistungsfähigkeit dar. Das Auflösungsvermögen wird von der **numerischen Apertur** (n. A.) bestimmt:  $n. A. = n \cdot \sin \alpha$ , wobei  $n$  die Brechzahl des Mediums zwischen Objektträger und Frontlinse und  $\alpha$  der halbe Öffnungswinkel des Objektivs ist.

Der Wert der numerischen Apertur ist jedem Markenobjektiv als Dezimalzahl aufgraviert und kann im Höchstfall, aber nur bei sogenannten Immersionsobjektiven (s. S. 21), den Wert 1,60 erreichen.

Der Steigerung der numerischen Apertur stellen sich dadurch Schwierigkeiten entgegen, daß die vom Objektiv ausgehenden Strahlen an der Deckglasoberfläche, beim Übertritt aus einem stark brechenden (Glas) in ein schwächer brechendes Medium (Luft), gebrochen bzw. bei einem größeren Einfallswinkel als  $42^\circ$  total reflektiert werden und somit nicht ins Objektiv gelangen können. Diese Brechung vergrößert also noch den durch die Beugung entstandenen Winkel und kann bei Überschreitung des Grenzwinkels (etwa  $42^\circ$ ) zur Totalreflexion und damit zum Verlust wesentlicher Maxima führen. Bringt man nun zwischen Deckglas und Frontlinse ein flüssiges Medium, das etwa den gleichen Brechungsindex hat wie Glas (z. B. Wasser, Immersol), so wird die Brechung vermindert bzw. die Totalreflexion an der Deckglasoberfläche aufgehoben. Es können mehr Maxima ins Objektiv eintreten, der wirksame Öffnungswinkel und somit auch die numerische Apertur, das Maß für das Auflösungsvermögen, steigen

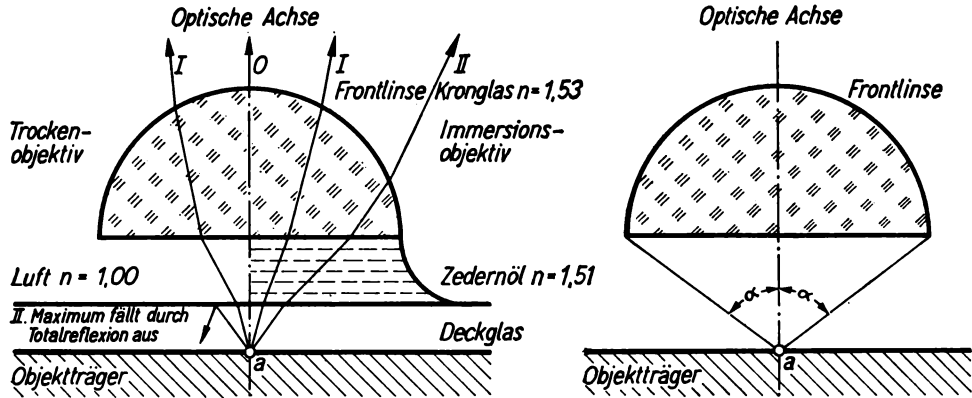


Abb. 21/1 Die Wirkung von Trocken- und Immersionssystemen  
 0, I, II Beugungsmaxima,  $2\alpha$  Öffnungswinkel des Objektivs,  $\alpha$  halber Öffnungswinkel,  
 $n$  Brechzahl,  $a$  auf der optischen Achse gelegener Objektpunkt

(s. Abb. 21/1). Steigt die Brechzahl des Mediums zwischen Frontlinse und Objektiv, so muß auch der Wert der  $n \cdot A$  und damit das Auflösungsvermögen steigen. Da diese Objektive in einen Tropfen Immersionsflüssigkeit getaucht werden, nennt man sie Eintauch- oder Immersionssysteme im Gegensatz zu den Trockensystemen, bei denen sich zwischen Deckglas und Frontlinse Luft befindet. Trockensysteme können höchstens die numerische Apertur 0,95 aufweisen. Objektive höchster Vergrößerungsleistung und Auflösungsfähigkeit müssen also immer Immersionssysteme sein.

Für den schulischen Bedarf kann normalerweise auf Immersionsobjektive verzichtet werden. Von Kursmikroskopen werden grundsätzlich eventuell vorhandene Immersionsobjektive entfernt, ehe die Instrumente durch Schüler benutzt werden.

In Markenobjektive sind Angaben über die wesentlichsten der soeben geschilderten Eigenschaften eingraviert. Die Bezeichnung H I 100/1,25 bedeutet bei einem Zeiss-Objektiv, daß es sich um eine Ölimmersion mit 100facher Eigenvergrößerung und der numerischen Apertur 1,25 handelt. Weitere Angaben beziehen sich auf die erforderliche Deckglasdicke und den Arbeitsabstand.

Technische Angaben zu wichtigen Objektiven des VEB Carl Zeiss JENA und ihre Kombination mit dem entsprechenden Okulartyp:

#### Achromate

Maßstabszahl	numerische Apertur	Deckglas-Korrektion	Arbeitsabstand (mm)	Okulartyp
10	0,25	—	7,2	A
16	0,32	0,17	2,8	A
40	0,65	0,17	0,5	A, PK
63	0,80	0,17	0,2	A, PK
HI 100	1,25	0,17	0,06	A, PK

## Apochromate

Maßstabszahl	numerische Apertur	Deckglas-Korrektion	Arbeitsabstand (mm)	Okulartyp
6,3	0,20	—	6,7	PK
16	0,40	0,17	2,3	PK
40	0,95	0,17	0,15	PK
HI 100	1,32	0,17	0,06	PK

Ein sehr wesentliches Hilfsmittel zur Benutzung der Objektive ist der Objektivrevolver. Da Markenobjektive eines Mikroskoptyps miteinander abgeglichen sind, das heißt nach Objektivwechsel sofort wieder ein annähernd scharfes Bild ergeben, ist die Arbeit mit einem Objektivrevolver sehr bequem. Nicht abgeglichen werden Objektive schwächster Vergrößerung und Immersionsobjektive. Immersionsobjektive können nicht ohne weiteres umgeschwenkt werden, weil sie erst nach Heben des Tubus und Aufbringen der Immersionsflüssigkeit auf das Präparat durch Senken des Tubus eingetaucht werden können. Objektive für die Zeiss L-Baureihe (kurze Bauart, s. S. 16) können an Mikroskopen der neuen Mikroval-Baureihe (s. S. 17) nicht verwendet werden!

### *Arten, Bau und Verwendung der Okulare*

Okulare vergrößern das vom Objektiv entworfene reelle Bild so weit, daß die Einzelheiten des Objekts leicht zu erkennen sind. Das reelle Bild wird also mit dem Okular ebenso betrachtet wie ein Gegenstand mit der Lupe. Am häufigsten wird das **Huygenssche Okular** verwendet. Es besteht aus einem stabilen Metallrohr, in das zwei Linsen gefaßt sind. Die obere, dem Auge zugewandte, wird als Augenlinse, die untere als Kollektivlinse bezeichnet. Beide wenden ihre gekrümmten Flächen dem Objektiv zu. Die Kollektivlinse macht das vom Objektiv divergent ankommende Strahlenbündel konvergent, so daß alle Objektivstrahlen von der Augenlinse erfaßt werden können. Diese bildet das vom Objektiv im Okular entworfene reelle Zwischenbild ab. Die Ebene, in der das vom Objektiv entworfene Bild liegt, wird als Ebene der Zwischenabbildung bezeichnet; sie befindet sich zwischen Kollektiv- und Augenlinse. Genau in dieser Bildebene ist eine Blende angeordnet, die Sehfeldblende heißt. Sie ruft die Kreisform des Sehfeldes hervor. Huygenssche Okulare sind auf Grund ihrer Korrektion nicht in der Lage, Fehler der Objektive auszugleichen. Sie werden vorwiegend in Verbindung mit achromatischen Objektiven benutzt und reichen für alle gewöhnlichen Arbeiten aus. Huygenssche Okulare sind billig. Sie werden mit etwa 5- bis 16facher Eigenvergrößerung gebaut.

**Kompensationsokulare**, die vorwiegend in Verbindung mit Apochromaten und Planapochromaten benutzt werden, gleichen durch entgegengesetzte Korrektion die chromatische Vergrößerungsdifferenz dieser Objektive weitgehend aus. Kompensationsokulare lassen sich auch bei Arbeiten mit starken Achromaten (ab 40 x) gut verwenden. Sie haben zwei Linsensysteme, sind entsprechend teuer und werden mit 6,3- bis 32facher Eigenvergrößerung gebaut.

**Fotookulare** und **Projektive** sind speziell für mikrofotografische Zwecke und für die Mikroprojektion konstruiert. Durch Verstellen der Augenlinse können Fotookulare genau auf die optische Länge der verwendeten Kamera eingestellt werden. Darüber hinaus gleichen sie die Bildfeldkrümmung, eine bei fotografischen Arbeiten sehr störende Erscheinung, in gewissen Grenzen aus.

Mit **Meßokularen**, die vorher mit einem Objektmikrometer geeicht wurden, können kleine Objekte exakt gemessen werden. Man benötigt sie vor allem für genaue Bestimmungsarbeiten und beim Festlegen des Abbildungsmaßstabes mikroskopischer Zeichnungen. Beim **Zeigerokular** ist in der Blendenebene ein von außen beweglicher Zeiger angebracht, der bei Demonstrationen so eingestellt wird, daß seine Spitze auf die zu beobachtende Präparatstelle zeigt. Besonders bei Schülerübungen gibt das Zeigerokular eine gewisse Sicherheit, daß das Wesentliche beachtet wird.

Zeigerokulare können aus einem vorhandenen Huygens- oder Kompensationsokular hergestellt werden. Man schraubt dazu die Fassung der Augenlinse ab (Okulare darf man selbst auseinanderschrauben, Objektive nie!) und klebt ein feines Haar, beispielsweise eine Augenwimper, so auf den Ring der Sehfeldblende, daß seine Spitze zur Mitte des Sehfeldes weist. Da dieser Zeiger nicht verstellt werden kann, muß entweder das Okular gedreht oder das Präparat so lange verschoben werden, bis die zu kennzeichnende Stelle an der Zeigerspitze liegt (s. Abb. 23/1).

Die Fassung der Augenlinse trägt die genaue Bezeichnung des Okulars, bei Huygens-Okularen ein „A“, bei Okularen mit Kompensationswirkung ein AK oder PK. Darüber hinaus wird die Lupenvergrößerung angegeben. Für schulische Zwecke kommt man im allgemeinen mit schwachen und mittleren Huygensschen Okularen aus.

Der Gedanke, die Gesamtvergrößerung des Mikroskops, die bekanntlich gleich dem Produkt aus Objektiv- und Okularvergrößerung ist, durch Verwendung starker und stärkster Okulare zu steigern, ist abwegig. Die Okulare erfüllen ihre Aufgabe, die Einzelheiten des vom Objektiv erzeugten Bildes dem Auge des Betrachters leicht erfäßbar zu machen, erst dann, wenn die mit ihrer Hilfe erzielte Gesamtvergrößerung mindestens das 500fache der numerischen Apertur des benutzten Objektivs beträgt.

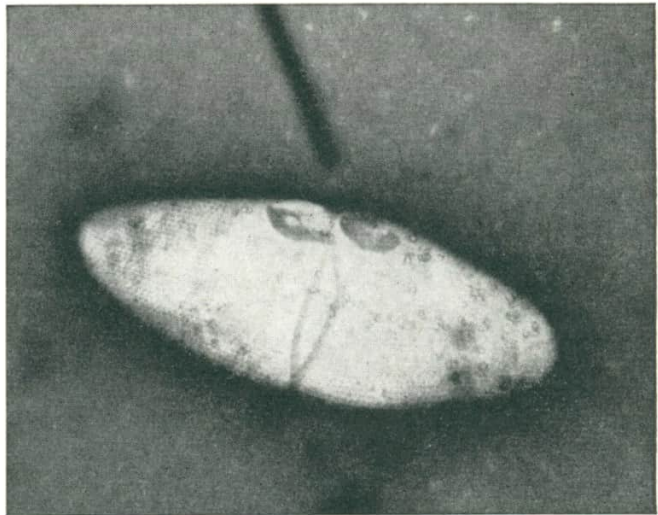


Abb. 23/1 Beginnende Teilung beim Pantoffeltierchen (Mundfeld!), Opalblau-Präparat; Mikroaufnahme mit behelfsmäßigem Zeigerokular



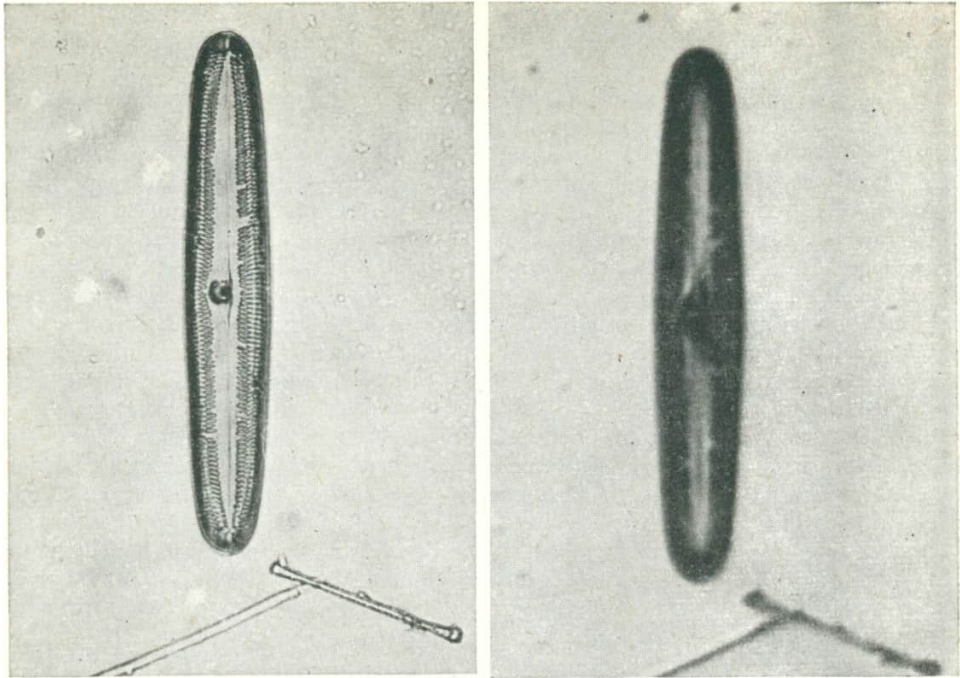


Abb. 24/1 Diatomee; links echte, rechts leere Vergrößerung durch Überschreiten der förderlichen Vergrößerung (80: 1/360: 1)

Man nennt diesen Wert die förderliche Vergrößerung. Das 500fache der n. A. stellt die untere Grenze, das 1000fache der n. A. die obere Grenze der förderlichen Vergrößerung dar. Der geübte Mikroskopiker arbeitet im unteren Bereich der förderlichen Vergrößerung, der im mikroskopischen Sehen ungeübte Anfänger, der Einzelheiten bei stärkerer Vergrößerung besser erkennt, im oberen Bereich der förderlichen Vergrößerung. Ihr Gesamtbereich würde bei einem Objektiv 40facher Eigenvergrößerung und der n. A. 0,65 zwischen 325 : 1 und 650 : 1 liegen. In diesem Vergrößerungsbereich lassen sich alle von diesem Objektiv aufgelösten Strukturen erkennen. Verwendet man aber mit dem genannten Objektiv ein 20fach vergrößerndes Okular, so steigt zwar die Vergrößerung rein rechnerisch auf 800 : 1, nutzbar ist sie jedoch nicht, da ja keine weiteren Struktureinheiten hinzugekommen sind. Solche völlig wertlosen Vergrößerungen werden als leere Vergrößerungen bezeichnet (s. Abb. 24/1). Da die besten Immersionsobjektive eine numerische Apertur von 1,60 aufweisen, liegt die höchste mit Lichtmikroskopen erreichbare nutzbare Vergrößerungsleistung bei 1600 : 1. Diese Grenze wird in der Praxis nur dann überschritten, wenn es nicht auf feinste Struktureinheiten ankommt, sondern wenn lediglich Messungen oder Zählungen feinsten Teilchen durchgeführt werden sollen.

## *Verwendung der Tuben*

Monokulares Mikroskopieren an Instrumenten, die nur mit einem Geradtubus (Schülermikroskope, ältere Mikroskoptypen) ausgerüstet sind, überbeansprucht das von Anfängern fast ausschließlich benutzte rechte Auge und ermüdet auf die Dauer stark. Die Fähigkeit, an monokularen Instrumenten mit zwei geöffneten Augen zu arbeiten, kann nur durch lange Übung erworben werden (s. S. 68 ff.).

Um eine bequemere Körperhaltung zu ermöglichen, werden moderne Stative mit monokularen Schrägtuben ausgestattet (s. Abb. 15/1). Ein Prisma knickt die vom Objektiv kommenden Strahlen um etwa  $45^\circ$  und leitet sie dem Okular zu.

Moderne Stative können wahlweise mit monokularen (Mikrofotografie, Mikroskopie mit polarisiertem Licht) oder mit binokularen Tuben benutzt werden. Durch **binokulare Tubusaufsätze** wird die Überbeanspruchung eines Auges und die daraus resultierende Gefahr schneller Ermüdung vermieden.

In binokularen Tubusaufsätzen mit Schrägeinblick wird das vom Objektiv entworfene Bild durch Prismen geteilt, um etwa  $45^\circ$  geknickt und zwei gleichen Okularen zugeleitet. Da sich die Helligkeit des Einzelbildes dadurch verringert, setzt binokulares Mikroskopieren eine gute natürliche oder künstliche Beleuchtung voraus. Binokulare Tubusaufsätze haben meist eine etwa 1,5fache Eigenvergrößerung. Der eventuell vorhandene Eigenvergrößerungsfaktor ist dem Tubus aufgraviert. Er muß bei der Berechnung der Gesamtvergrößerung berücksichtigt werden (Produkt aus Objektiv- und Okularvergrößerung mit diesem Faktor multiplizieren).

Binokulartuben müssen – wie Ferngläser – auf den individuellen Augenabstand eingestellt werden. Der richtige Abstand ist gefunden, wenn sich die zunächst getrennten Bilder beider Augen zu einem Bild vereinigen. Den richtigen Abstandswert kann man an einer entsprechenden Skala des Binokulartubus ablesen.

Brillenträger benutzen auch Binokulartuben ohne ihre Gläser. Fehlsichtigkeit eines Auges kann durch einen Dioptriensterring, der meist am linken Okularstutzen angebracht ist, ausgeglichen werden. Dazu wird der Tubus zunächst auf den richtigen Augenabstand des Betrachters eingestellt. Bei geschlossenem linken Auge wird dann nur mit dem rechten Auge auf ein Präparat durch Bedienung des Grob- und Feintriebesscharf eingestellt. Nun wird das rechte Auge geschlossen und nur mit dem linken beobachtet. Das Scharfstellen des mit dem linken Auge gesehenen Bildes geschieht dann ausschließlich mit dem Dioptriensterring. Der Unterschiedswert zum rechten Auge kann auf einer Skala am Stelling abgelesen werden.

Beobachterwechsel an Binokulartuben bringt fast immer die Notwendigkeit mit sich, Augenabstandseinstellung und Korrektoreinstellung des linken Okulars zu verändern. Es ist deshalb vorteilhaft, sich die ermittelten Werte zu notieren.

Da die zur Bildteilung verwendeten Prismen depolarisierende Wirkung haben, können binokulare Tuben bei Arbeiten mit polarisiertem Licht nur bedingt oder nicht verwendet werden. Das gilt auch für monokulare Schrägtuben.

Zeichenspiegel und andere Projektionszeichengeräte werden besser in Verbindung mit monokularen Tuben verwendet, da nur so eine volle Lichtausbeute garantiert ist.

Mikrofotografische Arbeiten werden mit monokularen Geradtuben durchgeführt.

Da binokulare Tubusaufsätze die von nur einem Objektiv entworfenen Bilder teilen und lediglich zwei getrennten Okularen zuleiten, ist eine wirkliche stereoskopische Betrachtung bei vorschriftsmäßiger Einstellung nicht möglich.

## Stereomikroskope

Echte stereoskopische Betrachtung ist mit Hilfe von je zwei getrennten Objektiven und Okularen zu erreichen. Solche Voraussetzungen geben zum Beispiel die stereoskopischen binokularen Mikroskope nach GREENOUGH. Bei ihnen sind praktisch zwei vollständige Mikroskope so zu einem Gerät vereint, daß die optischen Achsen beider Tuben – wie die Augenachsen – in einem Winkel von  $14^\circ$  gegeneinander geneigt sind. Dieser Bautyp hat sich als Präpariermikroskop sehr bewährt.

Moderne Stereomikroskope sind mit nur einem Objektiv ausgestattet. Auch mit einem Objektiv und zwei getrennten Okularen können gute räumliche Bilder erzielt werden, wenn das Objektiv eine unendliche Schnittweite hat. Das Objekt wird zunächst im Unendlichen abgebildet. Eine dicht über dem Objektiv liegende Schaltwalze mit zwei Fernrohrsystemen sowie Tubuslinsen, Umkehrprismen und Okulare vervollständigen die optische Ausstattung (s. Abb. 26/1).

Stereomikroskope eignen sich vorzüglich für mikro-stereoskopische Forschungs- und Präparierarbeiten. Es kann mit Auflicht-, Durchlicht- und Mischlichtbeleuchtung gearbeitet werden. Dem Verwendungszweck entsprechend liegen die Vergrößerungsleistungen etwa zwischen 6,3 : 1 und 100 : 1. Erweiterte Oberschulen sollten für Kurszwecke mindestens ein Stereomikroskop zur Verfügung haben.

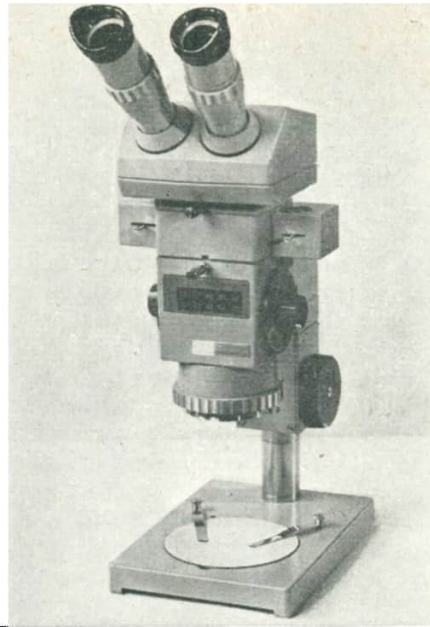


Abb. 26/1 Stereomikroskop TECHNIVAL-Standardausführung des VEB Carl Zeiss JENA für mikrostereoskopische Untersuchungen und Präparierarbeiten.

## *Bau und Verwendung der Beleuchtungsoptik*

Die Qualität der Beleuchtungsoptik hat große Bedeutung für die Erzielung guter mikroskopischer Bilder. Mikroskopische Präparate sind meist durchsichtig oder werden in oft recht komplizierten Arbeitsgängen durchsichtig gemacht. Im Normalfall werden sie von unten her mit durchfallendem Licht beleuchtet. Bei Schülermikroskopen besorgt das ausschließlich der **Beleuchtungsspiegel**, der konkav geschliffen und in einer gabelförmigen Fassung kardanisch aufgehängt ist. Dieser Hohlspiegel ist so konstruiert, daß der Brennpunkt der Strahlen in der Objektebene liegt.

Da der Spiegel allein nicht in der Lage ist, die n. A. mittlerer bis starker Objektive auszuleuchten, das heißt Strahlen von genügender Neigung zu reflektieren, werden an Instrumenten höherer Leistung **Kondensoren** verwendet. Sie sind in der Wirkung einem umgekehrten, mit der Frontlinse nach oben zeigenden Objektiv vergleichbar.

Die **Beleuchtungsapertur (BA)** ist von großer Bedeutung für die Bildqualität. Im beleuchtenden Strahlenkegel werden Zentralstrahlen und Randstrahlen unterschieden.

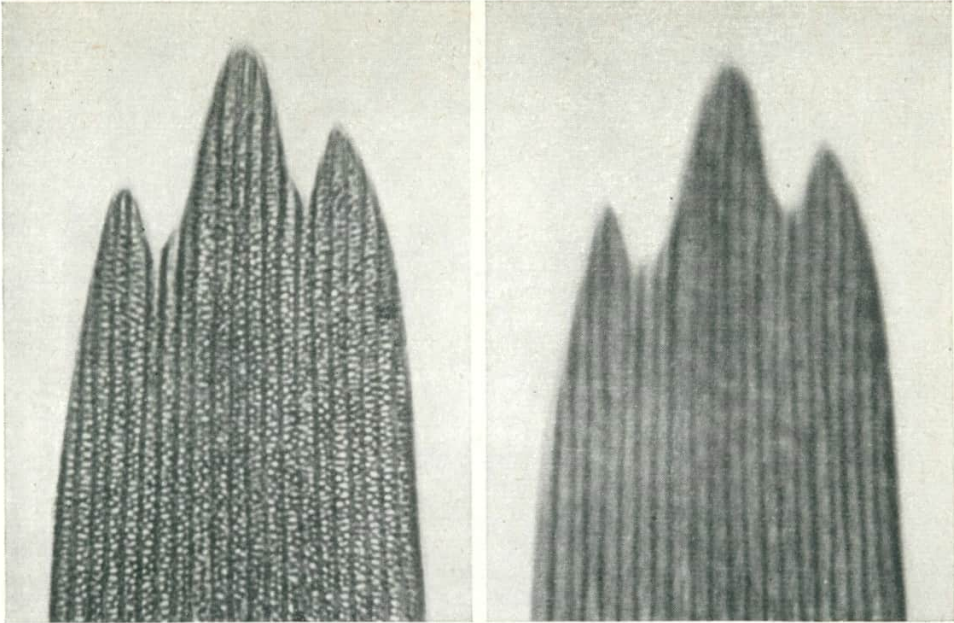
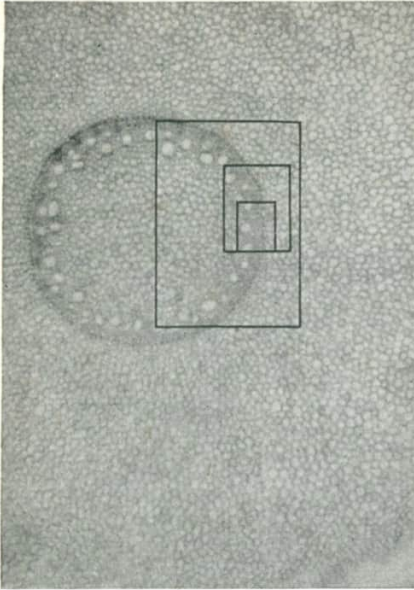


Abb. 27/1 Schwalbenschwanz (*Papilio machaon*); Flügelschuppe  
Auswirkung der Abstimmung der BA auf die n. A. des verwendeten Objektivs (100 : 1, n. A. 1,30) auf das Auflösungsvermögen; links BA 1,20, rechts BA 0,20

Zentralstrahlen fallen gerade ein und haben daher eine sehr niedrige Apertur. Randstrahlen fallen schräg ein und weisen eine hohe Apertur auf. Je größer die Apertur der Beleuchtungsstrahlen ist, desto mehr Beugungsmaxima gelangen ins Objektiv, und desto besser ist die Auflösung. Benutzt man bei einer Untersuchung ein Achromat 40facher Eigenvergrößerung und der n. A. 0,65 und beleuchtet mit einem Hohlspiegel, so kann das erzeugte Bild trotz besten Objektivs keine gute Auflösung zeigen, da der Hohlspiegel nur eine BA von etwa 0,2 liefert. Die hohe n. A. des Objektivs kann nicht genutzt werden (s. Abb. 27/1).

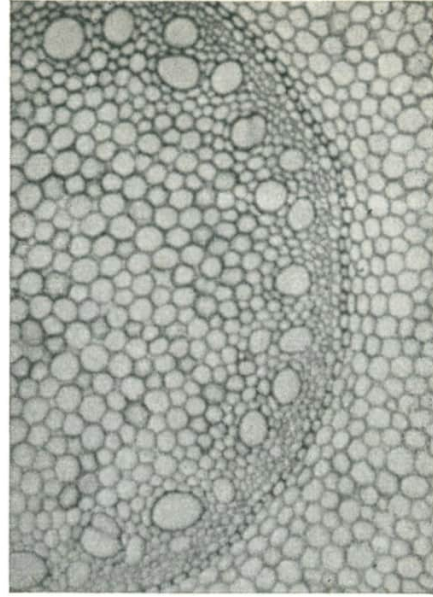
Die gebräuchlichsten Kondensoren bestehen aus zwei auseinanderschraubbaren, in zylindrische Metallröhren gefaßten Linsen. Sie erzeugen durch Konzentrierung der vom Planspiegel reflektierten parallelen Strahlen eine Beleuchtungsapertur von 1,2. Spezialkondensoren verfügen sogar über die BA 1,4. Dabei muß jedoch wieder darauf verwiesen werden, daß Aperturen über 1,0 nur dann erreicht werden können, wenn die optischen Systeme immigriert, das heißt durch ein Mittel des annähernd gleichen Brechungsindex wie Glas miteinander verbunden werden. Also muß bei Benutzung von Immersionsobjektiven auch zwischen die Frontlinse des Kondensors und die Unterseite des Objektträgers ein Tropfen Immersionsflüssigkeit gebracht werden.

Da einerseits ein enger Zusammenhang zwischen Apertur und Sehfelddurchmesser besteht – hohe Aperturen und damit hohe Vergrößerungen bedingen kleine Sehfelder und umgekehrt (s. Abb. 28/1) –, andererseits aber die Kondensoren so gebaut sein müssen, daß sie die Apertur auch des stärksten am betreffenden Instrument verwendeten



a Objektiv 3/0,10, Okular 7×

c Objektiv 24/0,42, Okular 7×



b Objektiv 10/0,25, Okular 7×

d Objektiv 40/0,65, Okular 7×

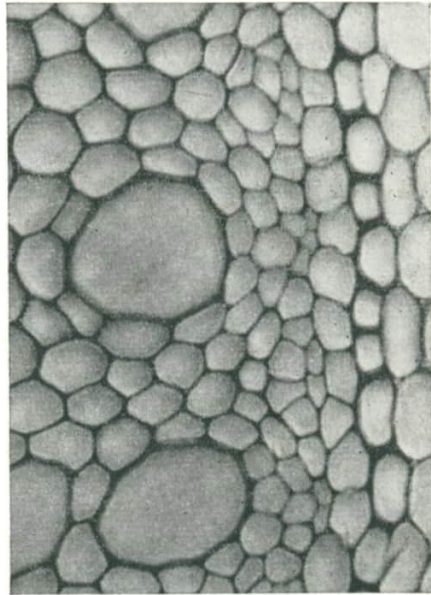
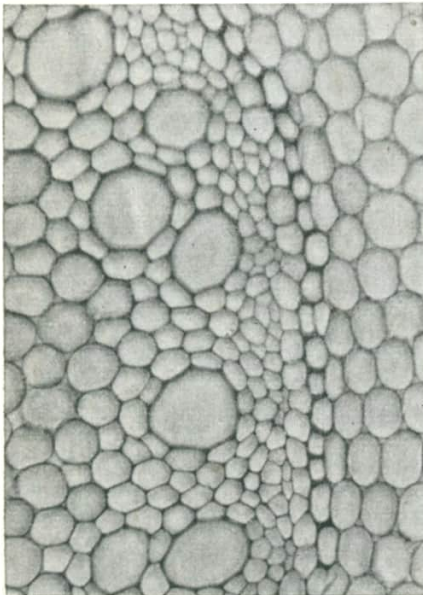


Abb. 28/1 Wurzelquerschnitt von *Iris germanica*, unterschiedlich stark vergrößert.  
Die Sehfelder b, c und d sind in Abb. a eingezeichnet (a 11 : 1/25 : 1, b 35 : 1/79 : 1;  
c 84 : 1/189 : 1, d 140 : 1/315 : 1)

Objektivs ausleuchten, kann es vorkommen, daß bei Verwendung schwacher Objektive geringer Apertur der Kondensator das relativ große Sehfeld desselben nicht ausleuchten kann. Kondensoren hoher BA leuchten bei ihrem kurzen Arbeitsabstand nur ein kleines Sehfeld aus. Um hohe und niedrige Beleuchtungsaperturen mit einem optischen Teil zu erreichen, sind Kondensoren so gebaut, daß ihre Frontlinse abgeschraubt oder eine unter dem Kondensator angebrachte Großfeldlinse eingeklappt werden kann. Der schon genannte zweilinsige Kondensator der BA 1,2 erzeugt bei abgeschraubter Frontlinse oder eingeklappter Großfeldlinse die BA 0,4. Um bei der Lupenfotografie ein gleichmäßig beleuchtetes Sehfeld zu erzielen, wird der gesamte Kondensator entfernt und eine Mattglasscheibe oder Opalscheibe auf den Kondensatorhalter gelegt.

In Verbindung mit dem doppelseitigen Spiegel wird der durch eine Irisblende und einen Farbglashalter vervollkommnete Kondensator als vereinfachter Beleuchtungsapparat bezeichnet. Ist die Irisblende zum Herstellen schiefer Beleuchtung (s. S. 47 ff.) drehbar und seitlich verschiebbar, so wird das ganze System Abbescher Beleuchtungsapparat genannt. Jeder Beleuchtungsapparat kann in der Höhe verstellt werden (Gebrauch des Beleuchtungsapparats s. S. 40 ff.).

Sehr weit verbreitet ist der Irrtum, daß die Kondensatorblende vorwiegend zur Regelung der Helligkeit des mikroskopischen Bildes dient. Das ist durchaus nicht der Fall. Die Kondensatorblende hat vor allem die Aufgabe, die Beleuchtungsapertur der numerischen Apertur des jeweils verwendeten Objektivs anzugleichen und ein kontrastreiches Bild zu ermöglichen.

## Mikroskopierleuchten

Zur Erzielung hoher Beleuchtungsaperturen benötigt man verständlicherweise eine hohe Lichtintensität. Während für Arbeiten mit Schülermikroskopen sowie für Vergrößerungen bis maximal 400 : 1 helles, zerstreutes Tageslicht durchaus genügt, müssen bei Verwendung stärkerer Vergrößerungen, bei speziellen Untersuchungsverfahren (z. B. Phasenkontrastmikroskopie, Mikroskopie mit polarisiertem Licht), bei mikrofotografischen Arbeiten, bei der Mikroprojektion sowie der Benutzung des Zeichenspiegels künstliche Lichtquellen verwendet werden.

Die künstliche Lichtquelle hat viele Vorzüge. Sie ist stets zur Hand, liefert eine gleichbleibende Lichtintensität und läßt sich leicht regeln.

Die Lichtquelle soll ein möglichst helles und weißes Licht liefern. Dabei soll der Leuchtkörper möglichst gedrängt, im Idealfall punktförmig sein, weil bei Verwendung eines langen Glühfadens die auszuleuchtende Fläche ungleichmäßig erhellt wird. Dieser Nachteil kann sich bei Verwendung normaler Glühlampen (etwa 40- bis 60-Watt-Lampen in Schreibtischlampen o. ä.) sehr störend auswirken. Abhilfe schafft eine in den Farbglashalter eingelegte Mattscheibe. Dabei tritt jedoch ein Lichtverlust ein. Recht gut lassen sich normale Beleuchtungskörper mit Milchglaskugeln als Behelfslichtquellen benutzen. Sollen bei Schülerübungen mehrere Schüler gemeinsam eine Leuchte benutzen, so empfiehlt sich die Anschaffung von Mikroskopier-Kugelleuchten. Sie haben 40- bis 60-Watt-Glühlampen sowie Milchglaskugeln und erzeugen diffuses Licht.

Solche Kugelleuchten können im Selbstbau aus käuflichen Teilen leicht hergestellt werden. Da Kugelleuchten eine gleichmäßige Rundumbeleuchtung erzielen, genügt es, wenn für 2 Schüler eine Leuchte vorhanden ist. Um ein gefahrloses Arbeiten zu ermöglichen, werden die Leuchten mit 42 V betrieben (Transformatoren nur für den

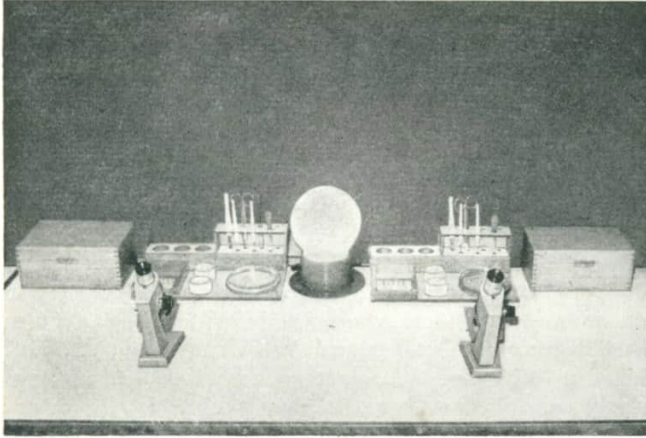


Abb. 30/1 Schülerarbeitsplatz mit selbstgebaute Kugelleuchte für zwei Schüler

Lehrer zugänglich!). Die Leuchten lassen sich – besonders im Winterhalbjahr – nicht nur für das Mikroskopieren verwenden, sondern geben auch gute Lichtbedingungen für Präparierarbeiten (s. Abb. 30/1).

Um dem stark gelblichen Licht künstlicher Lichtquellen tageslichtähnliche Wirkung zu verleihen, wird in den Farblashalter unter dem Kondensor ein Blaufilter eingelegt. Dadurch wird nicht nur eine angenehmere und natürlichere Beleuchtung des Präparates erreicht, sondern, wie bei Verwendung von blauem Licht überhaupt, eine bessere Auflösung feiner Strukturen.

Sollen Zeiss-Mikroskope der L-Baureihe mit einer eigenen Leuchte ausgestattet werden, so sind die einfachen Netzanschlußleuchten zu empfehlen, die mit einer 25-Watt-, 220-V-Röhrenlampe arbeiten und durch Vorsatz eines Blau-Mattglases in der Leuchte

Abb. 30/2 Ansteckleuchte 220/25 des VEB Carl Zeiss JENA für das Mikroskop Laboval

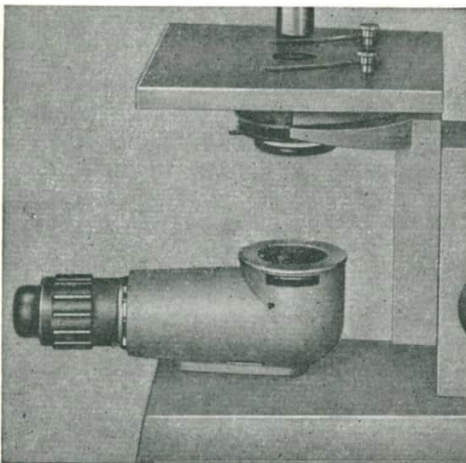


Abb. 30/3 Stativleuchte 6/15 des VEB Carl Zeiss JENA

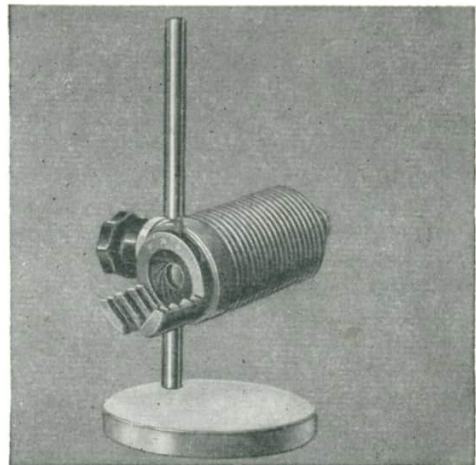
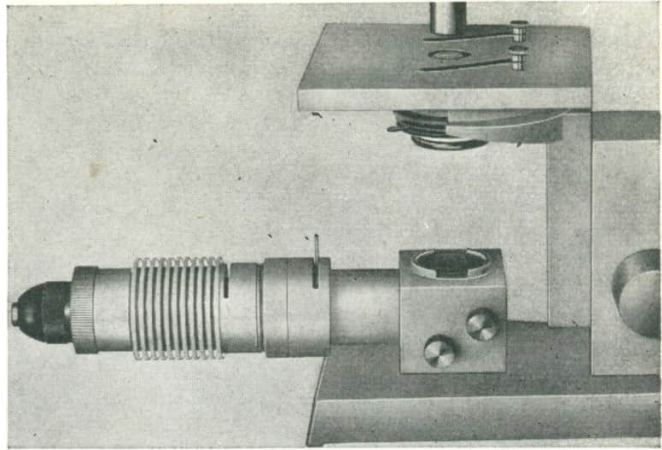


Abb. 31/1 Ansteckleuchte  
6/15 des VEB Carl Zeiss  
JENA am Mikroskop



selbst tageslichtähnliches Licht erzeugen. Durch eine T-förmige Verbindungsschiene können sie genau zum Mikroskop ausgerichtet werden. Wer über eine ROW-Mikroprojektionseinrichtung verfügt, kann das Projektionsgehäuse als Mikroskopierleuchte verwenden (unbedingt Tageslichtscheibe einlegen!). Für die Mikroskoptypen Lg, EDUVAL (s. Abb. 15/1) und LABOVAL liefert der VEB Carl Zeiss JENA einfache Ansteckleuchten mit direktem Netzanschluß. Diese Leuchten sind nur für Hellfeld-Durchlicht-Untersuchungen gedacht und mit 25-W-Lampen ausgestattet. Sie werden am Stativfuß fest mit dem Mikroskop verbunden (s. Abb. 30/2). Für Untersuchungen mit stärksten Vergrößerungen, mikrofotografische Arbeiten oder Beobachtungen im Dunkelfeld sind im Niederspannungsbereich arbeitende Lichtwurf Lampen (6 V, 15 W bis 6 V, 50 W) in einer vollausgebauten Mikroskopierleuchte (s. Abb. 30/3, 31/1) sehr zu empfehlen.

Durch die Ausrüstung mit einer asphärischen Kollektorlinse hoher Apertur wird höchste Lichtausbeute und, unterstützt durch einen äußerst gedrängten Leuchtkörper,



Abb. 31/2 Mikroskope Laboval (links) und  
Amplival (rechts) des VEB Carl Zeiss JENA  
im Schnitt mit eingezeichnetem Strahlengang  
für Durchlichtbeleuchtung



eine völlig gleichmäßige Ausleuchtung des Sehfeldes erzielt. Eine eingebaute Irisblende, die sogenannte Leuchtfeldblende, gestattet je nach Notwendigkeit die Begrenzung des erzeugten Strahlenkegels. Diese Niederspannungsleuchten gestatten bei Beachtung des Köhlerschen Beleuchtungsprinzips (s. S. 45 ff.) eine höchsten Ansprüchen genügende Beleuchtung und lassen sich, soweit sie in der Höhe verstellbar und neigbar an einem Stativ angebracht sind, für Untersuchungen im Durchlicht und im Auflicht verwenden. Sie werden über Transformatoren an das Netz angeschlossen. Seit einiger Zeit stehen voll ausgebaute Mikroskopierleuchten auch als Ansteckleuchten zur Verfügung (s. Abb. 31/1) oder sind fest in den Mikroskopfuß eingebaut (s. Abb. 31/2, rechts), wodurch eine bequemere Bedienung der Leuchten ermöglicht wird.

### Strahlengang im Mikroskop

Der Strahlengang im Mikroskop wird am Beispiel des häufig verwendeten Hellfeld-Durchlicht-Verfahrens dargestellt (s. Abb. 32/1). Das vom Spiegel reflektierte Licht tritt in den Kondensator und erhält hier die für die Apertur des benutzten Objektivs benötigte Neigung. Nachdem die Strahlen das Präparat durchlaufen haben und dabei zum Teil gebeugt worden sind, treten die Beugungsmaxima und -minima in das Objektiv ein, das sie bricht und nach oben in den Tubus projiziert. Bei entferntem Okular entsteht das vom Objektiv entworfene reelle, umgekehrte Zwischenbild dicht unter der Auflage-

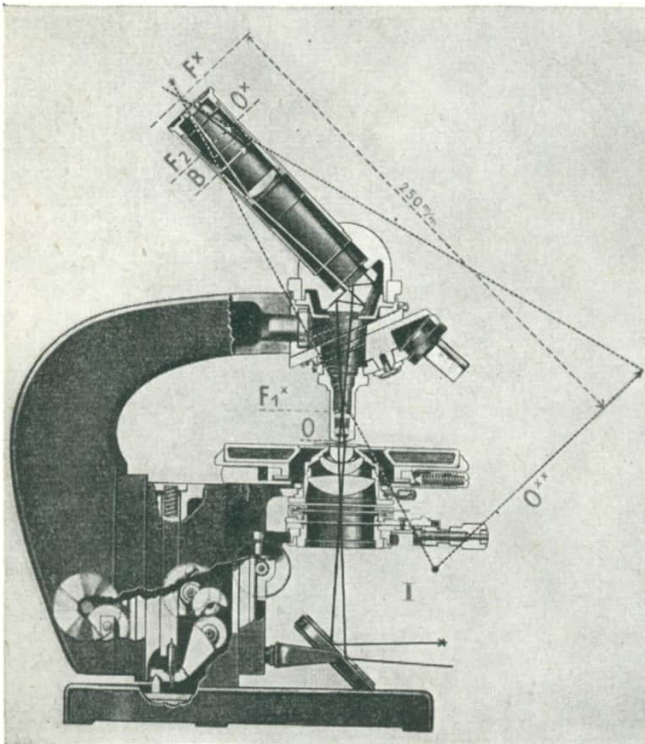


Abb. 32/1 Der Strahlengang im Mikroskop  
 $F^*$  bildseitiger Brennpunkt des Mikroskops,  $F_2$  dingseitiger Brennpunkt des Okulars,  $O^*$  Ort des vom Objektiv entworfene reellen Zwischenbildes, B Okularblende,  $F_1^*$  bildseitiger Brennpunkt des Objektivs,  $O^{**}$  Projektion des virtuellen Bildes in die Entfernung der deutlichen Sehweite

fläche des Okulars. Die Kollektivlinse des eingesetzten Okulars verlagert dieses Zwischenbild jedoch in die tiefer gelegene Okularbildebene, in der ja auch die das Sehfeld begrenzende Sehfeldblende angeordnet ist. Dieses umgekehrte reelle Zwischenbild wird durch die als Lupe wirkende Augenlinse des Okulars nochmals vergrößert betrachtet. Dabei wird das Auge dem Okular so weit genähert, daß die sogenannte bildseitige Brennebene, die gleich der oberen Brennebene des Okulars ist, etwa in die Höhe der Pupille des beobachtenden Auges kommt. Brillenträger müssen, um diese Forderung erfüllen zu können, die Gläser ablegen. Wird das Auge von der bildseitigen Brennebene des Mikroskops entfernt, so kann nur noch ein kleiner zentraler Teil des normalen Sehfeldes überblickt werden (mit steigendem Abstand immer weniger). Das im richtigen Abstand über dem Okular befindliche Auge sieht das umgekehrte und vergrößerte Bild des Präparates scheinbar in die Entfernung der deutlichen Sehweite (25 cm) projiziert, allerdings handelt es sich hierbei um ein nicht auffangbares, also virtuelles Bild. Auch über der bildseitigen Brennebene des Mikroskops kann ein Bild des Präparats aufgefangen werden. Da sich bei Verwendung eines Okulars alle Strahlen in der bildseitigen Brennebene schneiden, ist dieses reelle Bild seitenrichtig und je nach Entfernung der Auffangfläche mehr oder weniger vergrößert. Diese Tatsache liegt den sich im Prinzip gleichenden Verfahren der Mikrofotografie und Mikroprojektion zugrunde.

## **Behandlung, Reinigung und Pflege des Mikroskops**

Jedes Mikroskop, auch das Schülermikroskop, ist ein Präzisionsinstrument und verlangt, wenn seine volle Leistungsfähigkeit lange erhalten bleiben soll, eine entsprechende Behandlung und Pflege. Dem Lehrer oder Naturfreund wird es wohl kaum schwer fallen, bei seinem eigenen Mikroskop die dafür geltenden Regeln zu beachten. Größer ist die Gefahr einer Vernachlässigung und Beschädigung der Mikroskope dann, wenn sie häufig von den verschiedensten Benutzern in Gebrauch genommen werden. Grundsätzlich gilt, daß der betreffende Fachlehrer die volle Verantwortung für den Zustand der Instrumente trägt. Er muß dafür sorgen, daß die aufgeführten Hinweise beachtet werden. Die notwendigen allgemeinen Reinigungsarbeiten können regelmäßig von Schülern durchgeführt werden; die optischen Systeme jedoch kontrolliert und reinigt ausschließlich der Fachlehrer.

Jedes Mikroskop der Lehrmittelsammlung soll eine Nummer tragen, die mit Nitrofarbe säuberlich auf den Fuß des Geräts geschrieben wird. Die gleiche Nummer ritzt man in alle abschraubbaren bzw. abnehmbaren Teile ein. Der entsprechende Aufbewahrungsschrank erhält die gleiche Nummer. Wenn möglich, erhält der gleiche Schüler immer die gleichen Instrumente. Die Fabriknummern der Stative, Objektive usw. müssen unter der Inventarisierungsnummer eines jeden Mikroskops im Inventarverzeichnis vermerkt werden.

Staub gehört zu den schlimmsten Feinden der Mikroskope. Man schützt die Geräte durch Aufbewahrung in entsprechenden Schränken, die stets verschlossen sein sollten. Trotz aller dieser Vorsichtsmaßnahmen kann auf die Dauer ein leichter Staubansatz nicht vermieden werden. Bei jeder Reinigung werden das Stativ und die optischen Teile zunächst mit einem feinen Haarpinsel und erst dann mit einem Leinenlappen abgestaubt. Staub enthält meist winzige Gips- oder Mörtelteilchen, die beim Reiben

mit einem Tuch wie Schmirgelsand wirken und mit der Zeit Linsen- und Spiegelflächen zerkratzen. Mikroskope und andere optische Instrumente dürfen nie zusammen mit Säuren in einem Raum aufbewahrt werden, da die Dämpfe der Säuren Glas- und Metallflächen stark angreifen.

Das Stativ wird von Zeit zu Zeit mit reinstem, auf einen Lappen getropften Feinmechaniköl abgewischt. Der hauchdünne Ölfilm schützt vor atmosphärischen Einflüssen und erhält den Hochglanz der Politur. Es ist besonders darauf zu achten, daß der Objektisch möglichst nicht mit der Untersuchungsflüssigkeit benetzt wird. Sollte das doch einmal passieren (schräge Objektische begünstigen das Ablaufen von Flüssigkeiten aus Präparaten), wird sofort mit einem Leinenläppchen trockengerieben. Die Verwendung großer Deckgläser schützt weitgehend vor Verunreinigung der Objektische. Auf keinen Fall darf zu Reinigungsarbeiten am Mikroskop Alkohol verwendet werden.

Mit Ausnahme ausgesprochener Doppel- oder Satzobjektive (Schülermikroskope älterer Bauart), dürfen Objektive nicht auseinandergeschraubt werden. Sie werden sonst mit großer Wahrscheinlichkeit beschädigt. Bei Objektivwechsel ist immer eine Hand mit dem Handteller unter das einzuschraubende Objektiv zu halten, damit es nicht herunterfallen und beschädigt werden kann. Es empfiehlt sich, vor dem eigentlichen Einschrauben das Objektiv, das Rechtsgewinde hat, so lange vorsichtig links herumzudrehen, bis ein leichter Knack anzeigt, daß die Gewindeanfänge sich gegenüberliegen. Dadurch vermeidet man das Überdrehen der feinen Gewinde. Herausgenommene Objektive werden nie hingelegt, sondern auf die Hinteröffnung gestellt (Frontlinse nach oben). Die Frontlinse wird durch vorsichtiges Abstauben mit einem Pinsel und nachfolgendes Abwischen mit einem Leinenläppchen gereinigt.

Gewöhnt man sich und andere daran, stets ein Okular im Tubus steckenzulassen, so beugt man einer nur schwer zu beseitigenden Verschmutzung der Hinterlinse weitgehend vor.

Sollte es vorkommen, daß die Frontlinse durch versehentliches Eintauchen in den noch nicht erhärteten Balsam am Rande eines frisch hergestellten Präparates mit diesem Harz verschmutzt wurde, so wischt man den Balsam sofort mit einem reinen Lappen ab. Anschließend wird mit einem in Xylol oder Benzol angefeuchteten Lappen vorsichtig nachgerieben. Dabei muß zu starkes und zu langes Befeuchten der Linsen vermieden werden, da diese mit Kanadabalsam in ihre Fassungen eingekittet sind und sich bei zu intensiver Xylol- oder Benzolbehandlung lösen könnten. Verschmutzte Objektive erzeugen flauere und verschleierte Bilder.

Ist mit Ölimmersion gearbeitet worden, so müssen unbedingt sofort anschließend alle mit Immersol oder einer anderen Immersionsflüssigkeit benetzten Teile gründlich gereinigt werden, da das Öl sonst verharzt und sich dann kaum noch entfernen läßt. Zunächst wird mit einem reinen Leinenlappen das Öl entfernt. Seine letzten Spuren werden durch mehrmaliges Nachreiben mit benzolgetränktem Leinenläppchen beseitigt. An Stelle des Benzols läßt sich bei allen geschilderten Arbeiten auch gereinigtes Benzin verwenden (Vorsicht, Feuergefahr!). Es erzielt dieselben Erfolge, löst Kanadabalsam jedoch nicht so leicht wie Xylol oder Benzol. Nicht benutzte Objektive, beispielsweise Immersionsobjektive, werden grundsätzlich in den meist mitgelieferten Objektivkapseln aufbewahrt, in denen sie vor Staub geschützt sind.

Die Okulare dürfen zum Reinigen auseinandergenommen werden. Da leicht Vertauschungen vorkommen können, sollte immer nur ein Okular gereinigt und sofort wieder zusammengeschraubt werden. Außerdem ist es unbedingt zu vermeiden, gleichzeitig Kollektiv- und Augenlinse herauszunehmen, weil auch dabei die Gefahr der Ver-

wechslung besteht. Verunreinigungen der Okulare sind leicht zu erkennen, wenn diese während der Beobachtung im Okularstutzen des Tubus gedreht werden; Schmutzteilchen drehen sich mit. Zunächst werden die Außenflächen der Linsen in der bei den Objektiven beschriebenen Art gereinigt, und dann wird noch einmal geprüft, ob die Schmutzteilchen entfernt wurden. Erst wenn das nicht der Fall ist, wird das Okular auseinandergenommen.

Mindestens einmal im Jahr müssen alle Mikroskope der Schule gründlich gereinigt werden.

## Allgemeine Arbeits- und Präpariergeräte

Die unbedingt zur Grundausrüstung gehörenden Arbeits- und Präpariergeräte lassen sich relativ billig beschaffen und zum großen Teil sogar selbst herstellen.

Es ist nicht leicht, eine gute Zusammenstellung der benötigten Nebengeräte zu geben, da in den verschiedenen Zweigen der Biologie Art, Anzahl und Beschaffenheit der Arbeits- und Präpariergeräte sehr unterschiedlich sind. Die Hinweise beschränken sich daher auf eine für die Schule sowie für den Naturfreund zur Ausführung häufiger Arbeiten notwendige Auswahl. Es ist günstig, mit wenigen und einfachen, dafür aber möglichst zweckentsprechenden Hilfsmitteln zu arbeiten.

Geräte, die speziellen Arbeiten dienen, werden an der entsprechenden Stelle beschrieben. Unentbehrliche Präparier- und Glasgeräte sind im Druck hervorgehoben.

**Objektträger** (Traggläser) sind in verschiedenen Formaten im Handel. Für allgemeine botanische und zoologische Präparate wird vorwiegend das sogenannte Internationale Format mit einer Größe von 26 mm × 76 mm benutzt. (Das sogenannte Gießener Format der Größe 28 mm × 48 mm wird besonders für Gesteinsschliffe verwendet.) Für spezielle Untersuchungen benötigte größere oder kleinere Objektträger können aus alten, von der Gelatineschicht in warmem Wasser befreiten Fotoplatten hergestellt werden. Da die Objektträger ebenso wie die Deckgläser im Strahlengang des Mikroskops liegen, also optisch wirksam sind, müssen an ihre Qualität hohe Anforderungen gestellt werden. Das Glas soll eben, blasen- und schlierenfrei, unzerkratzt und möglichst farblos sein. Vorschriftsmäßige Objektträger haben eine Dicke von 1,0 mm bis 1,2 mm. Besonders dicke Objektträger verhindern bei Arbeiten mit starken Objektiven eine einwandfreie Beleuchtung der Objekte, da der Kondensor nicht richtig eingestellt werden kann. Bei Arbeiten mit Schülermikroskopen bzw. schwachen Vergrößerungen stören kleinere Abweichungen in der Glasdicke nicht.

Aus Sparsamkeitsgründen werden häufig Objektträger benutzt, deren Kanten muschelig ausgebrochen sind. Besser sind Objektträger, deren Kanten fein abgeschliffen sind. Sie sind fast immer aus besserem Glas gefertigt, geben größere Sicherheit vor Schnittverletzungen und passen genauer in die Ausschnitte der Sammelkästen.

Objektträger mit Hohlschliff (s. Abb. 135/1) werden für Lebenduntersuchungen im hängenden Tropfen (s. S. 134) empfohlen. Da der Hohlschliff jedoch häufig durch seine optische Wirksamkeit die Untersuchung stört, ist für solche Arbeiten die auf einen normalen Objektträger aufgebrauchte feuchte Kammer (s. Abb. 135/1) empfehlenswerter. Mit Vorteil lassen sich Hohlschliffgläser bei Lebenduntersuchungen (z. B. von Wasserflöhen oder Hydren) verwenden, da diesen Tieren dann ein gewisser Bewegungsraum

zur Verfügung steht. Die bei Objektträgern mit Hohlschliff vorkommenden Schleifspuren wirken oft störend.

Vor der Benutzung müssen die Objektträger gut gesäubert werden, da jeder Fingerabdruck, jedes Staubpartikelchen das mikroskopische Bild entstellen und somit zu Fehlschlüssen führen kann. Noch ungebrauchte Objektträger werden durch Einlegen in stark verdünnte Salzsäure und anschließendes gründliches Spülen in destilliertem Wasser gereinigt. Zum Schluß behandelt man sie mit etwa 30%igem Alkohol, da dieser gleichzeitig den meist vorhandenen fettigen Belag entfernt. Dazu werden die Objektträger zweckmäßigerweise in eine mit gebrauchtem 30%igem Alkohol gefüllte Glasdose mit Deckel gestellt und bei Bedarf einzeln mit einem sauberen Lappen aus oft gewaschener und fusselreier Leinwand gereinigt. Gereinigte Objektträger werden bis zur Benutzung in einem verschließbaren Präparatekasten bereitgehalten. Mit Kanadabalsam, Nelkenöl oder Immersol verschmierte Objektträger werden zunächst mit Xylol und dann mit einem alkoholfuchten Lappen gereinigt. Anhaftende Glyzeringelatine wird durch heißes Wasser und anschließende Reinigung mit Alkohol entfernt.

Um den Präparaten eine optisch gleichmäßig wirkende Oberfläche zu verleihen, werden Deckgläser verwendet. Bei Objektiven bis zu einer n. A. von etwa 0,30 kann man noch ohne Deckglas arbeiten. Objektive mit einer n. A. von 0,30 bis 0,60 geben, da bei ihrer Berechnung die Verwendung eines Deckglases vorausgesetzt wurde, ohne Deckglas verschleierte Bilder. Trockenobjektive höherer Aperturen (ab 0,60) sind sogar für eine ganz bestimmte Deckglasdicke (meist 0,17 mm) berechnet, deren Veränderung über eine Toleranz von etwa 0,01 mm hinaus zu Bildverschlechterungen führt.

Auf dem Mantel aller starken Trockenobjektive wird auch der Wert der Deckglasdicke, für den das Objektiv korrigiert wurde, angegeben. Quadratische Deckgläser der Größe 18 mm × 18 mm oder runde mit 18 mm Durchmesser weisen erfahrungsgemäß die günstigste Dicke auf. Kleinere Deckgläser lassen sich schlecht putzen, sie bedecken oft das Präparat nicht genug, so daß die Untersuchungsflüssigkeit hervortritt und die Frontlinse des Objektivs gefährdet wird. Größere Formate, 24 mm × 24 mm oder 24 mm × 36 mm, sind oft zu dick und zerbrechen leicht beim Putzen.

Zum Übertragen kleiner und oft genau zu bemessender Flüssigkeitsmengen werden Pipetten benutzt. Da absolute Reinlichkeit das oberste Gesetz bei der mikroskopischen Arbeit ist, wird grundsätzlich für jede Flüssigkeit eine andere Pipette verwendet. Dadurch werden die Pipetten vor Verschmutzung, die Flüssigkeiten vor Verunreinigung und der gesamte Arbeitsvorgang vor unberechenbaren Zufällen geschützt.

Es ist ratsam, immer einen Vorrat frischer Pipetten bereitzuhalten. Man zieht sich die Ansauger selber aus Geräteglasröhren mit etwa 8 mm bis 10 mm Außendurchmesser. Der Mittelteil eines etwa 15 cm bis 20 cm langen Stückes wird zunächst über der Bunsenflamme mit Flachbrenner-Aufsatz gleichmäßig erhitzt. Erst dann führt man das Röhrchen, indem man es ständig zwischen Daumen und Zeigefinger beider Hände dreht, in den heißesten Teil der Flamme, dicht über den blau leuchtenden Kern, und erhitzt so lange, bis das Glas biegsam wird. Danach wird es schnell aus der Flamme herausgenommen und gleichmäßig ausgezogen. Langsamer Zug ergibt große Mundweiten, schneller Zug geringe bis geringste Mundweiten der Pipetten. Ist das Glas genügend abgekühlt, so schmilzt man die beim Zertrennen entstandenen Bruchkanten in der Flamme vorsichtig ab. Der obere, nicht ausgezogene Rand wird nun ebenfalls kurz abgeschmolzen, um Beschädigungen der Gummihütchen zu vermeiden.

Zum tropfenweisen Übertragen von Flüssigkeiten oder Einschlußmitteln (z. B. Glyzeringelatine, Balsam und Immersionsöl) eignen sich 2 mm bis 3 mm starke Voll-

Abb. 37/1 Links Blockschälchen, rechts Uhrglasschälchen



glasstäbe, die durch starkes Erhitzen in der Flamme des Bunsenbrenners mit kugelligen Enden versehen werden.

Für viele Arbeiten (z. B. Färben, Entwässern, Fixieren) sind **Blockschälchen** (s. Abb. 37/1) unentbehrlich. Es sind quadratische Glasblöcke von etwa 5 cm Seitenlänge und 1,5 cm Höhe mit einer halbkugelförmigen Vertiefung. Ein quadratischer Glasdeckel verschließt das Blockschälchen staub- und auch annähernd luftdicht. Umranden des Deckels mit Vaseline ergibt völligen Luftabschluß.

Die dem gleichen Zweck dienenden **Uhrglasschälchen** (s. Abb. 37/1) sind weniger praktisch, weil sie gewölbt sind und daher nicht feststehen. Untergelegte Ringe sind nur ein Behelf. Außerdem lassen sich Uhrglasschälchen schwerer abdecken. Sie werden beispielsweise benutzt, wenn kleine Lebewesen (z. B. niedere Krebse) in Flüssigkeiten bei schwachen Vergrößerungen zu betrachten sind.

Einige **Wägeschälchen** mit eingeschliffenem Deckel, **Petrischalen**, **Bechergläser** verschiedener Größen, **Erlenmeyerkolben**, **Trichter**, **Meßzylinder** (500 cm<sup>3</sup> und 10 cm<sup>3</sup>), **Reagenzgläser** (möglichst nur 8 cm bis 10 cm lang), eine **Spritzflasche** für destilliertes Wasser sowie eine einfache **Spirituslampe** mit Dreifuß und Drahtnetz vervollständigen die Grundausrüstung an Glasgeräten (s. Abb. 37/2).

Einige **Präparier- und Lanzettnadeln** (s. Abb. 38/1) sind für viele Arbeiten unentbehrlich.

Weiterhin werden 2 bis 3 **Pinzetten** benötigt. Sie sollen aus bestem Stahl gefertigt, vernickelt und so gearbeitet sein, daß ihre langen, spitz zulaufenden Schenkel innen flache Einhiebe tragen. Pinzetten mit gebogenen Spitzen (Branchen) werden bei vielen Arbeiten solchen mit geraden Spitzen vorgezogen.

Besonders beim Verarbeiten tierischen Materials leisten kleine **Präparierscheren** unentbehrliche Dienste. Ob Scheren mit geraden oder gebogenen Spitzen zu bevorzugen sind, hängt von der jeweiligen Arbeit ab. Eine größere, alte Schere dient für gröbere Arbeiten, zum Beispiel zum Zerschneiden kleiner Knochen und ähnlicher Hartgebilde. **Feinmesser** oder **Skalpelle** zum Zergliedern des Untersuchungsmaterials werden für den

Abb. 37/2 Glasgeräte

Von links nach rechts: Spitzglas, Becherglas, Spritzflasche, Spiritusbrenner, Trichter, Wägeschälchen, Petrischale, Meßzylinder, Balsamglas, Tropf- und Pipettenflasche

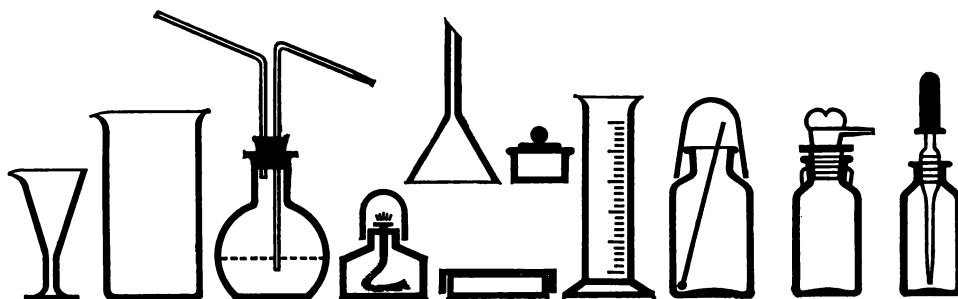




Abb. 38/1 Präpariergeräte

Von links nach rechts: Lanzettnadel, Rasiermesser, Skalpell, Pinzette; Präpariernadel; Pipette, Präparierschere

Anfang nicht unbedingt benötigt. Dagegen gehört ein gutes Rasiermesser zur raschen und sicheren Gewinnung von Schnitten aus pflanzlichem Material unbedingt zur Grundausrüstung. Man verwendet unterseits plan und oberseits konkav geschliffene Messer. Schnitte durch stark verholzte Gewebe fertigt man jedoch mit diesen Messern nicht an, sondern bedient sich dazu lieber eines gut geschliffenen Skal-

pells. Bikonkav geschliffene Messer mit breiter Klinge eignen sich nur für sehr weiche Objekte. Rasiermesser und Skalpell werden auf einem Streichriemen abgezogen. Dabei verwendet man keine Streichriemen mit gespannten Lederstreifen, da dann die Schneiden der Messer rund werden. Das Nachschleifen der sehr empfindlichen Rasiermesser, der Skalpell und Scheren läßt man von einem Fachmann ausführen, da unsachgemäße Behandlung sehr leicht zu einer unkorrigierbaren Beschädigung der Klingen führen kann.

Bei Schülerübungen mit scharf geschliffenen Instrumenten ist größte Vorsicht erforderlich. Auf jeden Fall ist eine Unfallschutzbelehrung durchzuführen! Schüler sollten Schnitte nicht mit Rasiermessern ausführen. Ein zwar nicht vollwertiger, oft aber für Schülerübungen gut geeigneter Ersatz sind Rasierklingen. Gebrauchte Klingen lassen sich sehr vielseitig verwenden. Sie werden in einem verschlossenen Gefäß vorrätig gehalten.

Zum Auffangen von Schnitten und sonstigen kleinen Objekten oder zum Entnehmen von Schnitten aus Flüssigkeiten sind Spatel und Schnittfänger zu empfehlen. Zum Abstauben der Linsen, zum Auffangen und Übertragen feiner Schnitte sowie zum Auftragen von Lackringen werden einige feine Haarpinsel benötigt.

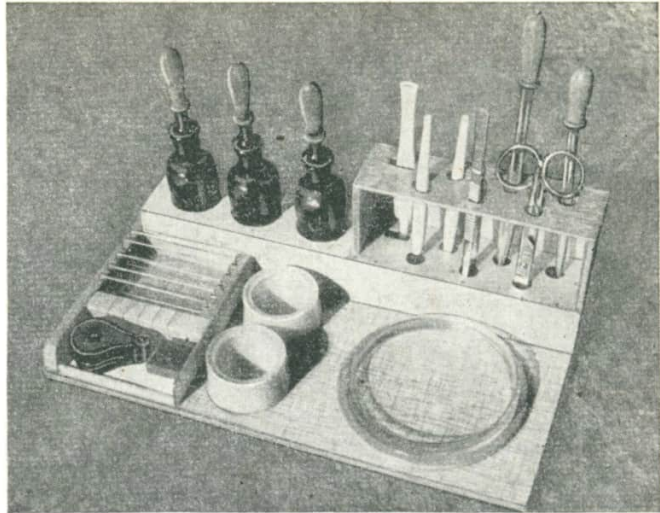
Reagenzglashalter, Bunsenbrenner und Glasschneider werden häufig benötigt. Zur vorläufigen Kennzeichnung frisch hergestellter Präparate verwendet man den **Glasschreiber**, ein bleistiftähnliches Instrument mit Diamantspitze, oder den billigeren, aber auch unzuverlässigeren und unsauberen Fettstift oder einen Faserschreiber. Festes Filterpapier sollte man sowohl in Bogen als auch in fertig geschnittenen schmalen Streifen von Deckglasbreite vorrätig halten.

Mit einer **Wasserstrahlpumpe** wird beim Fixieren pflanzlicher Objekte die eingeschlossene Luft, die das schnelle Eindringen der Fixierflüssigkeit häufig stark behindert, vorsichtig entfernt. Das Evakuieren erfolgt langsam und lange mit schwachem Wasserstrahl, da sonst sehr leicht Zerreißen in feinen Geweben (z. B. Blättern) eintreten können. Auf feste Schlauchverbindungen muß geachtet werden.

Wer sich intensiver mit mikroskopischer Arbeit beschäftigt, benötigt weitere Hilfsmittel. Sie werden bei den entsprechenden Präparationen erwähnt (z. B. Mikrotomtechnik, s. S.175).

Sollen Schüler selbständig einfache Präparate anfertigen, so werden, der Anzahl der vorhandenen Mikroskope entsprechend, Schülerarbeitskästen zusammengestellt. In

Abb. 39/1 Präpariergeräte-  
ständer für schulische  
Arbeiten



jedem Kasten sollten sich eine Präpariernadel, eine Lanzettnadel, eine Pinzette mit geraden Spitzen, eine kleine Schere, drei Pipetten, fünf Objektträger, fünf Deckgläser, mehrere Filtrierpapierstreifen und zwei Lappen befinden. Die Kästchen kennzeichnet man mit Nummern, die denen der Mikroskope entsprechen; auch eine gleichlautende Kennzeichnung der Präpariergeräte ist zu empfehlen. Noch bessere Zugriffsbedingungen geben spezielle Präpariergeräteständer (s. Abb. 39/1). Sie enthalten alle wesentlichen Präpariergeräte und Arbeitsmittel für die vom Lehrplan in den Klassen 5 bis 10 vorgesehenen Präparierarbeiten, Sezierungsbungen und mikroskopischen Arbeiten. Ein Klassensatz besteht aus 15 bis 20 Ständern. Sie können von Schülerassistenten in sehr kurzer Zeit ausgegeben werden.

Der Präpariergeräteständer enthält 3 Pipettenflaschen, 1 Skalpell, 1 Präpariernadel, 1 Lanzettnadel, 1 Präparierschere, 1 Pinzette, 2 Pipetten, 5 Objektträger, 5 Deckgläser, Filtrierpapierstreifen, Rasierklingen, 1 Lupe (6- bis 8fach vergrößernd), 2 Behälter für Untersuchungsmaterial und Abfälle und 1 Petrischale, in der kleinere Präparierarbeiten durchgeführt werden können. Der Inhalt der Pipettenflaschen richtet sich nach den Anforderungen der jeweiligen Unterrichtseinheit (z. B. Neutralrot, Jod-Kaliumjodidlösung, einfache Fixiergemische, destilliertes Wasser). Um eine saubere Arbeit zu gewährleisten, darf der Flascheninhalt nicht einfach ausgetauscht werden. Es empfiehlt sich, jeweils 15 bis 20 Flaschen mit den einzelnen benötigten Flüssigkeiten bereitzustellen.

Der Lehrer stellt für sich ein Besteck in einem besonderen Kasten bereit, das nur er selbst benutzt. Für Exkursionen wird ein Besteck zusammengestellt, das durch eine Einschlaglupe und einige kleine Sammelgläser ergänzt und in einem zweckentsprechenden Behälter untergebracht wird.

Sämtliche genannten Arbeitsmittel bedürfen ständiger Pflege. Benutzte Glasgeräte werden sofort sorgfältig ausgewaschen und gründlich nachgespült. In größeren Arbeitsräumen wird ein Trockenbrett fest angebracht. Metallinstrumente müssen besonders gut gepflegt werden. Man trocknet sie nach jedem Gebrauch sorgfältig ab und wischt sie von Zeit zu Zeit mit einem ölgetränkten Lappen ab.



# Hinweise für die Benutzung des Mikroskops

## Hellfeld-Durchlicht-Beleuchtung

Die folgenden Hinweise sollen dem Anfänger zeigen, welche Regeln beim Mikroskopieren zu beachten sind. Aus der Vielzahl der bekannten Untersuchungsmethoden soll zur Einführung die einfachste und am häufigsten angewendete, die **Hellfeld-Durchlicht-Mikroskopie** behandelt werden, bei der die Untersuchungsobjekte mehr oder weniger dunkel im hellerleuchteten Sehfeld beobachtet werden können.

### *Arbeitsraum und Arbeitsplatz*

Geeignete Arbeitsräume und -plätze sind wichtige Voraussetzungen erfolgreicher mikroskopischer Arbeit. Der Biologie-Arbeitsraum einer Schule muß geräumig und hell sein. Gut geeignet sind Räume, die an der Nordseite des Gebäudes liegen, in Räumen an der Südseite kann starkes Sonnenlicht die Untersuchungen empfindlich stören. Durch das Anbringen weißer Vorhänge werden Südfenster zu einer guten Lichtquelle. Sehr vorteilhaft ist ein Raum, der möglichst an der Ost- und an der Westseite Fenster hat.

Der Arbeitsraum soll mit einer Verdunklungseinrichtung versehen sein. Er wird mit zweiseitigen, niedrigen Tischen ausgestattet, auf denen jedem Schüler eine Breite von etwa 80 cm bis 100 cm bei etwa 50 cm Tiefe der Tische zur Verfügung steht. Die Oberfläche der Tische muß aus säurefestem Material bestehen. Die Sitzgelegenheiten der Schüler müssen, im Gegensatz zu den Tischen, recht hoch sein, damit eine ungezwungene Körperhaltung beim Arbeiten gewährleistet wird. Bei der Anordnung der Tische ist darauf zu achten, daß sich die Schüler nicht gegenseitig im Licht sitzen.

Jeder Schüler bekommt einen festen Arbeitsplatz zugewiesen. Dabei ist darauf zu achten, daß in praktischen Dingen ungeübte Schüler neben guten Praktikern sitzen.

Die Mikroskope müssen in ihren Behältern vom Aufbewahrungsort zum Arbeitsplatz getragen werden. So wird Transportschäden an den Instrumenten vorgebeugt. Ehe die eigentliche Einstellung des Mikroskops beginnt, sorgt man dafür, daß alle benötigten Hilfsmittel (z. B. Präpariergeräte) bereitstehen. Außerdem sollte immer ein aufgeschlagener Zeichen- oder Skizzenblock neben dem Mikroskop liegen.

Diese Hinweise gelten sinngemäß auch für den Arbeitsplatz des mikroskopierenden Lehrers und Naturfreundes.

### *Einstellen des Mikroskops*

Das Mikroskop ist so aufzustellen, daß geeignetes Licht zur Verfügung steht. Direktes Sonnenlicht darf den Beleuchtungsspiegel nicht treffen; es blendet die Augen, so daß feine Einzelheiten in den Präparaten durch Überstrahlung verlorengehen.

Kippbare Stative werden so weit geneigt, daß sich bei normaler Körperhaltung ein bequemer Einblick ergibt; Stative mit Schrägtubus lassen sich leicht in eine günstige Stellung bringen. Sind die Triebknöpfe in bezug auf Gangbarkeit und Triebrichtung ausprobiert, so kann das Präparat in die Tischfedern eingespannt werden (Federn anheben!). Es wird so ausgerichtet, daß der zu beobachtende Teil genau über der Mitte der Tischöffnung bzw. der Kondensatorfrontlinse liegt. Stative mit Schrägtubus, deren Tisch ständig waagrecht bleibt, verführen leicht dazu, die Präparate nur lose aufzulegen. Besonders bei Schülern ist darauf zu achten, daß die Tischfedern benutzt werden, da lose aufgelegte Objektträger oft schaukeln und dann eine präzise Scharfeinstellung sehr erschweren. Außerdem verrutschen nicht festgelegte Präparate sehr oft schon bei kleineren Erschütterungen. Das kann sich, wenn es zum Beispiel während des Zeichnens geschieht, sehr unangenehm auswirken.

Auch bei erfahrenen Mikroskopikern beginnt die Beobachtung des Präparats damit, daß zunächst das schwächste Objektiv in den Strahlengang gebracht wird. Danach wird bei gleichzeitiger seitlicher Kontrolle der Tubus mit dem Grobtrieb so weit gesenkt, daß sich die Frontlinse des benutzten Objektivs etwa 10 mm über dem Deckglas befindet. Nun kommt es darauf an, das Sehfeld auszuleuchten. Dazu blickt man in den Tubus und bewegt den Spiegel so lange, bis das Sehfeld gleichmäßig hell ausgeleuchtet erscheint. Die endgültige Ausleuchtung kann jedoch erst nach der Scharfeinstellung des Präparats erfolgen. Das Mikroskop wird grundsätzlich durch Heben des Tubus bei gleichzeitigem Einblick in das Okular scharf eingestellt. Beim Scharfeinstellen durch Senken des Tubus wird häufig die Schärfenebene versehentlich durchlaufen, so daß beim weiteren Senken die Frontlinse des Objektivs auf das Präparat stößt. Dabei kann das Deckglas zerstört und ein wertvolles Präparat unbrauchbar gemacht werden. Noch schlimmer wirkt sich eine Beschädigung der Frontlinse aus. Als Regel gilt, daß schwache Objektive viel weiter vom Präparat entfernt sind als starke.

Durch Drehen des Grobtriebes wird so eingestellt, daß das Präparat annähernd scharf erscheint. Zur endgültigen Einstellung höchster Schärfe wird – wenn vorhanden – grundsätzlich der Feintrieb benutzt. Nach erfolgter Scharfeinstellung muß, ehe die eigentliche Beobachtung des Präparats beginnen kann, die Beleuchtung noch einmal korrigiert werden. Die Art der Beleuchtung kann unterschiedlich sein. Bei Mikroskopen ohne Kondensator dient allein der Spiegel der Beleuchtung. Der paralleles Licht liefernde Planspiegel wird bei Vergrößerungen bis etwa 100:1 zur Beleuchtung verwendet, während bei stärkeren Vergrößerungen der Hohlspiegel (konvergierende Strahlen) im Interesse einer intensiven Ausleuchtung bevorzugt Anwendung findet.

Weiterhin entscheidet die Art des zu untersuchenden Präparats über die Wahl des Spiegels. Im gefärbten Präparat sind die Einzelheiten um so besser zu erkennen, je gleichmäßiger und heller die Beleuchtung ausfällt. Für solche Arbeiten wird der Planspiegel in Verbindung mit einer weiten Blendenöffnung gewählt. Bei ungefärbten, also relativ kontrastarmen Objekten heben sich Einzelheiten besonders gut ab, wenn sie von schräg auffallenden Strahlen kontrastreich beleuchtet werden; man wählt also bei der Untersuchung solcher Objekte den Hohlspiegel in Verbindung mit einer engen Blendenöffnung.

Die einwandfreie Regelung der schon erwähnten Beleuchtungsapertur fällt bei einfachen Schülermikroskopen schwer. Wenn der Planspiegel die volle Apertur der Objektive ausleuchten soll, muß eine starke Lichtquelle vorhanden sein. Leichter wird diese Bedingung immer mit dem Hohlspiegel zu verwirklichen sein. Deshalb weisen einige Schülermikroskope (ROW) nur einen Hohlspiegel auf.

Bei Mikroskopen mit Kondensator fällt dem Beleuchtungsspiegel lediglich die Aufgabe zu, das Licht in die Kondensatoröffnung zu reflektieren. Das Konzentrieren des parallelen Lichts besorgt der Kondensator. Deshalb wird in Verbindung mit Kondensatoren ausschließlich der Planspiegel benutzt.

Bei Benutzung eines Kondensators wird nach der Scharfeinstellung festgestellt, ob die volle Apertur des Objektivs ausgeleuchtet wird. Zu diesem Zweck wird die Kondensatorblende (Aperturblende) zunächst völlig geöffnet. Dann wird das Okular aus dem Okularstutzen entfernt. Die hintere Öffnung des Objektivs erscheint als mehr oder weniger gleichmäßig erhellter Kreis. Durch leichte Veränderung in der Spiegeleinstellung und in der Höheneinstellung des Kondensators kann eine gleichmäßig helle und die ganze hintere Öffnung umfassende Ausleuchtung hergestellt werden. Nun wird die Kondensatorblende so weit geschlossen, daß ihr Rand gerade mit dem Rand der hinteren Objektivöffnung zusammenfällt. In diesem Zustand liegt normalerweise die bestmögliche Beleuchtung vor; die Beleuchtungsapertur stimmt dann etwa mit der numerischen Apertur des verwendeten Objektivs überein.

Da Kondensoren hoher Apertur nur ein kleines Sehfeld ausleuchten, ist es bei Verwendung schwacher Objektive mit geringer n. A. notwendig, die Vorderlinse des Kondensators abzuschrauben, oder bei modernen Kondensoren die Großfeldlinse einzuschwenken. Dasselbe läßt sich auch durch Senken des vollständigen Kondensators erreichen, doch muß dann eine sehr viel schwächere Beleuchtung in Kauf genommen werden. Außerdem kommen dabei leicht optische Täuschungen zustande. Durch eine geringe Höhenverstellung des Kondensators können auch in das Sehfeld projizierte störende Konturen, zum Beispiel von Fensterkreuzen, beseitigt werden.

Das Abblenden des Kondensators muß sich nach den Eigenschaften des jeweiligen Präparats richten (s. Ausleuchtung nur mit dem Spiegel), so daß sich eine allgemeingültige Regel kaum aufstellen läßt. Zunächst leuchtet man, wie oben beschrieben, die hintere Öffnung des Objektivs voll aus. In der Regel wird bei farbigen oder künstlich gefärbten Präparaten diese Einstellung beibehalten oder nur ganz schwach abgeblendet, da bei solchen Objekten die Kontraste des mikroskopischen Bildes durch Absorptionsunterschiede der einzelnen Präparatteile entstehen. Ungefärbte Präparate werden bei stärkerer Abblendung beobachtet. Eine Verringerung der Apertur muß dabei allerdings in Kauf genommen werden. In diesem Zusammenhang sei noch darauf hingewiesen, daß die BA des Kondensators auch noch auf die Abbildungstiefe (in der Fotografie Schärfentiefe genannt) einwirkt. Sie hängt von der Eigenvergrößerung und der n. A. des verwendeten Objektivs sowie von der BA des Kondensators ab. Je höher die numerische Apertur eines Objektivs ist, desto geringer ist die Abbildungstiefe. Merklich wird diese also eigentlich nur bei schwach vergrößernden Objektiven (niedrige n. A.).

Vergrößern oder verkleinern kann man die Abbildungstiefe durch Abblenden (wie in der Fotografie etwa die Schärfentiefe durch Abblenden vergrößert wird) des Kondensators nicht, man kann aber dafür sorgen, daß durch richtige Blendeneinstellung die höchstmögliche Abbildungstiefe aus dem Objektiv herausgeholt wird. Um gut ausgeleuchtete Bilder mit größtmöglicher Abbildungstiefe zu erreichen, muß man sich durch Beobachten der hinteren Objektivlinse von dem Grad der Abblendung überzeugen. Ist der Blendenrand nicht gerade noch sichtbar, die Irisblende des Kondensators also zu weit geöffnet, so ergeben sich verschleierte, überstrahlte Bilder mit niedrigem Kontrast und unbefriedigender Abbildungstiefe (s. Abb. 43/1, links). Bei richtiger Abblendung entstehen kontrastreiche, scharfe und in der Abbildungstiefe befriedigende Bilder (s. Abb. 43/1, Mitte). Der Bereich der richtigen Abblendung liegt zwischen gerade vollstän-

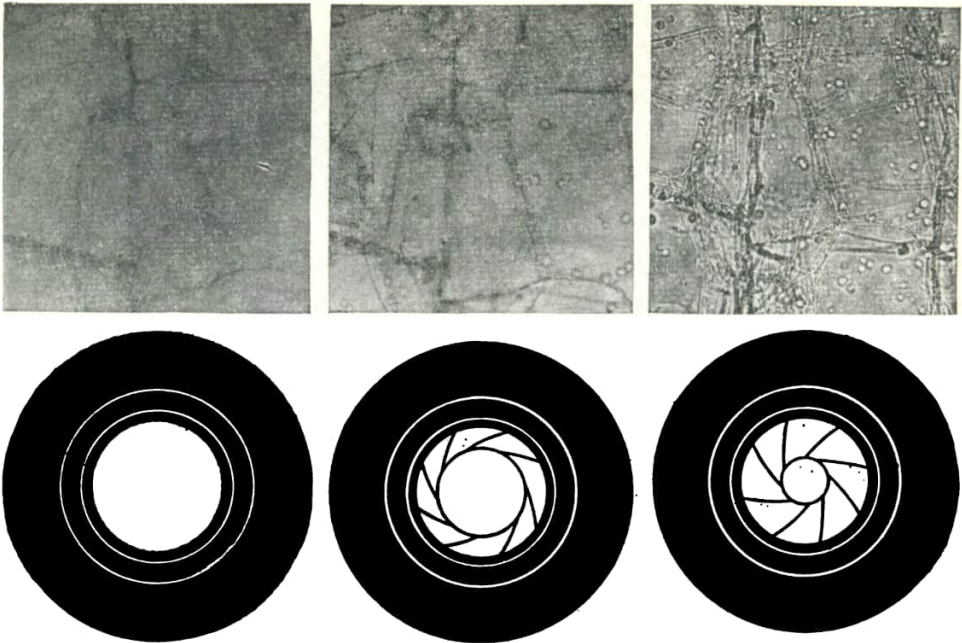


Abb. 43/1 Abblendung, Abbildungstiefe und Kontrast des mikroskopischen Bildes. Die untere Abbildung zeigt jeweils die hintere Öffnung des Objektivs (Achromat 24/0,42), die obere Abbildung zeigt das mit dieser Einstellung erzielte Resultat. Präparat: *Begonia punctata*; Stengellängsschnitt mit Kristalldrüsen. Links Aperturblende völlig geöffnet,  $BA > n. A.$ ; Abbildung kontrastlos und mit ungenügender Abbildungstiefe, Mitte Aperturblende so weit geschlossen, daß ihr Rand innerhalb der hinteren Öffnung des Objektivs sichtbar wird,  $BA < n. A.$ ; Abbildung mit befriedigendem Kontrast und bester Abbildungstiefe, rechts Aperturblende bis auf  $1/4$  der Größe der hinteren Öffnung des Objektivs geschlossen; Abbildung mit starker Kontraststeigerung. Durch auftretende Zerstreuungserscheinungen entsteht jedoch ein unruhiges Bild, das viele Nebensächlichkeiten zeigt und zu Fehldeutungen verleitet, während die Kristalldrüsen kaum zu erkennen sind (84 : 1/150 : 1).

diger Ausleuchtung der Hinterlinse und einer Stellung, bei der das Bild der Aperturblende etwa  $1/2$  bis höchstens  $1/4$  der genannten Hinterlinsenöffnung ausmacht. Stärkere Abblendung führt zwar noch zu einer leichten Verstärkung der Kontraste, doch wirken sich Beugungserscheinungen, die als Säume alle Umrisse des Objekts umgeben, sehr störend aus. Außerdem erscheinen Staubteilchen, Fussel usw., die an Objektträgerunterseite, Deckglasoberseite, Kondensor- und Objektivfrontlinse haften, als dunkle Flecke unbestimmter Kontur, die zu schweren Fehldeutungen führen können. Die Abbildungstiefe wird nicht verbessert (s. Abb. 43/1, rechts).

Eine gewisse Plastizität läßt sich dem mikroskopischen Bild dadurch verleihen, daß die beleuchtenden Strahlen verschiedener Seiten verschieden hell gehalten werden. Legt man also in den Farbglasshalter unter dem Kondensor eine Rauchglasscheibe, die nur eine Hälfte des Durchmessers einnimmt, so entsteht eine Schattenwirkung, die

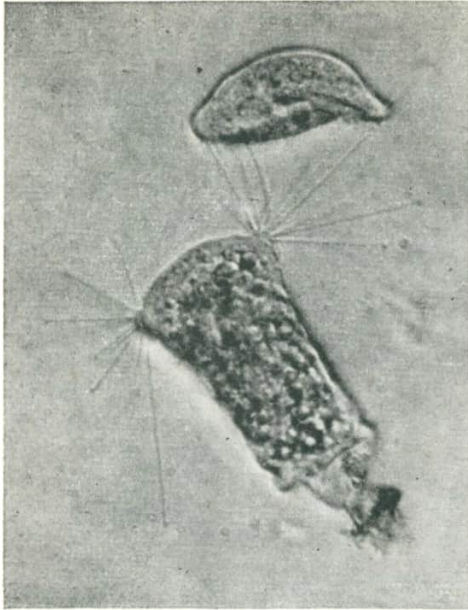


Abb. 44/1 Sauginfusor mit gefangenem Wimpertier; plastische Darstellung durch Rauchglas-Halbblende (Elektronenblitzaufnahme; 160 : 1/560 : 1)

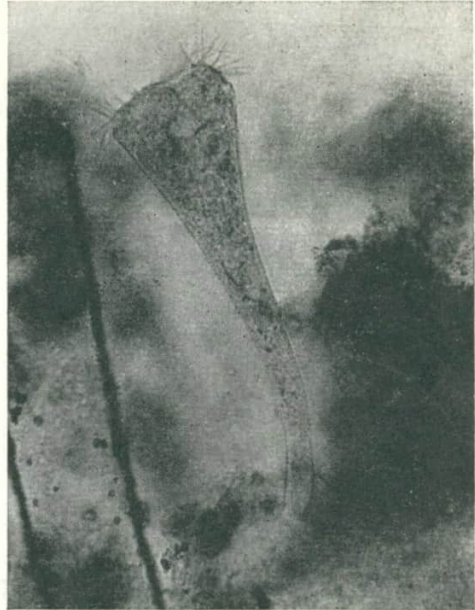


Abb. 44/2 Trompetentierchen (*Stentor* sp.); Elektronenblitzaufnahme mit Zentralblende (80 : 1/300 : 1)

einen plastischen Effekt hervorruft. Etwa den gleichen Erfolg kann man auch erzielen, wenn die eine Hälfte einer runden Einlegmattscheibe mit Pergamentpapier belegt wird (s. Abb. 44/1). Oft bringt die Anwendung von Zentralblenden eine Kontraststeigerung mit sich. Sie blenden alle Zentralstrahlen niederer Apertur ab, so daß nur Randstrahlen hoher Apertur zur Bildentstehung beitragen. Die Abmessungen dieser Zentralblenden – sie sollen einen Durchmesser haben, der der halben Apertur des verwendeten Objektivs entspricht – können ermittelt werden, indem bei scharf eingestelltem Präparat die BA der n. A. angeglichen, der Durchmesser der Blendenöffnung in dieser Einstellung gemessen und der Zentralblende der Radius der Blendenöffnung als Durchmesser gegeben wird. Die Blende klebt man zentral auf eine Einlegmattscheibe oder eine Planglasscheibe. Unter Verwendung von Zentralblenden entstandene Bilder zeigen deutliche Kontraststeigerung, also das, was man in der Fotografie als Härte bezeichnet (s. Abb. 44/2).

Die Bedeutung der Lichtführung für die optische Leistung soll nicht unterschätzt werden. Aus einem schlechten Objektiv läßt sich bei richtiger Lichtführung noch etwas herausholen, bei unsachgemäßer Ausleuchtung müssen auch beste Objektive versagen.

Ist das Präparat bei bester Lichtführung endgültig scharf eingestellt worden, kann die Betrachtung beginnen. Es ist zweckmäßig, das gesamte Sehfeld zunächst nach einem sich immer gleichbleibenden Modus abzusuchen. Gleichlaufend mit den Betrachtungen wird sofort gezeichnet, wichtige Vorgänge in Lebendpräparaten werden im Beobachtungstagebuch notiert.

Es genügt keinesfalls, sich nur eine Stelle eines Präparats genau anzusehen, erst seine vollständige Durchmusterung kann zu einem Gesamteindruck führen, kann gute und schlechte Stellen des Präparats zeigen. Große Objekte lassen sich oft nicht in einem Sehfeld erfassen; sie müssen Stück für Stück durchgemustert werden.

Das Verschieben des Präparats ist nicht einfach, weil es schon bei geringen Bewegungen völlig aus dem Sehfeld verschwinden kann, und zwar in der entgegengesetzten Richtung, in der die Verschiebung vorgenommen wurde. Nur ganz leichtes, gegenseitiges Verschieben des Präparats führt zum Erfolg. Zentrierschrauben an vereinfachten Kreuztischen, Objektführer und Kreuztische erleichtern diese Arbeit. Doch auch derjenige, dem diese Hilfsmittel zur Verfügung stehen, sollte unbedingt das Verschieben mit der Hand üben.

Während des Durchmusterens stellt die linke Hand am Feintrieb ständig wieder höchste Schärfe ein, was bei guten Objektträgern nur winziger Korrekturen bedarf. Mit steigenden Vergrößerungen wachsen auch die Schwierigkeiten beim Absuchen, verliert man doch bei den sehr kleinen Sehfeldern starker Objektive leicht den Überblick über den Gesamtzusammenhang. Das ist ein weiterer wichtiger Grund dafür, Schüler und Anfänger jede Untersuchung mit schwach vergrößernden Objektiven beginnen zu lassen.

Wurde bei der Durchmusterung die für die weitere Beobachtung geeignetste Stelle des Präparats gefunden, so wird sie in die Mitte des Sehfeldes gebracht und die Vergrößerung gewechselt. Bei Satzobjektiven oder Stativen ohne Revolver ist der Tubus – ohne das Mikroskop zu bewegen oder zu erschüttern – so weit zu heben, daß bequem mit der Hand zwischen Frontlinse und Tisch gearbeitet werden kann. (Vorsicht beim Wechsel!) Beim Vergrößerungswechsel mit dem Objektivrevolver wird das stärkere Objektiv durch einfaches Schwenken des Revolvers in den Strahlengang gebracht. Es liefert auf Grund seiner Abgleichung sofort wieder ein annähernd scharfes Bild, das lediglich einer geringen Korrektur bedarf. Bei guter Zentrierung des Revolvers muß die eingestellte Präparatstelle auch nach dem Objektivwechsel genau in der Mitte des Sehfeldes liegen.

Soll mit stärksten Objektiven (z. B. bei Ölimmersionen) gearbeitet werden, so langt Tageslicht nicht aus; es muß künstlich beleuchtet werden. Mit einfachen Mikroskopierleuchten verfährt man so, wie bei der Arbeit mit Tageslicht. Steht jedoch eine vollausgebaute Mikroskopierleuchte mit Kollektor und Leuchtfeldblende zur Verfügung (s. Abb. 30/3), so sollte, vor allem bei mikrofotografischen Arbeiten, das Köhlersche Beleuchtungsprinzip, das die bestmögliche Lichtführung ermöglicht, angewendet werden.

Die richtige Einstellung Köhlerscher Beleuchtung geht, nachdem die Mikroskopierleuchte mit dem T-Stück fest mit dem Mikroskop verbunden wurde, in 4 Etappen vor sich (s. vordere innere Umschlagseite):

1. Sowohl die Kondensorblende (Aperturblende), als auch die Blende an der Leuchte (Leuchtfeldblende) werden so weit wie möglich geschlossen. Die Mattglasscheibe wird aus der Leuchte entfernt. Nun versucht man, durch Drehen und Verstellen des Spiegels sowie durch Änderung des Abstandes der Lampe zur fest eingebauten Kollektorlinse die Leuchtwendel oder den Glühfaden der Lampe auf der Mitte der zugezogenen Aperturblende scharf abzubilden. Da die Aperturblende nur sehr mühsam und schlecht von unten eingesehen werden kann, legt man einen Taschenspiegel so auf den Mikroskopfuß, daß die Abbildung der Leuchtwendel auf der Aperturblende mühelos beobachtet werden kann. Die Mattglasscheibe wird wieder eingesetzt.

2. Das Mikroskop wird scharf auf das Präparat eingestellt (fokussiert). Dabei darf die

Aperturblende (Kondensorblende) vorübergehend geöffnet werden. Die Qualität der Beleuchtung interessiert in diesem Stadium der Einstellung noch nicht.

3. Nachdem die Kondensorblende wieder völlig geschlossen wurde, dreht oder schiebt man den Kondensor in seine oberste Stellung. Bei gleichzeitigem Einblick in das Okular wird jetzt der Kondensor langsam gesenkt, bis ein scharf umrissener Lichtfleck erscheint. Daß es sich dabei um ein Abbild der geschlossenen Leuchtfeldblende handelt, wird durch Auf- und Zuziehen derselben festgestellt. Dieses Bild der Leuchtfeldblende wird durch leichte Bewegungen des Spiegels genau in die Mitte des Sehfeldes gebracht und danach die Leuchtfeldblende so weit geöffnet, daß ihr Rand gerade hinter dem Rande des Sehfeldes verschwindet.

4. Die Beleuchtungsapertur wird nun in der schon beschriebenen Art und Weise (s. S. 42) der numerischen Apertur des verwendeten Objektivs sowie den Eigentümlichkeiten des zu untersuchenden Präparats angepaßt. Durch Beachtung dieser vier Arbeitsgänge wird erreicht, daß beste Lichtführung vorliegt und störende Reflexe vermieden werden.

Nach Einstellen der Köhlerschen Beleuchtung erfolgt die Beleuchtung des Untersuchungsgegenstandes nicht mehr mit der Lichtquelle selbst, sondern mit deren Bild, das auf die Aperturblende unter dem Kondensor projiziert wird. Dadurch können Strukturelemente der Lichtquelle nicht im mikroskopischen Bild erscheinen. Die Begrenzung des Leuchtfeldes besorgt die an der Mikroskopierleuchte angebrachte Leuchtfeldblende. Sie wird durch den Kondensor in der Präparatebene abgebildet. Veränderungen der Leuchtfeldblende wirken sich ausschließlich auf die Größe des ausgeleuchteten Feldes, nicht aber auf dessen Helligkeit aus. Veränderungen der Aperturblende wirken sich auf die Beleuchtungsapertur sowie auf den Bildkontrast aus.

Die Einstellung einer Ölimmersion ist auf Grund des geringen Arbeitsabstandes dieser Objektive (0,06 mm) oft schwierig. Man sollte die Immersion nur benutzen, wenn die n. A. des stärksten Trockensystems nicht ausreicht, um feinste Strukturen aufzulösen. Zum Herstellen der Immersion bringt man mit einem Glasstäbchen etwas Immersionsöl auf die Kondensorfrontlinse. Dann wird der Kondensor so weit gesenkt, daß das nun aufgelegte Präparat den Öltropfen nicht berühren kann. Nachdem das Präparat mit den Tischfedern festgelegt wurde, wird der Kondensor vorsichtig so weit gehoben, bis die Kondensorimmersion hergestellt ist. Dabei dürfen keine Luftblasen in der Ölschicht auftreten! Unter Beobachtung mit einem stark vergrößernden Trockenobjektiv wird jetzt die zu untersuchende Stelle des Präparats genauestens in die Sehfeldmitte gerückt. Diese Arbeit muß mit Rücksicht auf das äußerst kleine Objektfeld der Immersionsobjektive mit großer Genauigkeit erfolgen. Da die Immersionen nicht abgeglichen sind, hebt man den Tubus so weit, daß mühelos ein Tropfen Immersionsöl auf die Deckglasoberfläche gebracht werden kann. Nun erst wird das Immersionsobjektiv in den Strahlengang eingeschwenkt. Unter seitlicher Beobachtung wird der Tubus so weit gesenkt, daß die Frontlinse des Immersionsobjektivs in den auf dem Deckglas befindlichen Öltropfen gerade eintaucht. Bei vorsichtshalber weit zugezogener Blende wird nun der Tubus unter gleichzeitigem Einblick in das Okular mittels des Grobtriebes mit äußerster Vorsicht so weit gesenkt, bis das Bild schattenhaft erscheint. Die endgültige Scharfeinstellung wird nur mit dem Feintrieb vorgenommen und schließlich die Ausleuchtung des Präparats dem Köhlerschen Prinzip entsprechend verbessert. Man achtet vor allen Dingen darauf, daß beim Immersieren des Kondensors und des Objektivs keine Luftblasen in das Öl geraten, da diese die richtige Ausleuchtung völlig vereiteln können. Für die erste Scharfeinstellung ver-

wendet man ein schwach vergrößerndes Okular. Man wird feststellen, daß nicht nur die Einstellung der Immersion schwierig ist, sondern daß auch die eigentliche Untersuchung höchste Anforderungen an das Können des Mikroskopierenden stellt. Immersionsuntersuchungen sollten erst dann durchgeführt werden, wenn die Arbeit mit Trockensystemen völlig beherrscht wird. Das Arbeiten mit Immersionssystemen wird durch Benutzung eines Doppelfläschchens für Immersionsöl und die Flüssigkeiten zum Reinigen der Objektive und Präparate wesentlich erleichtert.

### Weitere wichtige Untersuchungsmethoden

Je nach der Lichtführung werden in der Mikroskopie eine ganze Reihe verschiedener Untersuchungsmethoden unterschieden. Im Rahmen dieses Buches wird vorwiegend die auch für den Biologieunterricht an den allgemeinbildenden Schulen wesentlichste und gebräuchlichste Methode, die der Hellfeld-Durchlicht-Mikroskopie, behandelt. Einige andere spezielle Methoden, die allenfalls noch für die schulische Arbeit in Frage kommen, werden nur im Überblick betrachtet. Diese Untersuchungsmethoden dienen vorwiegend der Steigerung der Kontraste im mikroskopischen Bild. Für weiterführende Arbeiten wird die Benutzung spezieller Fachliteratur empfohlen.

#### *Schiefe Hellfeld-Durchlicht-Beleuchtung*

Während bei unseren bisherigen Betrachtungen der Hellfeld-Durchlicht-Mikroskopie der Zentralstrahl des nullten Beugungsmaximums parallel zur optischen Achse einfiel (gerade Hellfeld-Durchlicht-Beleuchtung), arbeitet man bei einer anderen Methode mit schief einfallendem Licht. Dieses wird entweder durch seitliche (exzentrische) Einstellung des Mikroskopspiegels, durch exzentrische Stellung der Kondensorblende bei Abbeschen Beleuchtungsapparaten oder durch Einlegen exzentrischer Blenden in den Blendenhalter unter dem Kondensator erzielt. Diese Einrichtungen blenden einen Teil des Beugungsbildes der Lichtquelle ab, so daß nur ein kleiner Teil desselben zur Bildentstehung beiträgt (s. Abb. 47/1). Dadurch, daß das nullte Beugungsmaximum nicht mehr zentral, sondern stark exzentrisch ins Objektiv fällt, werden also einerseits die gesamten Beugungsmaxima der einen Hälfte von der Bilderzeugung ausgeschlossen, andererseits können durch diese Lichtführung in die andere Hälfte des Objektivs Beugungsmaxima viel höheren Grades eintreten und zur Bildentstehung beitragen.

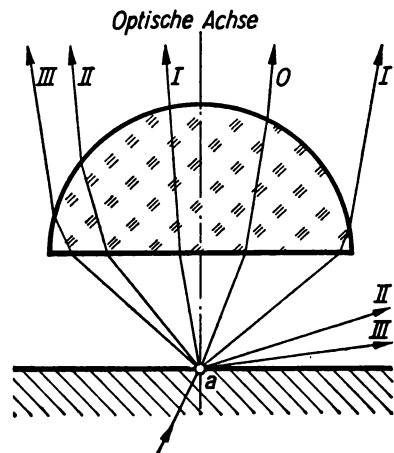


Abb. 47/1 Eintritt der Beugungsmaxima in die Frontlinse des Objektivs bei schiefer Beleuchtung



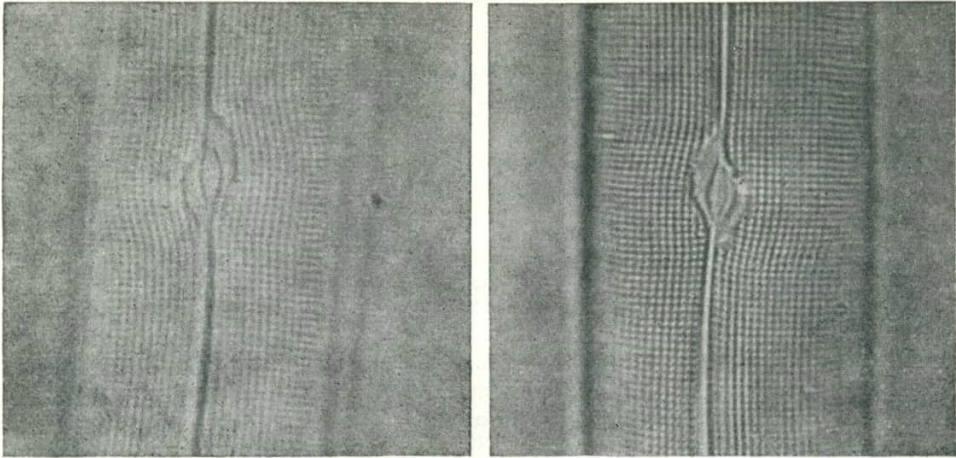


Abb. 48/1 Gerade und schiefe Beleuchtung bei der Kieselalge *Gyrosigma balticum*; links gerade Beleuchtung, rechts schiefe Beleuchtung; rechts Kontraststeigerung und bessere Auflösung der Objektstruktur durch Verwenden einer exzentrischen Blende (450 : 1/1125 : 1)

Als Ergebnis schiefer Beleuchtung kann man eine starke Verbesserung der Kontraste (Erreichen plastischer Effekte) sowie eine wesentliche Steigerung des Auflösungsvermögens der Objektive erzielen; im Grenzfall (Zentralstrahl des nullten Maximums tritt gerade noch ins Objektiv ein) kann das Auflösungsvermögen verdoppelt werden (s. Abb. 48/1). Diese Tatsache soll an einem Zahlenbeispiel erhärtet werden. Nach R. BRANDT zeigt ein Zeiss-Achromat  $40\times$ , n. A. 0,65 bei gerader Beleuchtung mit weißem Licht höchstens noch Strukturen von  $0,85\ \mu\text{m}$  Größe. Bei schiefer Beleuchtung können jedoch noch  $0,42\ \mu\text{m}$  große Strukturen einwandfrei aufgelöst werden.

Um diese Leistungssteigerung des Objektivs durch Anwendung schiefer Beleuchtung noch zu verdeutlichen, sei darauf hingewiesen, daß ein Zeiss-Achromat H I  $90\times$ , n. A. 1,25 bei gerader Beleuchtung mit weißem Lichte im Normalfall  $0,44\ \mu\text{m}$  aufzulösen in der Lage ist, also weniger als das Objektiv wesentlich niedrigerer Apertur bei schiefer Beleuchtung. Das Immersionsobjektiv zeigt jedoch bei schiefer Beleuchtung mit weißem Licht im günstigsten Falle sogar noch Strukturen von  $0,22\ \mu\text{m}$ .

Weiterhin ermöglicht die Verbesserung des Auflösungsvermögens der Objektive bei schiefer Beleuchtung die Benutzung stärkerer Okulare, ohne daß dadurch die förderliche Vergrößerung überschritten wird. Ein Achromat, mit schiefer Beleuchtung benutzt, kann also in vielen Fällen ein Immersionsobjektiv ersetzen.

Es hat kaum Sinn, schiefe Beleuchtung bei schwachen Objektiven anzuwenden, da diese so niedrige Aperturen aufweisen, daß deren Steigerung, ja Verdoppelung kaum ins Gewicht fällt. Selbstverständlich tritt jedoch auch hier eine Kontraststeigerung ein.

Mit Hilfe des großen Abbeschen Beleuchtungsapparates fällt es am leichtesten, eine vollendete schiefe Beleuchtung zu erzielen. Zu diesem Zweck zieht man die Aperturblende des Kondensors stark zusammen, so daß nur noch eine Blendenöffnung von 2 mm bis 5 mm Durchmesser verbleibt. Dann wird mittels Zahntrieb der Blendenteil des Kondensors aus der optischen Achse des Mikroskops genommen, so daß nur ein

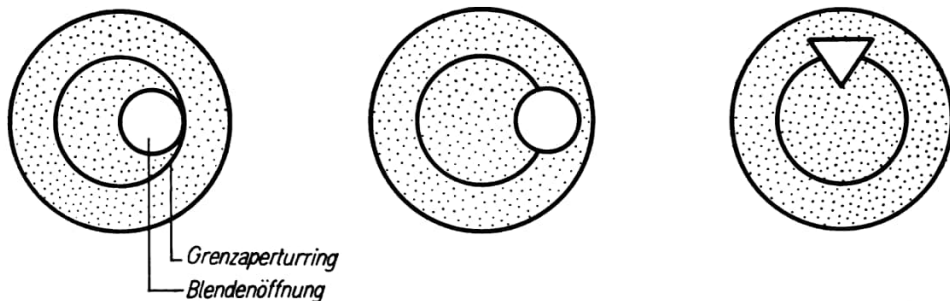


Abb. 49/1 Exzentrische Blenden; links für schiefe Beleuchtung, Mitte und rechts für Relief- oder Übergangsbeleuchtung; Größe des Grenzaperturring und der Blendenöffnung richten sich nach der n. A. des verwendeten Objektivs

entsprechender Randteil des Kondensors zur Wirkung kommen kann. Das setzt, wie jegliche schiefe Beleuchtung, eine starke Lichtquelle voraus.

Bei Mikroskopen mit feststehender Aperturblende legt man in den Farblashalter eine exzentrische, aus dünner Pappe gefertigte Blende ein. Um eine exzentrische Blende anzufertigen, geht man wie folgt vor: Die Beleuchtungsapertur eines mittelstarken bis starken Objektivs wird durch Messen der Blendenöffnung der Aperturblende (s. S. 44) festgestellt. Man zeichnet sich auf ein Stück Pappe den Gesamtdurchmesser des Farblashalters als Kreis auf. In diesen Kreis setzt man konzentrisch einen Kreis mit dem Durchmesser der soeben festgestellten Blendenöffnung der Aperturblende. Der diesen Innenkreis an einer Stelle berührende und später auszuschneidende exzentrische Kreis, die Blendenöffnung, soll etwa  $\frac{1}{2}$  bis  $\frac{1}{3}$  der Apertur des verwendeten Objektivs aufweisen. Nachdem die Blendenöffnung sowie die gesamte Scheibe ausgeschnitten und die so entstandene exzentrische Blende in den Farblashalter unter den Kondensor eingelegt wurde, kann die Beobachtung mit schiefer Beleuchtung beginnen (s. Abb. 49/1). Bei einseitig schiefer Beleuchtung führt der Azimutfehler leicht zu optischen Täuschungen, die dadurch erkannt und kompensiert werden können, daß die Blende um

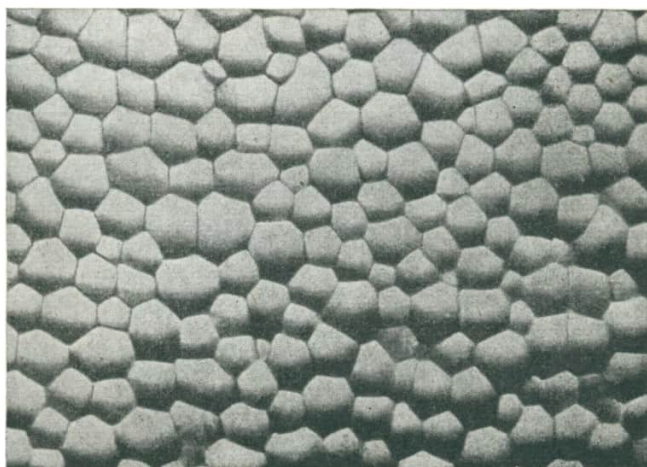


Abb. 49/2 Teichmuschel (*Anodonta* sp.), Dünnschliff der Schale; Kleinmikroskop C, behelfsmäßige schiefe Beleuchtung (40 : 1/140 : 1)

ihre Achse gedreht, das heißt das Objekt nach und nach von allen Seiten beleuchtet wird. Den Azimutfehler kann man auch durch Unterlegen einer Zentralblende von etwa 15 mm Durchmesser unter den genau zentrierten Kondensator vermeiden. Man erreicht damit den Vorteil allseitigen Schieflichtes, also auch gesteigerter Auflösung in allen Richtungen.

Bei Mikroskopen ohne Kondensator gibt es zur Erzielung schiefer Beleuchtung drei Möglichkeiten, die zwar nicht zu Leistungssteigerungen der Objektive im Hinblick auf Erhöhung der n. A., wohl aber zur Kontraststeigerung führen. Moderne Stative verfügen meist über einen in der optischen Achse festgeschraubten Spiegel. In diesem Fall muß der Spiegel entweder in seinem Halter schief gestellt (man benutzt vorteilhafterweise den Hohlspiegel) oder mit einer exzentrischen Blende versehen werden. Bei Mikroskopen mit aus der optischen Achse herauschwenkbarem Spiegelhalter wird derselbe (Hohlspiegel benutzen!) weit exzentrisch eingestellt.

Behelfsmäßig läßt sich schiefe Beleuchtung sogar bei Schülermikroskopen erreichen. Das Instrument wird so aufgestellt, daß nur eine Hälfte des Spiegels Licht erhält. Eine Verbesserung des Auflösungsvermögens ist kaum zu bemerken, es ergeben sich aber kontrastreichere Bilder (s. Abb. 49/2).

### *Dunkelfeldbeleuchtung*

Wird der beleuchtende Strahlenkegel bei schiefer Beleuchtung über die Grenze der Apertur des verwendeten Objektivs hinaus geneigt, so ergibt sich Dunkelfeldbeleuchtung. Zunächst soll das Prinzip der Dunkelfeldbeleuchtung kurz erklärt werden. Während bei dem bisher besprochenen Durchlicht-Hellfeld der ganze Lichtstrom, bei schiefer Beleuchtung zumindest ein großer Teil davon in das Auge des Beobachters gelangt, wird bei Dunkelfeldbeleuchtung das Objekt selbst mit schiefem Licht so bestrahlt, daß nur die an den feinen Struktureinheiten des Präparats gebeugten oder reflektierten Strahlen ins Objektiv gelangen (s. vordere innere Umschlagseite). Es sind dann nur die hell aufleuchtenden Struktureinheiten des Präparats auf völlig dunklem Grund zu sehen (s. Abb. 50/1). Um die hellen Struktureinheiten herum entstehen allerdings mehr oder weniger große Lichthöfe. Die starke Kontrastwirkung der Dunkelfeldbeleuchtung, strahlende Helle und völlige Dunkelheit, läßt Dinge, die im Hellfeld nur schlecht erkennbar sind, klar und deutlich erscheinen, sie zeigt punktförmige Objekte

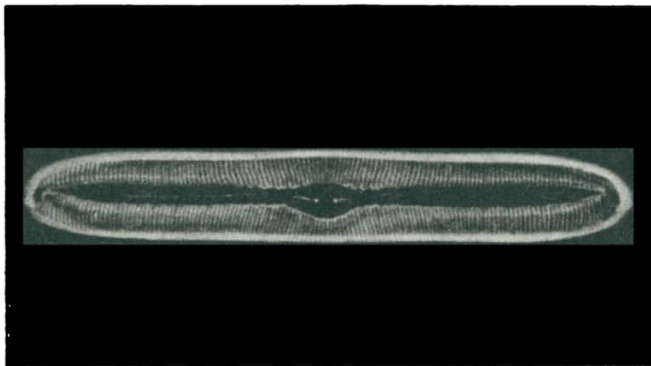


Abb. 50/1 Kieselalge (*Pinnularia maior*) im Dunkelfeld, das behelfsmäßig durch eine Zentralblende erzeugt wurde (184 : 1/240 : 1)

(z. B. winzige Kokken), die im Hellfeld oft unbemerkt bleiben. Die sich an sehr kleinen Teilchen bildenden Beugungsmaxima sowie andere Beugungserscheinungen führen dazu, daß sich bei Dunkelfeldbeobachtung wenig über die genaue Form der Objekte, wohl aber etwas über ihr Vorhandensein und über ihre Bewegung aussagen läßt. Es ist beispielsweise sehr schwer, Schülern im Hellfeld eine kriechende Amöbe mit aller Deutlichkeit zu zeigen, da sich infolge des geringen Unterschieds im Brechungsindex des Protoplasmas zum Einschlußmittel Wasser kontrastarme Bilder ergeben. Im Dunkelfeld erscheinen die Bewegungsvorgänge in wünschenswerter Deutlichkeit. Ebenso lassen sich zum Beispiel Zahnschleimbakterien im Dunkelfeld wesentlich besser demonstrieren als im Hellfeld, da sie nicht nur kontrastreicher abgebildet, sondern auch ihre Bewegungen viel auffälliger sichtbar werden. Gefärbte Präparate eignen sich nicht zur Beobachtung im Dunkelfeld!

Zur Erzielung von Dunkelfeldbeleuchtung werden Dunkelfeldkondensoren oder behelfsmäßig Zentralblenden, konzentrische Blenden sowie im einfachsten Falle extrem schiefe Spiegelstellung benutzt. Letzteres ist allerdings nur beim Arbeiten mit schwachen Objektiven und ohne Kondensator möglich. Der unter einem geeigneten Winkel vom Planspiegel nach oben reflektierte Lichtstrom beleuchtet dabei das Objekt so schief, daß er selber nicht ins Objektiv eintritt (s. Abb. 51/1). Bei schwachen Vergrößerungen lassen sich so sehr eindrucksvolle Bilder von feinen Stoffgeweben, Kristallen, Federn u. ä. erzielen. Bei stärkeren Vergrößerungen versagt jedoch diese einfache Methode. Um mit mittelstarken Objektiven Objekte, die im Dunkelfeld hervorragende Bilder ergeben (z. B. Protozoen, Bakterien, Kristalle in pflanzlichen Zellen, Diatomeen), betrachten zu können, müssen Zentralblenden verwendet werden. (Viele Dunkelfeldaufnahmen dieses Buches sind unter Verwendung von Zentralblenden hergestellt worden.)

Um die Wirkung dieser Zentralblenden zu erläutern, sind noch einige theoretische Erörterungen erforderlich. Der Planspiegel sendet ein reflektiertes Strahlenbündel parallelen Lichts durch den Hellfeldkondensator in das Präparat. Dabei zieht der Kondensator dieses Lichtbündel zu einem kleinen im Objekt gelegenen Bild der Lichtquelle (Leuchtfeldblende) zusammen. Das Licht geht dann über Objektiv und Okular in das Auge weiter. Alle Strahlen, die den Öffnungswinkel des benutzten Objektivs überschreiten, werden mit der Aperturblenne des Kondensators ausgeblendet, da sie zur Verschleierung des Bildes führen.

Dieses von der Hellfeld-Durchlicht-Mikroskopie her bekannte Verfahren wird nun bei der Dunkelfeldbeobachtung gerade umgekehrt. Das dunkle Feld wird dadurch geschaffen, daß man die sämtlichen inneren, sonst zur Hellfeld-Bilderzeugung

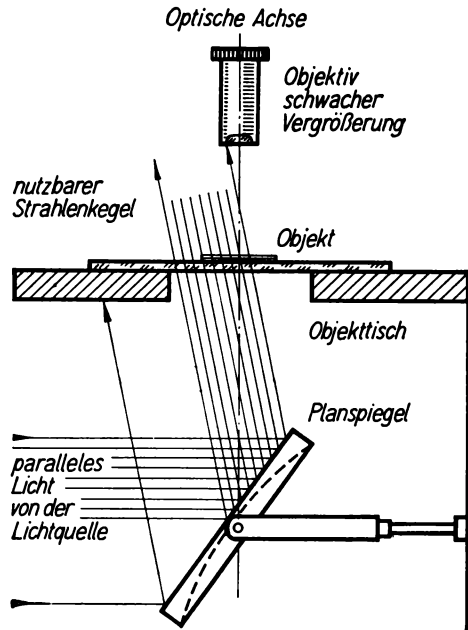


Abb. 51/1 Durchlicht-Dunkelfeld-Beleuchtung bei extrem schiefer Spiegelstellung

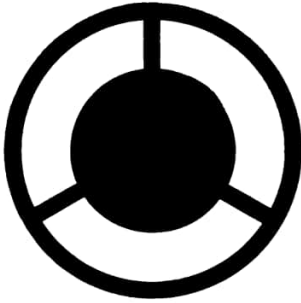


Abb. 52/1 Zentralblende für behelfsmäßige Dunkelfeldbeleuchtung bei Verwendung des Kondensors

dienenden Strahlen herausblendet und nur noch eine ringförmige Zone äußerer Strahlen so durch den Kondensor gehen läßt, daß sie sich im Präparat schneiden.

Diesem Zweck dienende Zentralblenden können leicht aus dünner Pappe hergestellt (s. Abb. 52/1) und in den Farbglasshalter eingelegt werden. Nach dem soeben Gesagten muß die innere Blendenfläche theoretisch mindestens die Größe der n. A. des verwendeten Objektivs aufweisen. Um Mischlicht sowie unerwünschte Überstrahlungen zu vermeiden, hält man sie sicherheitshalber um einige Millimeter größer. In der Praxis zeigt sich, daß für alle Objektive bis zur n. A. 0,6 bis 0,65 ein und dieselbe Zentralblende benutzt werden kann. Man richtet sie nach der Apertur des stärksten Objektivs ein, muß allerdings dann auch eine Lichteinbuße bei Objektiven niedriger Apertur in Kauf nehmen. Bei der Herstellung

der Zentralblenden ist darauf zu achten, daß die Zirkelspitze kein Loch hinterläßt, sonst werden unerwünschte Hellfeldstrahlen an der Bildentstehung beteiligt.

Erfolg oder Mißerfolg der Dunkelfelduntersuchungen hängen in hohem Maße von der richtigen Einstellung des Kondensors ab (Strahlenschnittpunkt des Randstrahlenkreises muß im Objekt liegen!). Um die Einstellung des Kondensors zu erleichtern, legt man einen sauberen Objektträger auf den Tisch des Mikroskops und darauf ein Stückchen Pergamentpapier. Bei schwacher Vergrößerung (5 bis  $10 \times 6$ ) wird wie gewöhnlich auf das Papier scharf eingestellt. Nachdem die Zentralblende in den Farbglasshalter gelegt wurde, kommt der Kondensor in seine oberste Stellung. Bei richtiger Stellung des Spiegels ist eine helle, ringförmig erleuchtete Zone im Papier zu beobachten. Sie muß genau in der Mitte des Sehfeldes liegen. Nun wird der Kondensor vorsichtig nach unten bewegt, bis der Ring zu einem kleinen, hellen Leuchtfeld zusammenfließt. Die geforderte Schneidung der Dunkelfeldstrahlen im Objekt ist jetzt hergestellt, und die Beobachtung kann, allerdings mit einem stärkeren Objektiv, beginnen. Bei Dunkelfeldbeobachtungen müssen jedoch, da ja der größte Teil des beleuchtenden Lichts heraus-

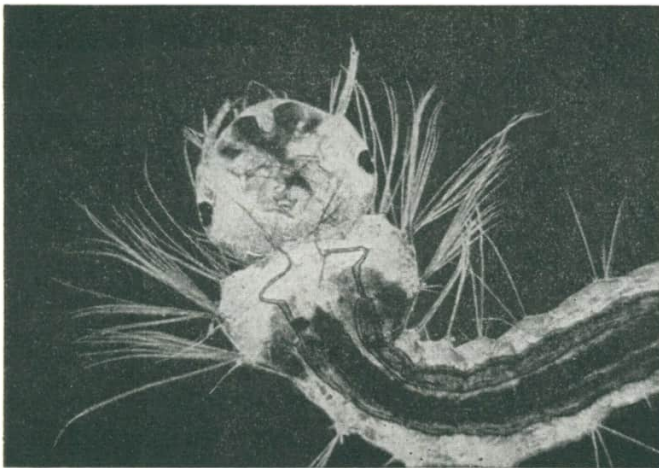


Abb. 52/2 Stechmückenlarve (*Culex* sp.); Aufnahme mit Kardioid-Dunkelfeldkondensor und Elektronenblitz als Lichtquelle (11 : 1/35 : 1)

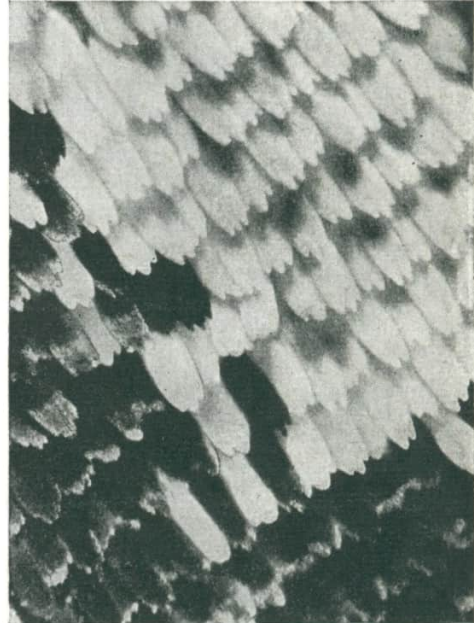
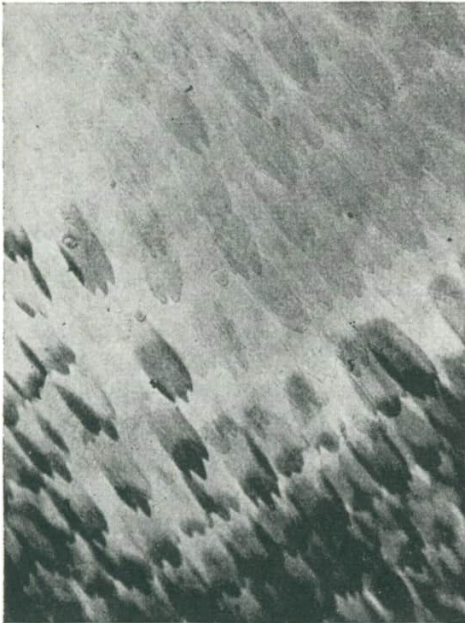
Abb. 53/1 Geräteanordnung zur Herstellung behelfsmäßiger Auflicht-Dunkelfeld-Beleuchtung



geblendet wird, starke künstliche Lichtquellen, möglichst Mikroskopierleuchten mit Kollektorlinse, verwendet werden.

Nicht so gut arbeitet es sich mit exzentrischen Lochblenden, da der dabei auftretende Azimuteffekt leicht zu optischen Täuschungen führt.

Abb. 53/2 Schwalbenschwanz (*Papilio machaon*), Flügelschuppen; links Hellfeld-Durchlicht-Beleuchtung, rechts Auflicht-Dunkelfeld-Beleuchtung (40:1/120:1)



Die Apertur 0,65 stellt etwa die Grenze dar, bis zu der man mit behelfsmäßiger Dunkelfeldbeleuchtung gehen kann. Es sei jedoch hinzugefügt, daß ein 40fach vergrößerndes Objektiv der Apertur 0,65 bereits alles im Dunkelfeld erkennen läßt, was Schüler, Lehrer und Naturfreunde im allgemeinen beobachten. Man sollte auf keinen Fall versäumen, den Schülern beispielsweise Bakterien einmal im Dunkelfeld zu zeigen. Das erscheint um so notwendiger, als einige Unterrichtsfilme Dunkelfeldaufnahmen enthalten, die den Betrachtern sonst schwer verständlich sind.

Zur Erzielung eines völligen Dunkelfeldes bei Verwendung auch stärkster Objektive – einschließlich homogener Immersionen – werden spezielle **Dunkelfeldkondensoren** benutzt, die jedoch auf Grund ihres relativ hohen Preises für schulische Zwecke kaum in Frage kommen. Sie erzeugen absolut reine, fast überstrahlungsfreie Dunkelfelder (s. Abb. 52/2).

Ihre Wirkung beruht auf dem gleichen Prinzip wie das der Zentralblenden. Dunkelfeldkondensoren setzen Kondensorimmersion auch bei Trockenobjektiven sowie die Einhaltung genauester Objektträgerdicke (höchstens 1,2 mm) voraus. Durch Dunkelfeldbeleuchtung läßt sich keine Erhöhung der Apertur der Objektive erzielen. Objektive höherer Apertur als 1,0 müssen sogar auf etwa n. A. 0,8 abgeblendet werden.

Die **Auflicht-Dunkelfeld-Beleuchtung** erfordert ebenfalls eine starke künstliche Lichtquelle. Sie läßt sich mit einfachen Mitteln im Bereich schwacher bis mittlerer Vergrößerungen (20 bis 200 : 1) verwirklichen (s. Abb. 53/1). **Auflicht-Dunkelfeld-Beleuchtung** führt, vor allem bei sehr schräger Beleuchtung, durch lange Schattenzonen zur Entstehung außerordentlich plastischer Bilder (s. Abb. 53/2).

### *Kontrastfarbenbeleuchtung*

Die **Kontrastfarbenbeleuchtung** ist eine verhältnismäßig wenig bekannte Untersuchungsmethode, die mit einfachen Hilfsmitteln von jedem Mikroskopierenden durchgeführt werden kann und die von geeigneten Objekten kontrastreiche und in ihrer Farbwirkung einmalige Bilder ergibt (s. Farbtafel 1, Abb. a).

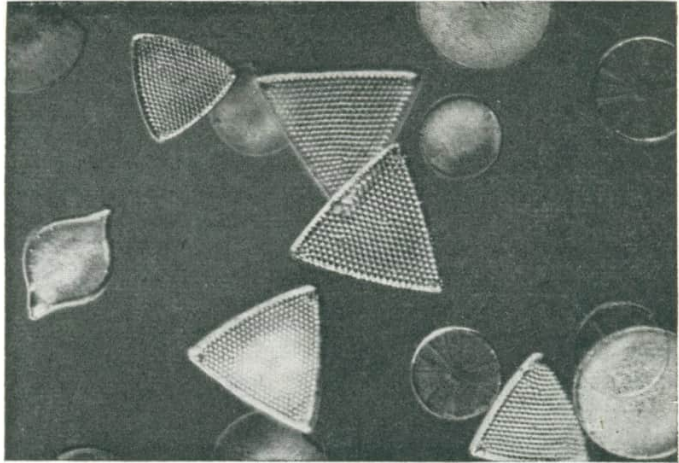
Ziel der Methode ist es, ungefärbte Untersuchungsobjekte (z. B. Bakterien, Radiolarien, Foraminiferen, Blutkörperchen, Epithelzellen, Pflanzenhaare, Schnitte von Pflanzenstengeln, Oberflächenabdruckpräparate, Kristalle usw.) durch eine modifizierte Dunkelfeldbeleuchtung leuchtend farbig in einem andersfarbigen (z. B. komplementärfarbigem) Sehfeld erscheinen zu lassen.

Dieses Untersuchungsverfahren wird auch als optische Färbung bezeichnet. Es nutzt die Fähigkeit unseres Auges aus, Farbunterschiede besser als Helligkeitsunterschiede wahrzunehmen und läßt durch Farbkontraste Feinheiten des Objekts sichtbar werden, die im normalen Hell- oder Dunkelfeld nicht deutlich genug erkannt werden können.

Kontrastfarbenbeleuchtung kann man im Durchlicht und im Auflicht durchführen.

Die **Dunkelfeldmethode der Kontrastfarbenbeleuchtung** ergibt im Durchlicht besonders gute Bilder. Die Entstehung des Dunkelfeldes wurde bereits erläutert. Es muß wiederum mit einer Zentralblende gearbeitet werden, die in den Filterhalter des Kondensors eingelegt wird. Erhält nun die Zentralblende eine zentrale Aussparung, die mit einem geeigneten FarbfILTER versehen wird, so entsteht ein farbiges Hellfeldstrahlenbündel, das die Farbe des Sehfeldes bestimmt. Läßt man die Peripherstrahlen, deren BA höher liegt als die n. A. des verwendeten Objektivs, durch ein andersfarbiges Filter laufen, so erscheint das Untersuchungsobjekt auf Grund der Dunkelfeldbedingungen

Abb. 55/1 Diatomeen-  
Streupräparat in Kon-  
trastfarbenbeleuchtung  
(38 : 1/85 : 1)



in der Peripherfilterfarbe im andersfarbigen Feld des Zentralfilters. Zwischen Zentral- und Peripherfilter muß eine Schattenzone liegen (s. hintere innere Umschlagseite), die eine einwandfreie Trennung der Zentralstrahlen von den Peripherstrahlen bewirkt. Das Untersuchungsobjekt wird von den Lichtstrahlen des Zentralfilters durchsetzt und schräg von den Seiten her vom andersfarbigen Licht des Peripherfilters beleuchtet. Da für den Peripherfilterbereich hellere Farben als für den Zentralfilterbereich benutzt werden und da außerdem die Fläche des Peripherfilters im Kondensorquerschnitt viel größer ist als die des Zentralfilters, erhält das Objekt entsprechend intensiveres Licht vom Peripherfilter und leuchtet also hell in dessen Farbe auf dem Grunde der Zentralfilterfarbe auf (s. Abb. 55/1, Farbtafel 1, Abb. a).

Für Untersuchungen mit Kontrastfarbenbeleuchtung ist eine gute Mikroskopierleuchte erforderlich. (Köhlersche Beleuchtung herstellen, Leuchtfeldblende ganz öffnen!) Der verwendete Kondensormuß eine BA über 1,00 haben. Die Frontlinse des Kondensors darf nicht entfernt werden (BA sonst zu niedrig). Die Aperturblende wird grundsätzlich voll geöffnet.

Die Kontrastfarbenbeleuchtung im Dunkelfeld ist ohne Komplikationen nur mit Objektiven bis zur n. A. 0,50 anwendbar. Sollen Objektive höherer n. A. bis etwa 0,70 verwendet werden, so muß Kondensormersion hergestellt werden, weil sonst die nunmehr benötigten Peripherstrahlen höherer BA als 1,00 nicht mehr erfaßt würden. Objektive noch höherer n. A. können auch mit Vollimmersion nicht verwendet werden, da bei ihnen auf Grund der hohen n. A. der Zentralfilterbereich so groß würde, daß die Lichtintensität der Peripherstrahlen nicht mehr zur Objektbeleuchtung ausreichen würde. Das Objekt erschiene dann in der Farbe der Zentralstrahlen, eine Kontrastwirkung könnte nicht mehr erzielt werden.

Da Spezialkondensoren für optisches Färben nicht mehr im Handel sind, müssen Filter für die behelfsmäßige Durchführung der Kontrastfarbenbeleuchtung selbst angefertigt werden. Zu jedem zur Untersuchung in Aussicht genommenen Objektiv gehören spezielle Filter, die der n. A. des betreffenden Objektivs angepaßt sind.

Die notwendigen Filter können aus Glas (Weiß- und Filtergläser verschiedener Farben) zusammengekittet oder aus durchsichtigen Folien hergestellt werden. Während bei der Herstellung von Glasfiltern die Hilfe eines Optikers oder Glasers erforderlich ist,



lassen sich Filter in beliebigen Farbkombinationen aus Folienmaterial schnell, einfach, genau und billig herstellen. Geeignet sind alle völlig klar durchsichtigen Folien, deren Dicke die Planlage der fertigen, ausgeschnittenen Filter garantiert. Folien für den Tageslichtprojektor Polylux eignen sich vorzüglich (Azetylzellulose-Folien). Die Farbgebung wird mit verdünnten (VCTH-Verdünner) schwarzen und farbigen Cellontuschen vorgenommen. Im Handel sind auch farbige Folien erhältlich. Normale Ausziehtuschen blättern leicht ab. Auch unbelichtete Röntgenfilme sind für die Filterherstellung geeignet. Sie werden vor der Benutzung durch normales Fixieren von der Bromsilberschicht befreit und mit Keilitz-Fotofarben gefärbt. Geringe Ungleichmäßigkeiten in der Färbung wirken sich nicht nachteilig aus.

Bei Verwendung von Filtern aus Folienmaterial empfiehlt es sich allerdings, zwischen Mikroskopierleuchte und Mikroskop einen Filter zur Absorption der Wärmestrahlen einzuschalten. Das muß auf jeden Fall geschehen, wenn – wie empfohlen – mit dem Hohlspiegel beleuchtet wird. Als Filter eignen sich Wärmeschutzfilter aus Projektoren, die im Fotohandel erhältlich sind.

Die Filter für Kontrastfarbenbeleuchtung werden wie folgt hergestellt:

1. Auf ein geeignetes Präparat unter Beachtung der Regeln der Köhlerschen Beleuchtung scharf einstellen.

2. Okular entfernen und bei gleichzeitigem Blick in den Tubus die Aperturblende des Kondensors so weit öffnen, daß sich ihr Rand mit der Begrenzung der Objektivhinterlinse deckt (s. S. 42). Die n. A. des verwendeten Objektivs und die BA des Kondensors stimmen nun überein.

3. Kondensor vorsichtig abnehmen und Durchmesser der Öffnung der Aperturblende genau ausmessen. Damit ist die Größe des Zentralfilterbereichs ermittelt.

4. Zur Ermittlung der Gesamtfiltergröße den Durchmesser des ausschwenkbaren Blendenhalters unter dem Kondensor ausmessen.

5. Mittels Zirkel und verdünnter schwarzer Cellontusche die Außenbegrenzungen des Filters und den Zentralblendenbereich (s. 3.) auf Folie zeichnen. Es empfiehlt sich, mit den einmal eingestellten Zirkelwerten gleich mehrere Filter zu zeichnen.

6. Damit sich der äußere Rand des Zentralfilterbereiches und der innere Rand des Peripherfilterbereiches in ihrer Wirkung nicht überlagern und stören (Mischlicht!), muß zwischen Zentral- und Peripherfilter eine Schattenzone (Blendenring) liegen (s. hintere innere Umschlagseite). Die Breite dieses Blendenrings ist erfahrungsgemäß mit 3 mm richtig bemessen. Der Blendenring wird so mit schwarzer Cellontusche aufgetragen, daß er 1 mm des Peripher- und 2 mm des Zentralfilterbereichs abdeckt.

7. Mit verdünnter Cellontusche werden Farben bzw. zusätzliche Blenden eingesetzt.

Die in der folgenden Tabelle angegebenen Farbkombinationen sind besonders wirksam:

Zentralfilter	Peripherfilter
mittleres weinrot	gelbgrün
dunkles blaugrün	orange
mittleres blau	hellrot
violett	gelb oder hell-orange
dunkles rot	hellblau

Die Farbe des Zentralfilters muß dunkler als die des Peripherfilters sein. Der Peripherfilter kann auch zweifarbig gestaltet werden. Farbkombinationen im Zentralfilter sind wertlos.

Mit Filtern, wie sie auf der hinteren inneren Umschlagseite dargestellt sind, läßt sich besonders gut arbeiten, wenn der Zentralfilterbereich in einem mittleren Weinrot und der Peripherfilterbereich in hellem Gelbgrün gehalten ist.

Die Einstellung der Kontrastfarbenbeleuchtung wird wie folgt vorgenommen:

1. Auf geeignetes ungefärbtes Präparat im Hellfeld-Durchlicht unter Beachtung der Regeln Köhlerscher Beleuchtung scharf einstellen.

2. Filter in den Blendenhalter einlegen, in den Strahlengang schwenken. Leuchtfeldblende und Aperturblende voll öffnen.

3. Bei Blick in das Okular erscheint das Objekt in Kontrastfarbenbeleuchtung. Eventuell zur Erzielung maximaler Kontrastwirkung Kondensor-Höheneinstellung bzw. Stellung des Blendenhalters geringfügig korrigieren.

Die **Komplementärfarbenmethode** ist eine besondere Form der Kontrastfarbenbeleuchtung im Durchlicht. Man kann mit Zentral- und Peripherfiltern oder mit Farbhalscheiben arbeiten.

Für die Methode mit Zentral- und Peripherfiltern stellt man sich Filter ohne Blendenring mit Komplementärfarben als Kontrastfarben her (Rot-Grün-Kombination ist besonders empfehlenswert). Nachdem wie oben beschrieben eingestellt wurde, wird die Aperturblende langsam zugezogen. Dadurch wird die zunächst viel größere Lichtintensität des Peripherfilters immer geringer, und schließlich wird eine Stellung der Aperturblende erreicht, bei der die Lichtintensität beider Filterbereiche gleich groß ist. Wurden gut abgestimmte Komplementärfarben für das Filter benutzt, so vereinigen sich diese nunmehr im Präparat theoretisch zu weiß. Da jedoch die Objektstrukturen unterschiedlich viel vom Licht der beiden Kontrastfarben absorbieren bzw. reflektieren, erscheinen ihre Feinstrukturen in einem außerordentlich aufschlußreichen Wechselspiel der verwendeten Komplementärfarben. Da diese Feinstrukturen mit gering vergrößernden Objektiven nicht erkannt werden könnten, eignet sich diese Methode vor allem für die Anwendung starker Trockensysteme der n. A. 0,65 (z. B. Achromat 40:1). Dabei ist Kondensorimmersion anzuwenden, da sonst keine Kontrastwirkung entsteht!

Die Farbhalscheibenmethode ist auch für geringer vergrößernde Objektive verwendbar. Sie ist einfacher durchzuführen als die Zentral-Peripherfilter-Methode, aber auch weniger gut im Ergebnis, weil kein so gutes Wechselspiel der Kontrastfarben an den Struktureinzelheiten des Präparates zu erreichen ist.

Die Filter (s. hintere innere Umschlagseite) werden so mit Komplementärfarben, wie rot und grün oder hellblau und gelb, gefärbt, daß beide Farben etwa in gleicher Intensität erscheinen. Das Präparat wird dann beispielsweise von einer Seite mit roten, von der anderen Seite mit grünen Strahlen beleuchtet. Besonders wesentlich ist die annähernd gleiche Helligkeit der verwendeten Komplementärfarben (s. Farbtafel 1, Abb. a).

**Kontrastfarbenbeleuchtung mit auffallendem Licht** wird ebenfalls vorwiegend mit Dunkelfeldbeleuchtung des Präparates durchgeführt. Wie bei der Durchlichtmethode eignen sich auch hier ungefärbte Präparate besonders gut (Textilien, größere Kristalle, ungefärbte Schnitte durch Holz usw.). Die Einstellung der Kontrastfarbenbeleuchtung wird im einfachsten Fall wie folgt vorgenommen:

1. Ein Objektträger mit dem Untersuchungsobjekt wird auf den Objektisch gelegt (nicht mit Deckglas abdecken!).

2. Das farbige Sehfeld, in dem das Untersuchungsobjekt erscheinen soll, wird durch

normale Beleuchtung des Präparats mit der Mikroskopierleuchte erzeugt. In den Blendenhalter der Mikroskopierleuchte oder in den Blendenhalter des Kondensors wird ein geeigneter Farbfilter (z. B. dunkles Blau) eingelegt.

3. Das Mikroskop wird scharf auf das Präparat eingestellt.

4. Eine zweite Mikroskopierleuchte oder eine Epileuchte (z. B. Projektionsgehäuse der ROW-Mikroprojektion) wird in Höhe des Objektisches seitlich des Mikroskops so angeordnet, daß ihr Licht schräg von oben auf das Präparat fällt (Winkel bei gleichzeitiger Beobachtung ausprobieren; s. Abb. 53/1).

In den Strahlengang der Epileuchte kommt nun gleichfalls ein Farbfilter, dessen Farbe im Gegensatz zu der steht, die zur Sehfeldbeleuchtung benutzt wurde (z. B. hellrot).

5. Das Präparat erscheint im einseitigen Auflichtdunkelfeld auf einem dunklen, andersfarbigen (z. B. komplementärfarbigem) Untergrund.

Folgende Farbkombinationen sind zu empfehlen:

Sehfeldbeleuchtung	Objektbeleuchtung
(von unten her) dunkelblau violett weinrot weinrot	(einseitiges Auflicht-Dunkelfeld) hellrot gelb gelbgrün hellblau

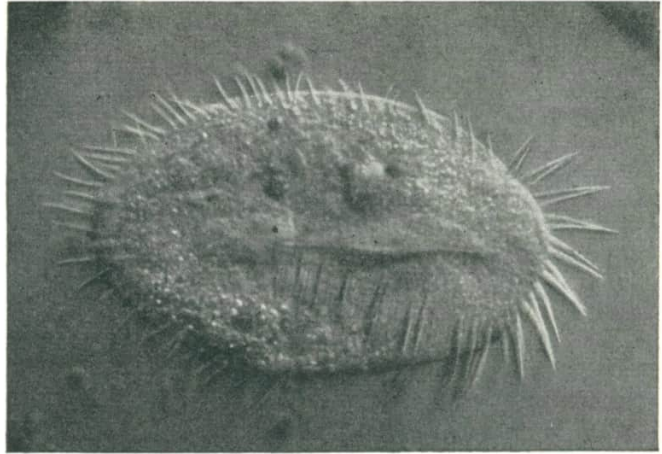
Voraussetzung für das Gelingen der Kontrastfarbenbeleuchtung mit auffallendem Licht ist, daß das Licht der Auflichtbeleuchtung heller als das der Durchlichtbeleuchtung ist, und daß das Auflichtfilter heller gefärbt wird als das Durchlichtfilter.

Bei der Benutzung nur einer Epileuchte tritt der Azimuteffekt auf, durch den Strukturen vorgetäuscht werden können, die im Präparat nicht oder nicht in der gesehenen Form vorhanden sind. Durch Einsatz einer zweiten Epileuchte, die im rechten Winkel zur ersten steht und die ein gleiches Farbfilter erhält, kann der Azimuteffekt vermieden werden. Um ein noch kontrastreicherer Farbspiel im Präparat zu erzielen, können in den beiden rechtwinklig zueinander stehenden Epileuchten verschiedenfarbige Filter (z. B. gelbgrün und hellblau) verwendet werden. Es wird dann derselbe Effekt erreicht, den man bei der Durchlichtkontrastfarbenbeleuchtung im Dunkelfeld erzielt, wenn der Peripherfilterbereich zweifarbig gehalten ist (hintere innere Umschlagseite, b und c). Rechtwinklig zueinander gelegene Objektstrukturen erscheinen in verschiedenen Farben.

### *Reliefbeleuchtung*

Ungefärbte Untersuchungsobjekte oder Objekte, deren Brechungsindex sich nur wenig von dem des umgebenden Mediums unterscheidet (z. B. lebende Bakterien, Protozoen, Diatomeen) erscheinen bei Reliefbeleuchtung äußerst plastisch und bei binokularer Beobachtung sogar annähernd stereoskopisch. Einzelheiten im Präparat sind durch hohe Kontrastwirkung sehr gut erkennbar. Die Methode eignet sich besonders für mittlere und starke Trockensysteme der n. A. 0,40 bis 0,65.

Abb. 59/1 Wimpertierchen (*Euplotes* sp.) in Reliefbeleuchtung; Elektronenblitzaufnahme (140:1/520:1)



Reliefbeleuchtung kann auf verschiedenen Wegen erreicht werden:

1. Es wird durch Einlegen einer Zentralblende in den Blendenhalter bei voll geöffneter Aperturblende bestmögliche Dunkelfeldbeleuchtung hergestellt. Nimmt man nun durch langsames Schwenken des Blendenhalters die Zentralblende aus dem Strahlengang heraus, so entsteht eine **Übergangsbeleuchtung** zwischen Hell- und Dunkelfeld, die Bilder mit überraschender Plastizität hervorbringt (s. Abb. 59/1). Durch vorsichtiges Schwenken des Blendenhalters kann die Übergangsbeleuchtung fein abgestimmt werden. Ein sofortiger Wechsel zur Dunkelfeldbeleuchtung bzw. auch Hellfeldbeleuchtung ist möglich. Die Reliefbeleuchtung ist über die subjektive Beobachtung hinaus besonders für mikrofotografische Zwecke sehr wertvoll, weil von Natur aus kontrastarme Objekte sehr kontrastreich dargestellt werden können. Beleuchtung durch starke Mikroskopierleuchten bzw. durch Elektronenblitz ist allerdings Voraussetzung für das Gelingen guter Aufnahmen.

2. Die Erzeugung schiefer Hellfeld-Durchlicht-Beleuchtung durch exzentrische Blenden (s. Abb. 49/1) sowie die Herstellung dieser Blenden sind bekannt (s. S. 49). Wird nun die Blendenöffnung, die etwa  $\frac{1}{2}$  bis  $\frac{1}{3}$  der Apertur des verwendeten Objektivs betragen soll, nicht innen an den Grenzaperturring, sondern genau auf ihn gelegt, so erzeugt eine solche Blende bei voll geöffneter Aperturblende ebenfalls eine gute Reliefbeleuchtung (s. Abb. 59/1). Die Nachteile des durch einseitige Beleuchtung auftretenden Azimuteffekts können durch Drehen der exzentrischen Blende im Blendenhalter oder durch Drehen des Kondensors während der Untersuchung beseitigt werden.

### *Arbeit im polarisierten Licht*

Die Anwendung polarisierten Lichts ermöglicht es, Struktureigentümlichkeiten an ungefärbten Präparaten in solcher Schönheit und Vollendung darzustellen, wie sie auch durch komplizierte Färbemethoden nicht erkennbar werden (s. Farbtafel 1, Abb. b).

Lichtwellen schwingen senkrecht zur Ausbreitungsrichtung in allen Richtungen des Raumes, also in allen Transversalebene. Polarisiertes Licht schwingt jedoch nur in einer einzigen Ebene. Zum Polarisieren der durch das Mikroskop gehenden Lichtstrahlen werden Polarisationsfilter verwendet, die aus einer zwischen zwei Glasplatten

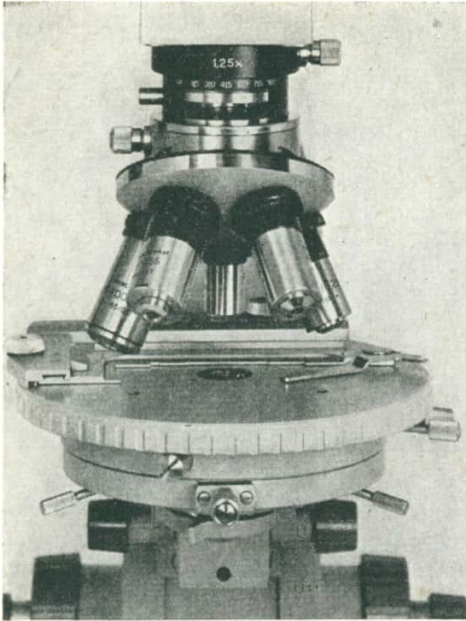


Abb. 60/1 Polarisationseinrichtung des VEB Carl Zeiss JENA am Mikroskop ERGAVAL

verkitteten Schicht parallelgerichteter doppeltbrechender Kristalle (meist Jodverbindungen) bestehen. Polarisationsfilter beeinträchtigen die Größe des Sehfeldes nicht.

Ein solches Filter besitzt eine Markierung, die anzeigt, in welcher Ebene das durchgelassene Licht schwingt. Senkrecht zur Schwingungsebene liegt die sogenannte Polarisationssebene. Zur vollständigen Polarisationsausrüstung gehören zwei Polarisationsfilter, der Polarisator und der Analysator. Der Polarisator wird in den Farbglasshalter gelegt, der Analysator wird auf das Okular aufgesteckt. Zur Verstärkung der Kontraste wird außerdem oft ein Kompensatorplättchen zwischen Okular und Analysator eingeschoben. Abb. 60/1 zeigt eine moderne Polarisationseinrichtung. Bei vielen biologischen Untersuchungen müssen die Schwingungsebenen der beiden Filter senkrecht zueinander stehen. In dieser Stellung kommen die Polarisationserscheinungen auf dunklem Grund am besten zur

Geltung. Bei optimaler Verdunklung des Sehfeldes stehen die Schwingungsebenen senkrecht zueinander.

Für Untersuchungen im polarisierten Licht wird eine starke Mikroskopierleuchte benötigt. Auf die Einzelheiten der polarisierenden Wirkung der Untersuchungsobjekte kann in diesem Zusammenhang nicht eingegangen werden.

Da sich die Anwendung des Polarisationsmikroskops vor allem auf die Mineralogie und die Gesteinsforschung beschränkt, ist die Meinung verbreitet, daß das Untersuchungsobjekt immer ein Kristall sein müsse. Diese Ansicht ist im Prinzip richtig. Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß als Kristall jeder Körper gelten kann, dessen feinste Bauelemente regelmäßig angeordnet liegen, der also einen dreidimensional-periodischen Bau aufweist. Es kommt dabei nicht allein auf die äußere Form (Kristallform), sondern vor allem auf den inneren Bau an. Viele Teile pflanzlicher oder tierischer Organismen haben einen kristallartig regelmäßigen Feinbau. Werden zum Beispiel alkoholfixierte Gliedertiere in polarisiertem Licht untersucht, so zeigen die Muskelfasern und Muskelbündel selbst durch dicke Chitinlagen hindurch leuchtend hell ihre Querstreifen, ein Zeichen für die regelmäßige Anordnung verschiedener Strukturen (s. Abb. 61/1).

Zur Demonstration polarisationsoptischer Vorgänge eignen sich weiterhin Plastiden, Bastfasern, Schnitte durch Pflanzengewebe, jeglicher Art von pflanzlichen und tierischen Haaren, Knochenschliffe, Knorpel, Sehnen und quergestreifte Muskeln. Die am häufigsten herangezogenen Demonstrationsobjekte sind Stärkekörner. Das Stärkekorn der Kartoffel läßt zum Beispiel vier helle, durch ein schwarzes Kreuz voneinandergetrennte Sektoren erkennen. An diesem für Stärke typischen Kreuz können Einschlüsse von Spei-

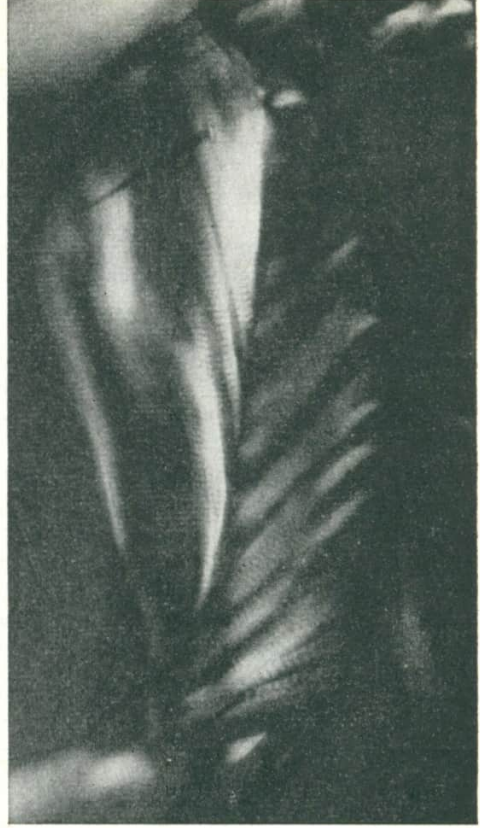


Abb. 61/1 Ungefärbter Oberschenkel des Rattenllohs (*Nosopsyllus fasciatus*) links in unpolarisiertem, rechts in polarisiertem Licht. Im polarisierten Licht tritt unter gekreuzten Filtern die Querstreifung der Muskeln deutlich hervor (84 : 1/250 : 1)

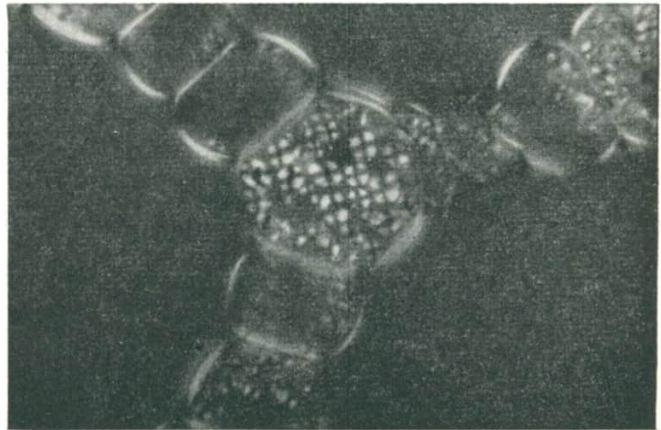


Abb. 61/2 Schwimmendes Laichkraut (*Potamogeton natans*); Speicherstärke im Sproß in polarisiertem Licht (140 : 1/350 : 1)

cherstärke in pflanzlichen Geweben mit Sicherheit nachgewiesen werden (s. Abb. 61/2). Untersuchungen mit polarisiertem Licht sollten im fakultativen Unterricht der erweiterten Oberschulen durchgeführt werden, weil ohne umfangreiche Präparationen oder Färbungen wichtige Beobachtungen (z. B. Stärkenachweis) möglich sind.

### *Phasenkontrastmikroskopie*

Mikroskopische Untersuchungen sollen kleinste Objekte und deren Strukturen möglichst objektrett sichtbar machen. Bei Untersuchungen im Hellfeld-Durchlicht nimmt das menschliche Auge fast nur Objekte wahr, die durch ihre Färbung Licht absorbieren. Diese Färbungen schwächen die Intensität des durchfallenden Lichts in unterschiedlich starkem Maße. Durch diese Absorptionsunterschiede entstehen Kontraste, die für das menschliche Auge sichtbar sind. Farbige Objekte verändern die Amplitude des durchfallenden Lichts, man nennt sie **Amplitudenobjekte**.

Im natürlichen, unveränderten Zustand bestehen sehr viele biologische Objekte aber nicht aus einem Nebeneinander gefärbter und daher mehr oder weniger lichtundurchlässiger und lichtdurchlässiger Einzelheiten, sondern aus lichtdurchlässigen Stellen wechselnder Dicke oder verschiedener optischer Dichte (verschiedener Brechungsindizes). Solche Objekte ändern die Amplitude des durchfallenden Lichts nicht, sie verschieben nur die Phasen der Lichtwellen und heißen deshalb **Phasenobjekte**. Phasenunterschiede kann das Auge im gewöhnlichen Hellfeld-Durchlicht bei vorschriftsmäßiger Lichtführung nicht oder nur sehr schlecht wahrnehmen.

Amplitudenobjekte	Phasenobjekte
<p>Objekte mit natürlichen Strukturfarben (Schillerfarben; z. B. Schmetterlingsschuppen)</p> <p>Objekte mit natürlichen Pigmentfarben (z. B. Melanine in der Kutikula der Insekten, natürliche Farbstoffe in Chromoplasten, Chloroplasten, Zellsaft usw.)</p> <p>fixierte und künstlich gefärbte Organismen, histologische Schnitte, Zupf-, Quetsch- und Ausstrichpräparate</p> <p>Objekte mit erheblichen Unterschieden in der Brechungszahl (z. B. Kieselalgen-Streupräparate in Luft)</p>	<p>Lebende Zellen und farblose Zellstrukturen (z. B. Protozoen, Bakterien, niedere Pilze, Spermien, Leukozyten u. a. Blutzellen, Zellkerne, Chromosomen, Teilungsspindeln, Zellteilungsfiguren)</p> <p>ungefärbte Quetsch- und Zupfpräparate von Geweben</p> <p>Gewebekulturen (Explantate)</p> <p>unfixierte und ungefärbte Gefrierschnitte (z. B. für Krebs-Schnelldiagnosen)</p> <p>ungefärbte Knochen- und Zahnschliffe</p> <p>farblose Stoffasern</p>

Selbstverständlich kommen reine Amplituden- und reine Phasenobjekte in der Praxis kaum vor. Eine lebende Algenzelle zum Beispiel ist gleichzeitig Amplituden- und Phasenobjekt. Um Phasenobjekte und Phasenstrukturen durch Kontraststeigerung besser sichtbar zu machen, gibt es verschiedene Möglichkeiten:

- Anwendung schiefer Hellfeld-Durchlicht-Beleuchtung bis zur Reliefbeleuchtung (s. S. 47). Durch den Azimuteffekt können jedoch Objektstrukturen vorgetäuscht werden, die in Wirklichkeit nicht so stark oder gar nicht vorhanden sind. Grenzen von Objekten und Strukturen werden besser sichtbar, feine Phasenstrukturen bleiben unsichtbar.

- Anwendung optischer Kontrastfarbenbeleuchtung (s. S. 54). Außenstrukturen und Form von Phasenobjekten werden deutlicher sichtbar, feine Phasenstrukturen bleiben unsichtbar.

- Verringerung der Apertur der beleuchtenden Strahlen durch Zuziehen der Aperturblende. Dabei muß eine erhebliche Verringerung des Auflösungsvermögens und damit der Bildqualität, eine Abnahme der Bildhelligkeit und die Entstehung störender Interferenzerscheinungen (s. Abb. 43/1) in Kauf genommen werden.

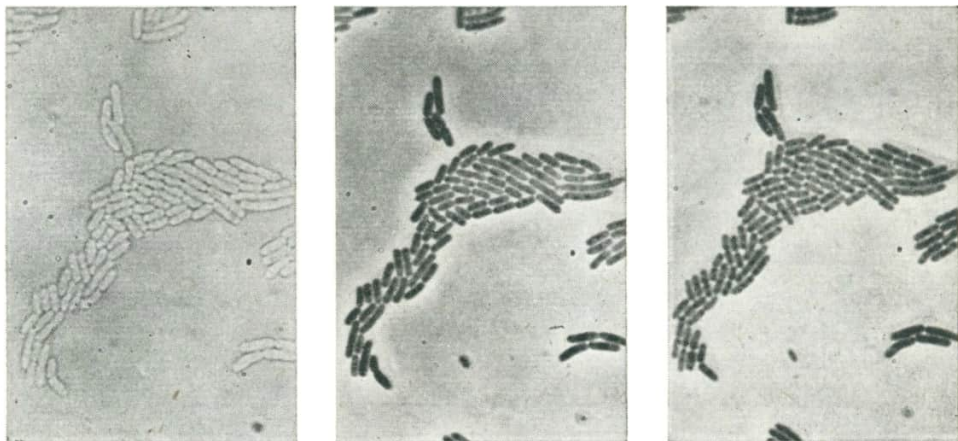
- Änderung der optimalen Scharfeinstellung des Kondensors (zu hohe oder zu tiefe Einstellung - unscharfe Abbildung der Leuchtfeldblende im Präparat). Einer nur geringen Kontraststeigerung steht eine erhebliche Einbuße an Bildqualität gegenüber.

- Anwendung von Dunkelfeldbeleuchtung (s. S. 50). Sie ergibt einerseits ganz erhebliche Kontraststeigerungen, andererseits werden nur die Umrisse der Objekte gut sichtbar. Feine Objektstrukturen (z. B. im Inneren von Zellen) werden nicht erkennbar. Störende Überstrahlungen sind kaum zu vermeiden und mindern zusätzlich die Qualität der Wiedergabe von Feinstrukturen.

- Um Phasenobjekte und -strukturen sichtbar zu machen, wird am häufigsten zu der Möglichkeit gegriffen, Phasenobjekte durch künstliche Färbung (s. S. 118ff.) in Amplitudenobjekte umzuwandeln (Erzeugung von Unterschieden im Absorptionsvermögen der Objekte und Objektstrukturen gegenüber ihrer Umgebung). Dabei können durch Töten, Fixieren und Färben unkontrollierbare Veränderungen der Objekte eintreten.

Das Phasenkontrastverfahren ist nicht mit den Nachteilen der vorstehend genannten Methoden zur Kontraststeigerung behaftet. Die Theorie des Phasenkontrastverfahrens baut auf der Abbeschen Theorie der Bildentstehung im Mikroskop auf.

Abb. 63/1 Paratyphusbakterien (*Proteus mirabilis*) links im Hellfeld, in der Mitte im normalen Phasenkontrast, rechts im strengen Phasenkontrast





Um Phasenänderungen der Lichtwellen sichtbar zu machen, die durch ungefärbte Objekte und Objektstrukturen hervorgerufen werden, wird zwischen den obersten Linsen eines Phasenkontrastobjektivs eine ringförmige, graue, phasenverschiebende Schicht angebracht (Phasenplättchen). Dadurch wird eine Phasenverschiebung der höheren Beugungsmaxima (s. S. 19) gegenüber dem 0. Beugungsmaximum erreicht. Diese Phasenverschiebung der Lichtwellen ist bei einem Winkel von  $90^\circ$  besonders wirksam. Sichtbar wird diese Phasenänderung aber erst dann, wenn auch im Kondensator eine der Apertur des verwendeten Objektivs entsprechende ringförmige und genau zentrierbare Kondensorblinde liegt. Um das Bild der Kondensorblinde genau mit dem Bild der phasenändernden Schicht im Objektiv zur Deckung bringen zu können, wird mittels eines an Stelle eines Okulars in den Tubus gesteckten Hilfsmikroskops die hintere Öffnung des Objektivs betrachtet und durch Zentrierschrauben am Kondensator die Zentrierung vorgenommen. Durch die Phasenverschiebung der Lichtwellen entsteht nach genauer Zentrierung im Präparatbild ein Helligkeitskontrast an den Objektstrukturen, die sich von ihrer Umgebung nur durch die sonst unsichtbaren Unterschiede in Dicke und Dichte abheben (s. Abb. 63/1).

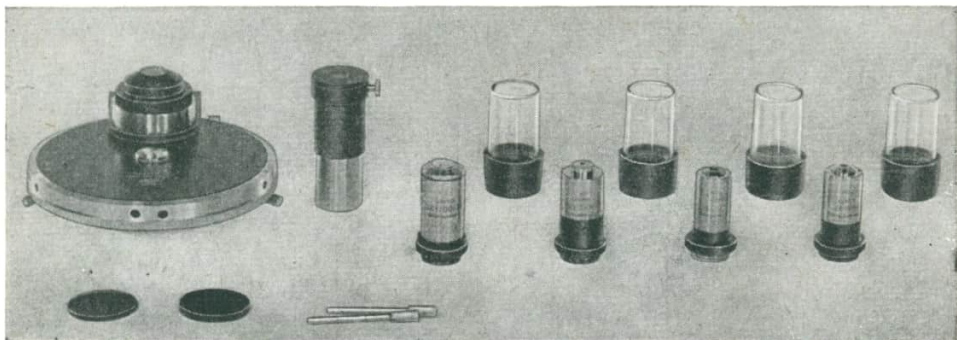
Durch verschiedenartige Gestaltung des Phasenplättchens im Objektiv kann erreicht werden, daß die optisch dichteren oder räumlich dickeren Präparatstrukturen entweder heller oder dunkler als ihre Umgebung erscheinen.

Im Normalfall ist das Phasenplättchen im Objektiv mit einem phasenverzögernden Ring (Verzögerung im allgemeinen  $\frac{1}{4} \lambda$ ) versehen, der mit dem in der Brennebene des Objektivs abgebildeten Bild der passenden Kondensoringblende zur Deckung gebracht wird. Die Objektstrukturen erscheinen – ähnlich wie im Dunkelfeld – heller als ihre Umgebung, es entsteht **negativer Phasenkontrast**.

Wird jedoch die phasenverzögernde Schicht so auf das Phasenplättchen im Objektiv aufgetragen, daß der Bereich des Abbildes der Kondensoringblende frei bleibt, dafür aber die sonstige Fläche der Objektivhinterlinse phasenverzögernde Wirkung hat, so erscheinen die Objektstrukturen – ähnlich dem Hellfeld – dunkler als ihre Umgebung; es entsteht **positiver Phasenkontrast**.

Auf Grund besonderer physikalischer Bedingungen entstehen im Phasenkontrastbild leicht Strukturen, die im Objekt selbst nicht vorhanden sind und als helle Höfe um das Phasenobjekt und um Phasenstrukturen sowie als Aufhellungen unterschiedlicher Stärke im Inneren auffallen. Einrichtungen für **variablen Phasenkontrast** (s. Abb. 64/1)

Abb. 64/1 Einrichtung für variablen Phasenkontrast des VEB Carl Zeiss JENA mit Phasenkondensator, Hilfsmikroskop, strengem Grünfilter und Phv-Objektiven (für Ergaval)



arbeiten mit zwei unterschiedlich breiten Phasenringen, die eine optimale Kontraststeigerung sowie eine Anpassung an die Besonderheiten des Objekts gestatten.

Um auch bei optimaler Kontraststeigerung letzte Feinheiten von Phasenstrukturen deutlich sichtbar zu machen, wird zur Beobachtung nur ein beschränkter Spektralbereich verwendet (Gelb-Grün-Filter).

Phasenkondensoren werden so konstruiert, daß ein schneller Übergang von Phasenkontrastbeobachtung zu normaler Hellfeldbeobachtung bzw. bei Forschungsmikroskopen auch zu Dunkelfeldbeobachtungen möglich ist. Das ermöglicht, durch Vergleiche zu umfassenden Beobachtungsergebnissen zu kommen.

Auch gefärbte Objekte (z. B. histologische Schnitte) werden im Phasenkontrast wesentlich kontrastreicher dargestellt als im normalen Hellfeld.

Beim Phasenkontrastverfahren können Mikrofotos hergestellt werden. Bei Benutzung achromatischer Phasenobjektive sollte allerdings ein strenges Grünfilter in den Strahlengang gebracht werden, um Farbstofffehler weitgehend zu unterdrücken. Es sind sehr lange Belichtungszeiten erforderlich (Lichtmessung, Probeaufnahmen).

Das Phasenkontrastverfahren hat einige Nachteile, die seiner Anwendung im Unterricht der allgemeinbildenden Schule enge Grenzen setzen:

1. Phasenkontrasteinrichtungen sind teuer und nur an großen – ebenfalls teuren – Stativen zu verwenden.

2. Es ist eine vollausgebaute Mikroskopierleuchte erforderlich, die die exakte Einhaltung des Köhlerschen Beleuchtungsprinzips ermöglicht.

3. Die optimale Einstellung des Mikroskops ist schwieriger als bei normaler Hellfeld-Durchlicht-Beleuchtung.

4. Die Phasenblende im Kondensator mindert die Beleuchtungsapertur und senkt damit das Auflösungsvermögen des verwendeten Objektivs.

5. Die richtige Deutung von Phasenkontrastbildern setzt umfangreiche Erfahrungen in der Hellfeld- und Dunkelfeldmikroskopie voraus.

6. Phasenkontrastbilder sind einfarbig; das Signal „Farbe“ fehlt besonders unerfahrenen Beobachtern sehr (es fehlt nicht an Bestrebungen, farbigen Phasenkontrast zu ermöglichen, z. B. durch Kombinationen des Phasenkontrastverfahrens mit der optischen Kontrastfarbenbeleuchtung).

7. Auf Grund physikalischer Bedingungen entstehen helle Lichthöfe und -säume um das Untersuchungsobjekt sowie Aufhellungen im Inneren, die zu Täuschungen Anlaß geben können.

8. Es können nur dünne Objekte bis zu etwa  $10\ \mu\text{m}$  Dicke untersucht werden. Bei dickeren Objekten sind Brechungs- und Reflexionsvorgänge so stark, daß der Phasenkontrast ganz oder teilweise aufgehoben wird.

9. Kugelige, ellipsoidische, walzenförmige und linsenförmige Objekte (z. B. viele Protisten) verhindern die Entstehung eines reinen Phasenbildes mit gutem Kontrast, da sie selbst wie Linsen wirken und dadurch eine optimale Abbildung der Kondensoringblende in der Brennebene des Objektivs stören.

### *Fluoreszenzmikroskopie*

Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungsmethoden werden in zunehmendem Maße in allen Bereichen mikroskopischer Arbeit angewendet.

Die Fluoreszenzmikroskopie nutzt die Erscheinung, daß zahlreiche Stoffe bei Be-

strahlung mit sichtbarem blauen Licht eines bestimmten engen Spektralbereichs oder bei Bestrahlung mit ultraviolettem Licht fluoreszieren. Dabei erregen die kurzwelligen Beleuchtungsstrahlen beim Auftreffen auf das Untersuchungsobjekt Strahlen größerer Wellenlänge, die als vielfarbiges Fluoreszenzlicht das eigentliche mikroskopische Bild erzeugen.

Es gibt Stoffe, die von Natur aus fluoreszieren (Eigenfluoreszenz). Untersuchungsobjekte, die keine Eigenfluoreszenz haben, werden durch Anfärben mit einem fluoreszierenden Farbstoff (Fluorochrome für Vitalfärbung oder Schnittfärbung; s. S. 129) für die Untersuchung vorbereitet. Man spricht dann von Sekundärfluoreszenz.

Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen können im Hellfeld und im Dunkelfeld, mit Auflicht und Durchlicht durchgeführt werden. Die Untersuchungsobjekte sieht man jedoch in jedem Fall in verschiedenen Farben leuchtend im dunklen Gesichtsfeld, da nur das beim Auftreffen des Erregerlichts auf die Präparatstrukturen entstehende langwellige Licht am Bildaufbau teilnimmt.

Da die zu erreichende Lichtintensität auch bei sehr guten Erregerlichtquellen relativ gering ist, wird im verdunkelten Raum und erst nach entsprechender Adaptation des Auges gearbeitet.

Die Herstellung von Mikrofotos ist auf Grund der geringen Lichtintensität schwierig. Zur bestmöglichen Lichtausnutzung werden kleine Negativformate (am besten nur Kleinbildformat  $24 \times 36$ ) und hochempfindliche Schwarzweiß- bzw. Farbfilme verwendet. ORWOCHROM UT 18 oder UT 21 werden ohne zusätzliche Tageslichtfilter benutzt. Für Schwarzweiß-Aufnahmen genügt meist der ORWO NP 20, der auf Grund seines noch feinen Kornes dem etwa 4fach empfindlicheren ORWO NP 27 vorzuziehen ist. Notfalls werden die Filme durch Langzeitentwicklung zu einem sehr hohen Gammawert entwickelt.

Der zusätzliche apparative Aufwand für die Fluoreszenzmikroskopie ist – zumindest für einfachere Untersuchungen – relativ gering. Es kann mit normalen Stativen, achromatischen Objektiven (Achromate haben oft Eigenfluoreszenz!) und normalen Okularen gearbeitet werden.

Zusätzlich werden Blaufilter (Schottfilter BG 3) oder ultraviolettdurchlässige Schwarzfilter (Schottfilter UG 1 oder UG 2) benötigt. Als Rotsperfilter wird das Schottfilter BG 23 benutzt. Diese Filter bzw. Filtersätze lassen nur das wirksame Fluoreszenz-Erregerlicht durch. Da kein blaues oder ultraviolettes Erregerlicht in das Auge des Beobachters gelangen darf (Schädigungen!), wird über dem Okular ein aus einer Gelb- oder Orangescheibe bestehendes und für Blau, Violett und Ultraviolett undurchlässiges Okularsperrfilter angebracht, das nur das sichtbare Fluoreszenzlicht durchläßt. Diese Maßnahme verhindert außerdem die Eigenfluoreszenz des Glaskörpers im Auge des Beobachters. Okularsperrfilter sind auch für die Herstellung von Mikrofotos notwendig, da sonst die Aufnahmen völlig verschleiern. Als Okularsperrfilter eignen sich bei Blaulichterregung die Schottfilter GG 9 und OG 1, bei UV-Erregung das Schottfilter GG 9. Bei Dunkelfeldbeleuchtung ist kein Okularsperrfilter erforderlich, da bekanntlich nur das am Objekt gestreute Licht ins Auge fällt und das Sehfeld sowieso dunkel ist.

Besondere Ansprüche müssen allerdings an die Mikroskopierleuchte als Erregerlichtquelle gestellt werden.

Das Licht einer normalen Mikroskopierleuchte, die streng nach den Regeln der Köhlerschen Beleuchtungsanordnung benutzt wird, genügt nur für einfache Untersuchungen. Es ist zu beachten, daß bei allen fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen – auch bei besten Erregerlichtquellen – die Aperturblende des Kondensors voll ge-

öffnet wird, da sonst der Fluoreszenzeffekt zu gering ist. Die mit einfachen Mikroskopierleuchten zu erzielende Intensität der Fluoreszenz erreicht höchstens  $\frac{1}{10}$  bis  $\frac{1}{20}$  derjenigen, die mit speziellen Erregerlichtquellen erzielt werden kann. Es kann nur im Hellfeld-Durchlicht beobachtet werden, mikrofotografische Arbeiten sind nicht durchführbar. Für eingehende fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen sind Quecksilber-Höchstdrucklampen in Spezialleuchten die leistungsfähigsten und wirtschaftlichsten Strahlungsquellen. Sie erzeugen – je nach den verwendeten Sperrfiltern – langwelliges Ultraviolett, Blauviolett oder ultraviolettrees Blau als Erregerlicht.

Die Scharfeinstellung erfolgt im normalen Hellfeld-Durchlicht nach zeitweiser Entfernung der Erregungslichtfilter. Das Okularsperrfilter bleibt im Strahlengang zum Schutz der Augen vor dem hellen UV-Licht (evtl. Neutralglas zur Dämpfung der Lichtintensität in den Strahlengang bringen!).

Mit der wachsenden Bedeutung der physiologischen Untersuchungsmethoden gewinnt die Fluoreszenzmikroskopie zunehmend an Bedeutung. Da einerseits viele biologische Objekte typische Eigenfluoreszenz haben (z. B. Knorpel, elastische Fasern, Horn, Haare, Zähne, Pigmente, Chlorophyll, Holz), andererseits Fluorochrome in entsprechenden Verdünnungen und bei kurzer Einwirkungszeit fast ungiftig sind, können vor allem physiologische Versuche an lebendem oder überlebendem Material durchgeführt werden. In der biologischen Forschung wird die Fluoreszenzmikroskopie vor allen Dingen für bakteriologische, virologische und pflanzenphysiologische Untersuchungen, für Intravitaluntersuchungen lebender Mikroorganismen nach Injektion von Fluorochromen (Stoffaufnahme, Stofftransport, Speicherung und Ausscheidung der Stoffe), für die Untersuchung ungefärbter histologischer Schnitte, für Untersuchungen zur Lokalisierung von Vitaminen und bestimmten Stoffwechselprodukten im Organismus genutzt.

Für mikroskopische Arbeiten an allgemeinbildenden Schulen kommt diese Untersuchungsmethode nicht in Frage. Schüler der Abiturstufe können im fakultativen Unterricht mit den Grundprinzipien und einfachen Untersuchungen vertraut gemacht werden. Für Lehrer und interessierte Naturfreunde bietet diese moderne Methode ein weites Feld interessanter Arbeitsmöglichkeiten.

### *Mikroskopisches Messen*

Durch Multiplizieren von Okular- und Objektivvergrößerung kann festgestellt werden, wie stark ein mikroskopisches Objekt vergrößert wird (s. S. 23). Die Vergrößerung sagt jedoch nichts über die wahre Größe des Objekts aus. Durch mikroskopisches Messen können die tatsächlichen Größenverhältnisse ermittelt werden.

Für die Längenmessung werden meist Okularmikrometer, für Präzisionsmessungen Okularschraubenmikrometer, verwendet. Das Okularmikrometer ist mit einer Teilung versehen. Meist wird eine Teilung von 5 : 50 (eine Strecke von 5 mm in 50 Teile geteilt) verwendet, es gibt jedoch auch andere Teilungen.

Das Okularmikrometer wird mit der Teilung nach unten auf die Blende (Ort der Zwischenbildebene) des Meßokulars gelegt. Nach Einführen des Meßokulars in die Okularschiebehülse des Mikroskops wird mit der Augenlinse scharf auf die Teilung eingestellt. Da in der Zwischenbildebene in dem vom Objektiv entworfenen reellen Zwischenbild (s. S. 32) gemessen wird, das einen von der Objektivvergrößerung abhängigen Maßstab aufweist, muß die Teilung des Okularmikrometers für jedes Objektiv

gesondert geeicht werden. Das geschieht mit Hilfe eines Objektmikrometers, das zur Eichung wie ein Präparat auf den Objektstisch aufgelegt wird. Das Objektmikrometer besitzt ebenfalls eine Teilung, am gebräuchlichsten ist die Teilung 1 : 100 (eine Strecke von 1 mm in 100 Teile geteilt). Die Eichung der Teilung des Okularmikrometers mit der Teilung des Objektmikrometers wird als Mikrometerwertbestimmung bezeichnet. Es ist vorteilhaft, die Mikrometerwertbestimmung für alle zum Messen verwendeten Objektive nacheinander vorzunehmen und für jedes Objektiv die ermittelten Mikrometerwerte zu notieren. Da sich Veränderungen der Tubuslänge ebenfalls auf den Maßstab des Zwischenbildes auswirken, müssen Mikrometerwertbestimmung und Messen mit derselben Tubuslänge erfolgen. Die Bestimmung des Mikrometerwerts geschieht folgendermaßen:

1. Scharfstellen auf die Teilung des Okularmikrometers durch Verstellen der Augenlinse des Meßokulars.

2. Scharfstellen auf die Teilung des Objektmikrometers durch Drehen am Triebknopf (beide Teilungen müssen gleichzeitig scharf zu sehen sein).

3. Verschieben des Objektmikrometers, bis ein Teilstrich dem 0-Strich des Okularmikrometers genau gegenübersteht.

4. Zählen, wieviel Objektmikrometerintervalle auf die Teilung des Okularmikrometers entfallen.

5. Bestimmen des Mikrometerwerts durch Dividieren der gezählten Objektmikrometerintervalle durch die entsprechende Anzahl der Okularmikrometerintervalle und anschließendes Multiplizieren mit der Größe eines Objektmikrometerintervalls.

Wird beispielsweise ein Objektmikrometer mit einer Teilung von 1 : 100 (1 Intervall = 0,01 mm) verwendet und es entfallen 10 Intervalle auf 5 Intervalle des Okularmikrometers, dann beträgt der Mikrometerwert =  $10/5 \cdot 0,01 \text{ mm} = 0,02 \text{ mm}$  oder 20  $\mu\text{m}$ . Das bedeutet, daß bei der verwendeten Objektiv-Okular-Kombination 1 Okularmikrometerintervall einer Länge von 20  $\mu\text{m}$  entspricht.

Mißt beispielsweise ein zu messendes Objekt 3 Okularmikrometerintervalle, dann beträgt seine Länge 60  $\mu\text{m}$ . Um Ablesefehler zu vermindern, wird dasselbe Objekt mehrmals gemessen und aus den Werten der Mittelwert gebildet.

Die Anwendung anderer Meßverfahren (z. B. Längenmessung mit Schraubenmikrometer, Dickenmessung mit Hilfe der Trommelteilung des Feintriebs) ist für Schulzwecke nicht erforderlich oder auf Grund der apparativen Ausstattung nicht möglich. Besonders Interessierte können sich in der Fachliteratur oder den entsprechenden Druckschriften der feinmechanisch-optischen Industrie informieren.

## Mikroskopisches Sehen

Mit dem technisch richtigen Einstellen des Mikroskops ist der Erfolg der Beobachtung noch keineswegs gesichert. Wer im Mikroskopieren geübt ist, erkennt Dinge, die der Ungeübte mit dem besten Mikroskop nicht entdeckt.

Zunächst sollte man sich daran gewöhnen, mit dem linken Auge zu beobachten. Das rechte Auge wird zum Zeichnen und zur Beaufsichtigung verschiedener Hilfsarbeiten benötigt (s. Abb. 69/1). Grundsätzlich bleiben beide Augen beim Mikroskopieren geöffnet. Das Mikroskopieren mit zwei offenen Augen ist aus gesundheitlichen Rücksichten not-

wendig: Wer ein Auge schließt, beansprucht das andere um ein Vielfaches mehr als unter normalen Umständen.

Die Ermüdung des Auges äußert sich häufig im sogenannten „Mückensehen“. Man versteht darunter die Erscheinung, daß nach längerem angestrengtem Arbeiten unscharf begrenzte, schleierähnliche Körner und Fäden langsam das Gesichtsfeld durchwandern. Bei jedem Lidauflschlag bewegen sich diese „Mücken“ mit; sie lassen sich durch Augenauswischen vorübergehend beseitigen. Diese sehr störende Erscheinung wird durch Sekrete der Lidinnenflächen und der Schleimdrüsen der Bindehaut hervorgerufen, die bei Ermüdung und Reizung in Tätigkeit treten. Das Zukneifen des freien Auges beim Beobachten führt weiterhin dazu, daß das geschlossene Auge dunkel adaptiert und akkommodiert. Beides führt zu vorzeitiger Ermüdung, zu Kopf- und Augenschmerzen. Beim Arbeiten mit zwei geöffneten Augen läßt sich die verschiedene Adaptation und Akkommodation der Augen viel leichter vermeiden.

Brillenträger mikroskopieren im allgemeinen ohne Brille, da sonst das Auge dem Okular nicht genug genähert werden kann, um das ganze Sehfeld überblicken zu können. Lediglich beim Zeichnen wird sich der Brillenträger seiner Gläser bedienen müssen, um Präparat und Zeichenfläche gleichzeitig scharf zu sehen.

Das mikroskopische Sehen fällt wesentlich schwerer als die Betrachtung eines Bildes. Bilder besitzen nur eine Ebene, während jedes mikroskopisch zu untersuchende Objekt eine gewisse Dicke aufweist, sich also optisch in viele Ebenen zerlegen läßt. Auf Grund ihrer geringen Tiefenschärfe bilden mikroskopische Objektive jeweils nur eine Schärfenebene scharf ab. Das klarste Bild entsteht bei Einstellung auf die Oberfläche des Objekts (s. Abb. 73/1). Um einen Gesamteindruck zu erhalten, muß das Präparat in allen Ebenen abgetastet werden.

Die Tiefenschärfe der Objektive nimmt mit zunehmender Vergrößerung sehr stark ab, so daß starke Vergrößerungen immer ein Anschauen mehrerer Bildebenen notwendig machen. Das ist ein weiterer Grund dafür, im Unterricht mit möglichst schwachen Objektiven zu arbeiten, da den Schülern die notwendige Synthese nacheinander gesehener Teilbilder zu einem Gesamtbild des untersuchten Objekts erfahrungsgemäß sehr schwerfällt. Mikroskopisch sehen heißt weiterhin, Wesentliches wahrnehmen und Unwesentliches, Zufälliges unbeachtet lassen. Das setzt die vergleichende Betrachtung mehrerer Präparate desselben Objekts voraus.

Das Charakteristische am mikroskopischen Sehen besteht also in der Fähigkeit, bei geringster Anstrengung der Augen nacheinander gesehener Teilbildern desselben Objekts das Wesentliche und Allgemeingültige in der richtigen Ordnung zu entnehmen und dieser Analyse die geistige Synthese der Teilwahrnehmungen zu einem Gesamtbild des untersuchten Objekts folgen zu lassen.



Abb. 69/1 Richtige Körperhaltung beim Beobachten und Zeichnen

## Darstellung des mikroskopischen Bildes

Mikroskopische Beobachtungen, die nicht in einer geeigneten Darstellungsmethode ausgewertet werden können, sind relativ wertlos. Die folgende Übersicht ist vor allem auf die Belange der Schule abgestimmt und dient nur einer ersten Orientierung.

### Darstellungsmöglichkeiten

verbale Beschreibung	Erläuterung oder Beschriftung zu einer bildlichen Darstellung
Mikrozeichnung – auf Papier, Karton o. ä. – auf Projektionsfolie	Skizze oder voll ausgeführte Zeichnung; objektgetreue Darstellung, halbschematische oder schematische Darstellung
Mikrofotografie – Papierbild – Diapositiv	Kleinbildformat für Diaprojektor oder Großformat für Polylux (Tageslicht-Projektor)
Mikroprojektion	Projektion mit Demonstrationsaufsatz für wenige Betrachter oder Großraumprojektion für Klassen und Hörsäle
Film – stumm – mit Kommentar	originale Objekte und Vorgänge, eventuell durch Zeichentrick ergänzt

Bei der Auswahl einer der genannten Darstellungsmethoden sind folgende Grundsätze zu beachten:

– Das Können und Wissen, die Erfahrung und innere Haltung des Darstellenden entscheiden in erster Linie über die Qualität der Darstellung, nicht der Umfang und die „Modernität“ des technisch-apparativen Aufwands.

– Das zu erreichende Ziel entscheidet über die Wahl der geeignetsten Methode. Es gibt keine generell zu bevorzugende Methode, da jede Methode Vorzüge und Nachteile hat.

– Die Qualität jeder Darstellung hängt stark vom Wissen des Darstellenden, seiner geistigen Auseinandersetzung mit dem Stoff, seiner Einarbeitung in Spezialgebiete und seinem Erfahrungsschatz ab.

– Die Qualität jeder Darstellung wird ganz erheblich durch die Qualität der ihr zugrunde liegenden mikroskopischen Präparate bestimmt.

– Entwicklungsbedingte phasentypische Besonderheiten bei Schülern und der erreichte Wissens- und Könnensstand bestimmen mit, welche Methode gewählt wird.

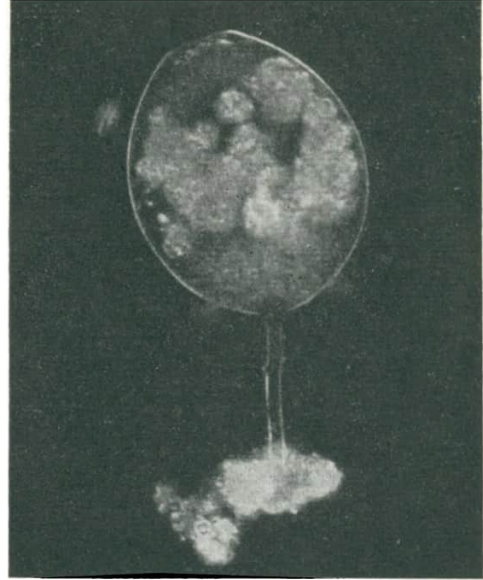
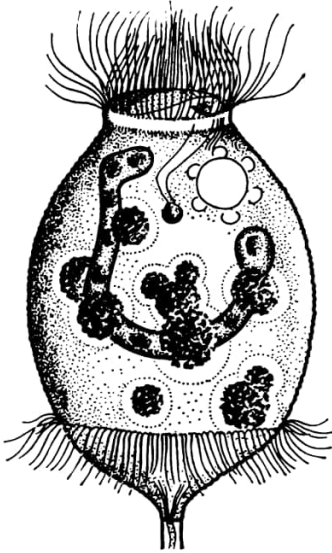


Abb. 71/1 Glockentierchen (*Vorticella* sp.), Ausbildung des kaudalen Wimperkranzes kurz vor der Ablösung vom Stiel; vitale Kernfärbung mit Neutralrot  
Links Zeichnung (viele Einzelheiten in einem Bild, keine dokumentarische Beweiskraft), rechts Dunkelfeldaufnahme (fehlende Einzelheiten, partielle Unschärfen, aber dokumentarische Beweiskraft)

- Fehlende oder unzureichende materiell-technische Voraussetzungen und Bedingungen können die Wahl der Methoden einengen.

- Geeignete Kombinationen zweier oder mehrerer Methoden haben optimalen Aussagewert. Mikrofotos oder Mikrozeichnungen sollten verbal erläutert – beschriftet – werden. Erst Kombinationen von Mikrofotos mit Mikrozeichnungen desselben Objekts ergeben einen hohen Grad der Information für Lehrbücher und wissenschaftliche Publikationen (s. Abb. 71/1, 73/1).

Für die Arbeit der allgemeinbildenden Schule im obligatorischen und fakultativen Unterricht, für die Arbeit des Biologielehrers und des mikroskopierenden Naturfreundes sind alle genannten Methoden wichtig. Mit Ausnahme des Films sind sie auch der selbsttätig-schöpferischen Arbeit zugänglich.

## Methoden der Darstellung des mikroskopischen Bildes

Sachlichkeit, Knappheit und Genauigkeit im Ausdruck sowie Konzentration auf das Wesentliche sind wichtige Kriterien für die Beschreibung.

Beschriftungen zu bildlichen Darstellungen sind Kurzformen der Beschreibung. Kombinationen von Beschreibung, Beschriftung und Bild sind besonders informativ.



Da Zeichnungen nach dem mikroskopischen Bild sowie Mikrofotos besonders häufig verwendet werden, informiert die folgende Übersicht über ihre Vorzüge und Nachteile.

### **Vorteile der Zeichnung**

- Erziehung zu intensiver Beobachtung des Objekts
- Übung und Festigung wesentlicher Fähigkeiten und Fertigkeiten während des Zeichnens
- Erziehung zu sauberer, gewissenhafter Arbeit
- hohe Gedächtniswirksamkeit
- alle Schüler können im obligatorischen Unterricht in die Anfangsgründe eingeführt werden
- gezeichnete Projektionsfolien können einem großen Kreis vorgeführt werden
- geringer apparativer Aufwand, Hilfsmittel relativ billig und schnell einsetzbar
- mehrere optische Ebenen eines Objekts können zu einer räumlichen Darstellung vereint werden
- Wesentliches kann hervorgehoben, Unwesentliches nur angedeutet, Zufälliges oder Atypisches weggelassen werden
- Zeichnungen können typisieren und abstrahieren (schematisieren)

### **Nachteile der Zeichnung**

- Gefahr der subjektiven Wiedergabe und Ausdeutung unvermeidbar, viele Fehlerquellen in bezug auf Form, Größe, Lagebeziehungen, Farbe usw.
- Zeichnungen sind keine objektiven Naturdokumente
- erheblicher Zeitaufwand auch für geübte Zeichner
- lebende Objekte bzw. solche mit schneller Formveränderlichkeit sowie Phasen aus schnell ablaufenden Vorgängen können nur unvollkommen wiedergegeben werden (Zeitfaktor!)
- es entstehen Unikate

### **Vorteile der Fotografie**

- Objektive Wiedergabe nach Form, Größe, Lagebeziehungen, Farbe usw.; Bereitstellung anerkannten Dokumentations- und Belegmaterials, bei dem subjektiv bedingte Fehlerquellen und Ausdeutungen weitgehend ausgeschlossen sind
- kurze Herstellungszeiten
- Möglichkeit, in kurzer Zeit viele Kopien zu ziehen
- Möglichkeit, schnell bewegliche, formveränderliche Objekte und Phasen aus Vorgängen objektiv wiederzugeben
- Erziehung zu exakter Arbeit
- Diapositive können einem großen Hörerkreis vorgeführt und erläutert werden
- Wiedergabe in natürlichen Farben möglich

### **Nachteile der Fotografie**

- Herstellung von Mikrofotos erzieht nicht zwingend zu intensiver Beobachtung und geistiger Auseinandersetzung mit dem Stoff
- es können nicht Beobachtungen an mehreren Präparaten generalisiert werden; Typisierung und Abstraktion sind nicht möglich

- Schüler können im obligatorischen Unterricht der allgemeinbildenden Schule nicht in Herstellungstechnik eingeführt werden
- apparativer Aufwand umfangreicher und teurer als bei Mikrozeichnung
- erhebliche Fehlerquellen im technischen Prozeß
- es wird nur eine Präparatebene scharf erfaßt, räumliches Darstellen mehrerer optischer Ebenen unmöglich oder unbefriedigend
- Wesentliches und Unwesentliches, Zufälliges (z. B. Verunreinigungen) und Atypisches werden gleichermaßen abgebildet (s. Abb. 73/1)
- beste Präparatqualität ist – besonders für Farbaufnahmen – Voraussetzung
- nicht von allen Präparaten können brauchbare Mikrofotos hergestellt werden (Dicke, Über- oder Unterfärbung, Unebenheiten, Beschädigungen)

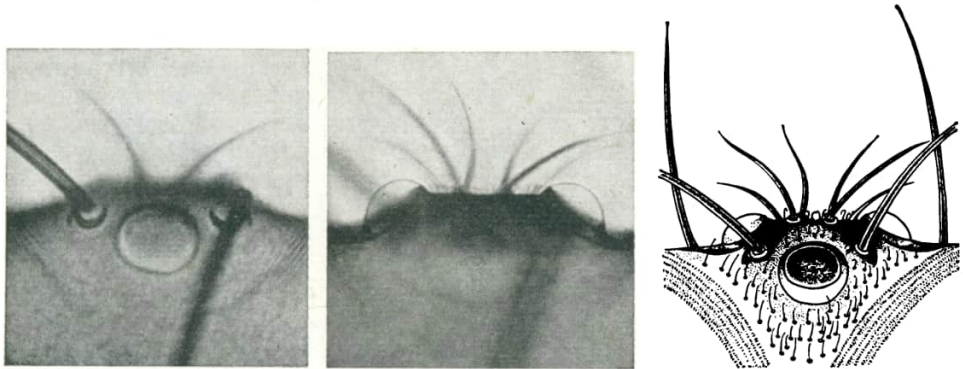
### Zeichnung nach dem mikroskopischen Bild

Das mikroskopische Zeichnen gehört zu den ältesten Darstellungsmethoden in der Mikroskopie. Es wird seit den Anfängen der Mikroskopie zur Informationsverarbeitung und -übermittlung eingesetzt.

Das mikroskopische Zeichnen ist auch heute noch ein wichtiger Teil der Arbeit mit dem Mikroskop. Nur wer mikroskopisch sehen gelernt hat, wird gute Mikrozeichnungen anfertigen können. Andererseits kann der Lehrer mit der vorliegenden Mikrozeichnung zuverlässig überprüfen, inwieweit der Schüler in der Lage ist, mikroskopisch zu sehen, wenn entsprechende Zeichenfertigkeiten vorhanden sind.

Besonders wichtig für die Zwecke der Mikroskopie ist eine intensive Schulung auf dem Gebiet der sachlich richtigen Wiedergabe eines Gegenstandes nach Form, Farbe, Größenverhältnissen und Gesamtzusammenhang. Die Zeichnung muß während der eigenen Beobachtung entstehen. Mikroskopische Sachverhalte dürfen keinesfalls aus dem Gedächtnis gezeichnet werden. Das Wesentliche der Mikrozeichnung als Ergebnis des mikroskopischen Sehens liegt darin, daß sie nacheinander beobachtete Teilbilder zu

Abb. 73/1 Taufliege (*Drosophila* sp.), Kopf mit drei Nebenaugen; links hohe Einstellung (mittleres Nebenauge scharf abgebildet), Mitte tiefe Einstellung (die tiefer liegenden zwei Nebenaugen scharf abgebildet), rechts die Mikrozeichnung gibt alle wesentlichen Details in einer Ebene scharf wieder (84 : 1/140 : 1)



einem vereinfachten Bild vereint, das nur das für den betreffenden Zweck Wichtige und Charakteristische unter Beachtung des Gesamtzusammenhangs in der richtigen Lage übersichtlich festhält (s. Abb. 71/1, 73/1).

### *Zeichenmittel*

Es gibt verschiedene Möglichkeiten des mikroskopischen Zeichnens. Am einfachsten ist es, mit dem linken Auge ins Mikroskop und mit dem rechten Auge auf das seitlich vom Instrument liegende Zeichenpapier zu blicken und so die Umrisse des beobachteten Objekts festzulegen. Bei dieser Methode, die vor allem bei der Anfertigung von Skizzen verwendet wird, können leicht grobe Fehler in bezug auf Lagebeziehungen und Größenverhältnisse unterlaufen. Die Raumaufteilung wird erleichtert, indem durch ein in der Blendenebene des Okulars anzubringendes Fadenkreuz das Sehfeld in vier gleiche Sektoren unterteilt wird. Nimmt man die gleiche Einteilung auch auf der Zeichenfläche vor, die zu diesem Zweck kreisförmig sein muß, so ergeben sich Anhaltspunkte für Größen- und Lagebeziehungen der Objekte. Noch bessere Dienste leisten quadratische Hilfsnetze auf Glasplättchen, die ebenfalls ins Okular eingelegt werden (z. B. Okularnetzmeßplatten vom VEB Carl Zeiss JENA).

Um eine möglichst hohe Objektivität der Wiedergabe zu erzielen, werden Zeichenhilfsgeräte verwendet, die entweder auf dem Projektionsprinzip beruhen oder mit Spiegeln und Prismen arbeiten.

Die ROW-Mikroprojektionseinrichtung (s. Abb. 14/2, 74/1) ist gleichzeitig ein gutes Zeichengerät für die maßstabgerechte Anfertigung von Mikrozeichnungen. Das Lampengehäuse mit aufgeschraubtem Mikroskop wird waagrecht gestellt, Okulartubus und Okular bleiben im Instrument. Das Bild des Präparats wird durch ein aufgestecktes Projektionsprisma auf das Zeichenpapier projiziert. Es muß im verdunkelten Raum gearbeitet werden. Ist ein scharfes Bild des Präparats in gewünschter Größe eingestellt,

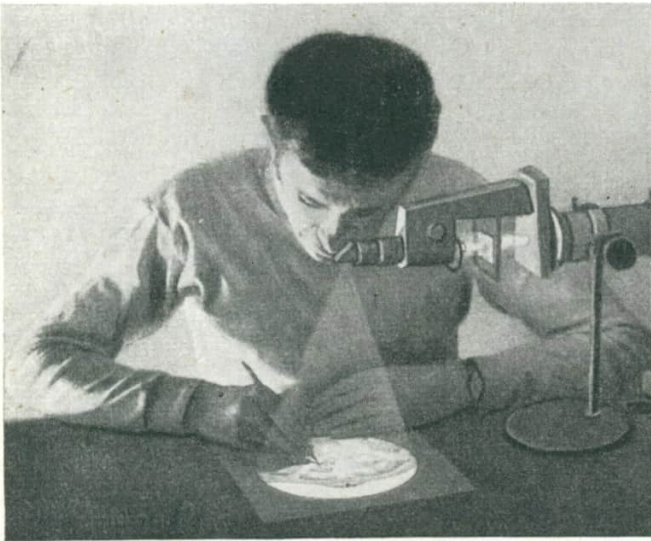


Abb. 74/1 Kleinmikroskop-Projektor des VEB Rathenower Optische Werke Rathenow als Zeichengerät

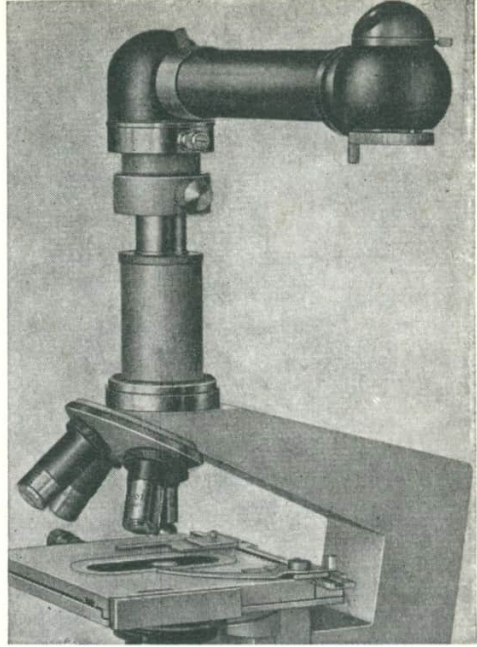
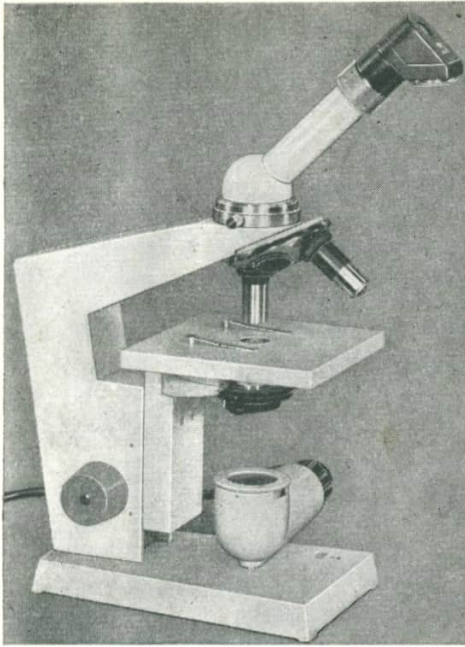


Abb. 75/1 Zeichenokular A8x (links) und Zeichentubus (rechts) des VEB Carl Zeiss JENA in Arbeitsstellung

kann mit der Nachzeichnung begonnen werden. Dabei liegt der Blick beider Augen unbehindert auf der Zeichenfläche. Es werden nur die Hauptumrißlinien des Objekts, also Größen- und Lageverhältnisse, festgelegt. Die Feinheiten werden bei normaler Beobachtung mittels des Mikroskops nachgetragen (s. Abb. 69/1).

Nach dem Projektionsprinzip arbeiten auch die Zeichenspiegel (z. B. Projektionszeichenspiegel vom VEB Carl Zeiss JENA). Sie werden auf das schräggestellte Mikroskop, besser aber auf Schrägtuben, aufgesetzt und entwerfen ein Bild des Präparats auf dem neben dem Mikroskop liegenden Zeichenblock. Sie lassen sich nur in Verbindung mit starken Lichtquellen im verdunkelten Raum benutzen und ermöglichen gute Ergebnisse. Das Streulicht freistehender Mikroskopierleuchten darf nicht auf die Zeichenfläche fallen.

**Zeichenokulare** und spezielle **Zeichentuben** (s. Abb. 75/1) wurden entwickelt, um das Zeichnen mit hoher Genauigkeit bei hellem Kunst- oder Tageslicht auf einer horizontalen Zeichenfläche zu ermöglichen. Im Prinzip ermöglichen diese Zeichengeräte durch Verwendung von Strahlenteilungswürfeln (Abbesche Würfel), Prismen und Lichtreglern (Polarisationsfilter), daß der Beobachtende Präparat, Zeichenfläche und Spitze des Bleistifts (durch Aufsteckspitzen mit reflektierendem Markierungspunkt besser sichtbar zu machen) gleichzeitig sieht. Ganz wesentlich ist die möglichst gleichmäßige Helligkeit von Präparat und Zeichenfläche. Brillenträger müssen Korrektionsgläser benutzen. Das Zeichnen mit Zeichenokularen und Zeichentuben strengt das beobachtende Auge sehr an. Zeichenokulare und -tuben sind wesentlich teurer als Zeichenspiegel.

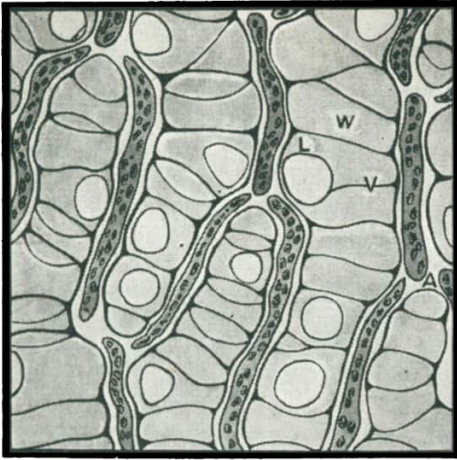


Abb. 76/1 Vollausgeführte Bleistiftzeichnung der Zellen aus dem Blatt eines Torfmooses (*Sphagnum* sp.). A chlorophyllhaltige Assimilationszellen, L Löcher für den Wassertransport, V Verdickungsleisten, W Wasserspeicherzellen

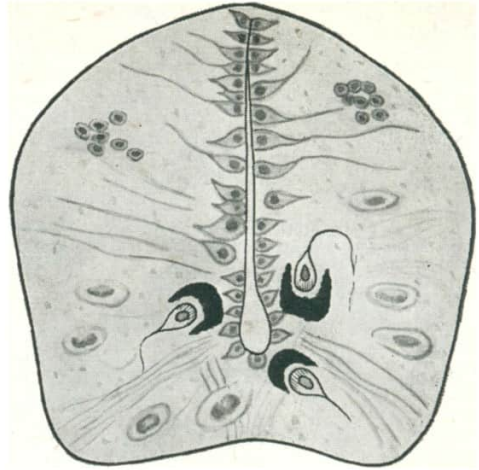


Abb. 76/2 Zeichnung mit unterschiedlich verdünnter Ausziehtusche; Lanzettierchen (*Branchiostoma lanceolatum*), Rückenmark im Querschnitt mit einzelligen Pigmentbecher-  
augen

Als Zeichenpapier für Skizzen, Bleistift- und Federzeichnungen eignet sich glatter, mittelstarker Karton, eventuell genügt auch festes, gut geleimtes und unliniertes Schreibpapier. Sollen die Zeichnungen farbig ausgeführt werden, so empfiehlt sich die Verwendung rein weißen, fein gekörnten Aquarellpapiers mindestens mittlerer Dicke. Für Schülerübungen genügen Schreibpapier bzw. der normale Zeichenblock. Das Zeichenpapier muß faserfrei, radier- und wasserfest sein!

Zum Zeichnen werden Bleistifte vorwiegend mittlerer Härte (etwa 2 H) benutzt. Sehr harte Stifte können zum Festlegen der groben Umrisse bzw. zum Einzeichnen allerfeinster Einzelheiten bei starken Vergrößerungen (z. B. Körnungen des Plasmas) verwendet werden. Zur endgültigen Ausführung einer Bleistiftzeichnung dienen weiche Stifte. Mit ihnen lassen sich flächige Darstellungen, Schattierungen und plastische Effekte gut herausarbeiten. Besonders gut gelingt das, wenn man mit den Fingerspitzen oder einem Lederläppchen die Bleistiftspuren etwas verwischt (s. Abb. 76/1). Helle Stellen lassen sich nachträglich leicht durch vorsichtiges Radieren mit einem dünnen Radiergummi herausheben. Diese Wischmethode eignet sich auch für die Darstellung der im einzelnen unwesentlichen, zur Herstellung von Lagebeziehungen aber anzudeutenden Umgebung wesentlicher Teile eines Präparats. Sämtliche Bleistifte sollen eine lange, feinausgezogene Spitze besitzen, die bei der Arbeit ständig nachzuspitzen ist.

Zum Kolorieren vollausgeführter Bleistiftzeichnungen sind Dünnkernfarbstifte solchen mit dicker, weicher Mine im allgemeinen vorzuziehen. Ölkreiden, Pastellkreiden, Fettfarbstifte sowie jegliche Art von Kopierstiften oder Kugelschreibern sind ungeeignet. Gut gespitzte Farbstifte sind das beste Farbgebungsmittel für Schülerzeichnungen, wenngleich sich Mischfarben nur schwer durch vorsichtiges Übereinanderzeichnen erzielen lassen.

Blei- und Farbstiftzeichnungen verlangen sehr vorsichtige Behandlung und Auf-

bewahrung, da sie schnell verwischen und dadurch unbrauchbar werden. Im Spritzverfahren mit Fixativ (Schellack in Alkohol gelöst) oder farblosem Nitrolack überzogene Zeichnungen lassen sich wesentlich länger unbeschädigt erhalten.

Zur Darstellung ungefärbter, sehr feiner Linien wird die Zeichenfeder verwendet. Dem Bleistift gegenüber hat sie den Vorteil, daß ihre Spitze sehr fein ist und sich nicht abnutzt. Zeichenfedern werden ausschließlich mit schwarzer Ausziehtusche benutzt. 3 bis 5 Mischungsstufen von Ausziehtusche mit Aqua destillata dienen zur Grautönung. Sie werden mit Feder oder Pinsel eingesetzt (s. Abb. 76/2).

Neben Farbstiften werden auch Wasserfarben benutzt, um Zellinhaltsstoffe, Präparate mit natürlichen Färbungen sowie künstlich gefärbte Präparate wiederzugeben.

Die Anwendung von Mischtechniken (Bleistift und Tusche) sowie das Umranden des Wesentlichen sind – im Gegensatz zur allgemeinen Zeichentechnik – erlaubt.

### *Zeichnerische Darstellungsmöglichkeiten*

Die Möglichkeiten für zeichnerische Darstellungen reichen von der schnellen Skizze bis zur vollausgeführten Zeichnung, von der objektgetreuen Darstellung über halb-schematische zu schematischen Darstellungen. Zwischen den einzelnen Arten der Zeichnungen bestehen fließende Übergänge.

Die Skizze wird meist mit Bleistift angelegt. Man übt sich intensiv in dieser grundlegenden Arbeit, da es bei der Beobachtung lebender Objekte oft darauf ankommt, Vorgänge schnell festzuhalten sowie Größen- und Lageverhältnisse möglichst genau zu erfassen. Am Ende der Untersuchungsreihe wird eine vollausgeführte Zeichnung unter gleichzeitiger Verwendung von Frischpräparaten, Skizzen und gefärbten Dauerpräparaten angefertigt. Der Anfänger übt zunächst das schematisierte Skizzieren nach Dauerpräparaten, die einfache übersichtliche Verhältnisse in starkem Kontrast zeigen. Bei der Anfertigung leicht schematisierter, voll ausgeführter Bleistiftzeichnungen kommt es auf größere Genauigkeit an; deshalb werden Umrißlinien und Markierungspunkte mit Hilfe eines Projektionsgerätes oder Zeichenspiegels festgelegt. Nach dem Übergang zu mikroskopischer Beobachtung werden zunächst die Grundgrauabstufungen eingesetzt, da bei einem späteren Einsetzen schon gezeichnete Feinheiten verwischt werden. Haben alle Flächen ihre Grundtönung erhalten, werden unter Benutzung mittelharter Stifte wesentliche Einzelheiten eingezeichnet. Dabei kommt es bei pflanzlichen Geweben nicht so sehr darauf an, viele Zellen zu zeichnen, sondern wenige, dafür aber typische genau darzustellen. Übungen für Schüler beschränken sich zunächst auf bestimmte Arbeitsgebiete (z. B. botanische Zytologie), damit allgemeingültige Normen für die Darstellung des Plasmas, der Plastiden, des Kerns sowie von Kristallen und anderen Zeleinschlüssen gefunden werden können. Das muß mehr oder weniger individuell geschehen. Liegt die Zeichnung fertig vor, wird sorgfältig überprüft, ob das Wesentliche klar und unmißverständlich erkennbar ist (s. Abb. 77/1).

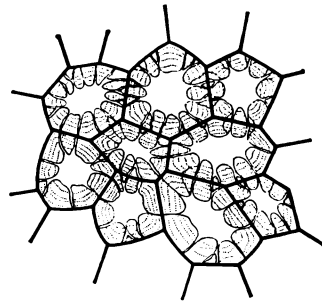


Abb. 77/1 Steinzellen aus dem Fruchtfleisch der Birne; die stark verdickten Zellwände sind von Tüpfelkanälen durchbrochen



Abb. 78/1 Stark schematisierte Wiedergabe eines Schnittes durch das Grubenaugen einer Napfschnecke (*Patella* sp.) in Strich-Punktierungstechnik (links) im Vergleich mit einer Mikrofotografie desselben Präparats (rechts)

Von der Bleistiftzeichnung geht man zur Federzeichnung über. Ein Federstrich in Tusche läßt sich nur noch durch Anwendung von Deckweiß oder durch Radieren mit dem Federmesser bzw. mit der Lanzett-nadel korrigieren (immer unsauber!). Deshalb werden Federzeichnungen mit Bleistift vorgezeichnet. Schattierungen können mit verdünnter Tusche eingesetzt werden (s. Abb. 76/2). Erst wenn das geschehen ist, kann das Nachziehen der feinen Bleistiftstriche mit Tusche beginnen. Dunklere Teile werden durch starke, helle Teile durch feine Striche angedeutet. Nach vollständiger Trocknung werden alle Bleistiftilfslinien entfernt.

Besonders für die schematisierte Wiedergabe von Schnittpräparaten eignet sich eine Darstellung, die Konturen in Strichen verschiedener Stärke und Grautöne bzw. Schattierungen durch Punktierung wiedergibt (s. Abb. 78/1).

Es ist oft unmöglich, alle Zellen eines Schnittes zu zeichnen. Entweder verzichtet man ganz auf das Zeichnen einzelner Zellen und gibt in Vollschematisierung nur die Verteilung der Gewebe wieder (s. Abb. 79/1, links) oder man zeichnet die Zellen in ihrer natürlichen Form und Anordnung (zelltreu) nur in einem schmalen Streifen der sonst voll schematisierten Darstellung ein (s. Abb. 79/1, rechts). Für beide Aufgaben eignet sich die Federtechnik, kombiniert mit der Bleistiftwischtechnik, besonders gut.

Sehr überzeugend wirken vollausgeführte, mehr oder weniger analysierende Zeichnungen, die die natürliche oder künstliche Färbung der Objekte wiedergeben. Die Entstehung einer solchen Zeichnung sei in drei Abschnitten veranschaulicht (s. Abb. 80/1). Die groben Umrisse sowie Markierungen wesentlicher Teile werden unter Benutzung eines Zeichengeräts mit hartem Bleistift gezeichnet. Dann werden die feinen Einzelheiten unter gleichzeitiger mikroskopischer Betrachtung mit feinen Strichen eingesetzt. Liegt die Zeichnung in ihren Umrisse fest, so gibt man zunächst mit zarten Farbtönen die Flächentönungen, wobei darauf zu achten ist, daß die hellste Stelle in der Zeichnung

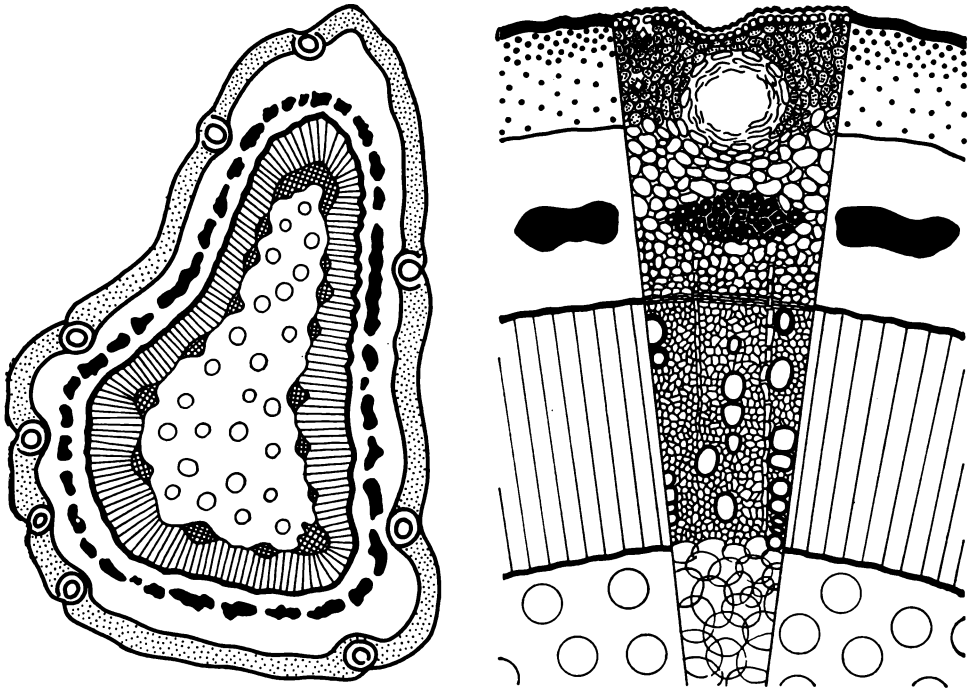


Abb. 79/1 Apfelsine (*Citrus aurantium*); Sproßquerschnitt  
 Vollschematisierte Federzeichnung (links) und Kombination von schematisierter und zell-  
 treuer Darstellung (rechts)

über die Dichte der verwendeten Farblösung entscheidet. In diese noch nasse Grundfärbung werden dann in Verlauftechnik die notwendigen Schatten und durchgehend dunkleren Partien eingesetzt. Dann kann mit der Darstellung feinerer, aber noch nicht genauestens umschriebener Partien begonnen werden. Feinste Einzelheiten werden mit einem sehr spitzen Pinsel ganz zum Schluß auf die trockene Grundfläche gesetzt. Man beginnt also mit grobem Pinsel und hellster im Präparat vorhandener Farbe und beendet die Arbeit mit feinstem Pinsel und dunkelster Farbe.

Liegen relativ unübersichtliche Objekte vor oder zeigt das Präparat starke Farbkontraste, so werden zum Schluß die wesentlichsten Begrenzungslinien mit Tusche umrandet. Das schematisiert die Zeichnung und hebt das Wesentliche stärker hervor (s. Abb. 80/2).

Zeigt das darzustellende Präparat zarte Lebewesen (z. B. Protozoen) in gleichfalls zarter Färbung, dann wird nicht umrandet, weil das dem Charakter dieser Vorlage völlig widersprechen würde (s. Abb. 80/3).

Wird bei zart gefärbten Präparaten das Umranden im Interesse der besseren Erkennbarkeit des Wesentlichen doch einmal notwendig, so verwendet man dazu nicht Tusche, sondern Wasserfarbe eines Tones, der etwas dunkler als der Grundton der Zeichnung ist.

Bei morphologischen Darstellungen und Habituszeichnungen muß das Objekt in seiner vollen Plastik erscheinen. Erleichternd wirkt, daß oft mit schwachen Objektiven



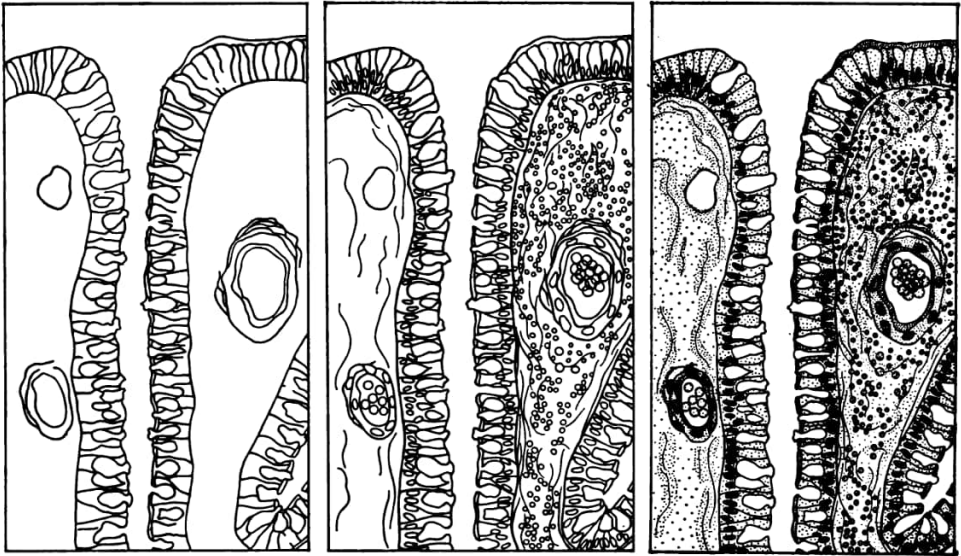
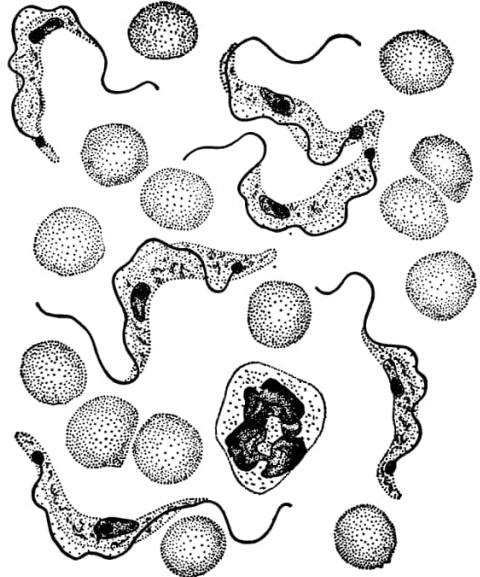
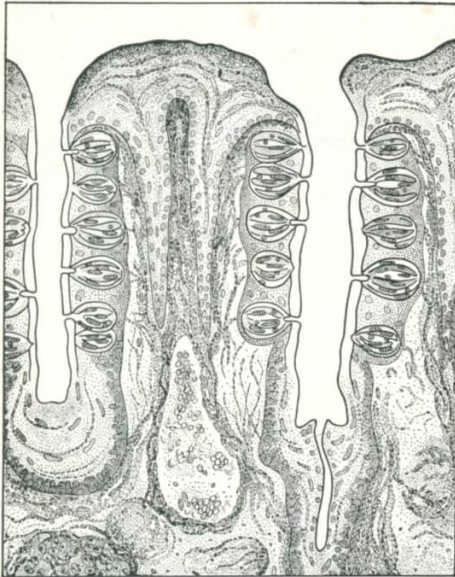


Abb. 80/1 Die Entstehung einer vollausgeführten Bleistiftzeichnung in drei Phasen. Die groben Umrisse wurden unter Verwendung des Zeichenspiegels dargestellt (links); alle wesentlichen Einzelheiten wurden mit Bleistift in den Umriss gezeichnet (Mitte); alle Einzelheiten wurden eingezeichnet (rechts). Die Zeichnung gibt eine Krypte aus dem Dickdarm der Hauskatze (*Felis catus*) in Hämalaun-Eosin-Färbung wieder. Die linke Seite jeder Zeichnung wurde stärker schematisiert, indem der dem Epithel aufliegende Kutikularsaum und die Kerne der Bindegewebszellen weggelassen wurden



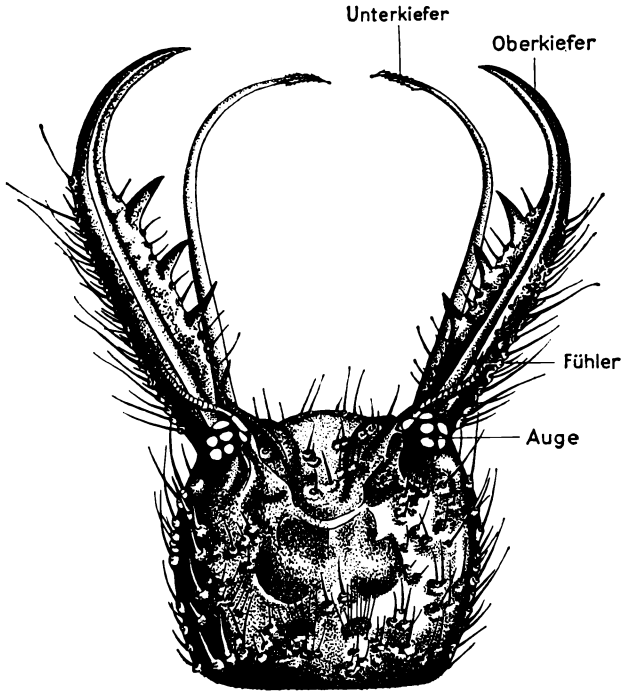


Abb. 81/1 Plastische Darstellung des Kopfes der Larve von *Myrmeleon formicarius* (Ameisenlöwe) in Bleistiftwischtechnik



Abb. 81/2 Beobachtung im Dunkelfeld mit weißer Tusche zeichnerisch wiedergegeben. Dargestellt ist das in Aufgüssen häufige Wimpertierchen *Stylonychia mytilus* (Muscheltierchen) aus einem Frischpräparat

gearbeitet und schiefe Beleuchtung angewendet werden kann, die das Objekt körperlicher zeigen als starke Objektive, die erst bei der Einzeichnung von Einzelheiten benutzt werden. Zur Ausführung solcher Zeichnungen eignet sich die Bleistiftwischtechnik (s. Abb. 81/1).

Beobachtungen im Dunkelfeld können auf schwarzem Karton mit weißer Tusche wiedergegeben werden, ein Verfahren, das beispielsweise die Eigenart des Protozoenkörpers hervorragend darstellt (s. Abb. 81/2, 191/1, 193/1, 201/1).

Das Überzeichnen von Mikrofotografien gestattet es, Nachteile beider Darstellungsmöglichkeiten zu kompensieren sowie Mikrofoto und Überzeichnung nebeneinander zu verwenden (s. Abb. 82/1).

Abb. 80/2 Stärkere Schematisierung einer vollausgeführten Zeichnung durch Umranden des Wesentlichen. Die Zeichnung gibt einen Schnitt durch die Zunge des Kaninchens (*Oryctolagus cuniculus*) in Azanfärbung wieder, der die blättrige Papille (Papilla foliata) und die in ihr gelegenen Geschmacksbecher zeigt (S. 80 unten links)

Abb. 80/3 Darstellung sehr zarter, gefärbter Präparate ohne Umrandung, gezeigt an einem Ausstrichpräparat von *Trypanosoma brucei* im Blut einer künstlich infizierten weißen Ratte. Die mit einer undulierenden Membran verbundene Geißel ist deutlich zu erkennen (S. 80 unten rechts)



Abb. 82/1 Gegenüberstellung von Mikrofotografie (links) und überzeichneter Mikrofotografie (rechts); Ligusterschwärmer (*Sphinx ligustri*), Rüssel im Querschnitt (50: 1/90: 1)

Von einem guten Negativ werden mehrere Vergrößerungen im gewünschten Maßstab hergestellt. Auf einer Vergrößerung umrandet man die hervorzuhobenden Konturen mit wasserunlöslicher schwarzer Tusche (z. B. schwarze Folientusche, Cellon-Tusche). Flächen, Schattierungen usw. werden punktiert oder schraffiert – je nach dem gewünschten Schematisierungsgrad. Erst wenn die Überzeichnung mit Tusche absolut trocken ist, werden die Vergrößerungen in einem Bleichbad (z. B. Bleichbad für ORWO-COLOR-Filme C 57) gebleicht, bis alles belichtete Silber in der fotografischen Schicht unsichtbar geworden ist. Darauf wird etwa 10 min in einem normalen Fixierbad zur Entfernung des entstandenen Zyan-silbers gespült, 30 min in fließendem Wasser gewässert und getrocknet. War die verwendete Tusche wirklich wasserfest, so liegt jetzt eine schematisierte Zeichnung vor, die dem Mikrofoto genau entspricht und zu dessen Verständnis wesentlich beitragen kann.

### *Zeichnen und Schreiben auf Projektionsfolien*

Im Biologieunterricht der allgemeinbildenden Schulen werden geschriebene, gezeichnete bzw. kombinierte Projektionsfolien für Tageslichtprojektoren vom Typ „Poly-lux“ benutzt. Projektionsfolien sind wertvolle fachspezifische Unterrichtsmittel auch für den Bereich der Mikroskopie.

Sie haben folgende Vorteile:

- Eine auf Folie übertragene Zeichnung oder Schrift kann einem großen Kreis im unverdunkelten Raum schnell vorgeführt werden. Dadurch ist die Möglichkeit zur Kombination mit anderen Unterrichtsmitteln bzw. anderen Lerntätigkeiten gegeben (z. B. Projektion einer Arbeitsanleitung bei der Durchführung einer Präparation);

- durch Benutzung von Mehrfachfolien („genetische Klappfolien“) ist eine Bild-synthese und Bildanalyse möglich. Didaktisch aufbereitete Teilbilder werden schrittweise zum Gesamtbild zusammengefügt (z. B. Demonstration der Entstehung einer Mikrozeichnung);

- bei Projektion auf weiße Manipermflächen können Applikationen in das Projektionsbild eingesetzt werden. Auch auf der Folie kann mit Folien-Applikationen gearbeitet werden;

- Arbeitsanleitungen können zeitsparend projiziert werden (z. B. Schrittfolge für das Einstellen eines Schülermikroskops, Regeln für die Herstellung einer Mikrozeichnung);

- rationale Gestaltung ästhetisch einwandfreier Tafelbilder ist möglich (Einsatz in Parallelklassen, jahrelange Nutzbarkeit).

Die Herstellung einer Projektionsfolie erfolgt folgendermaßen:

1. Didaktische Aufbereitung der herzustellenden Folie genau durchdenken (Einfach- oder Mehrfachfolie, Folge und Inhalt der einzelnen Klappfolien usw.);

2. Zeichenvorlage, Schriftvorlage oder Einteilungsvorlage (evtl. kombiniert) in geeigneter Größe auf Zeichenkarten o. ä. herstellen oder geeignete Druckvorlagen bereitstellen;

3. Zeichenvorlage o. ä. und darüber gelegte Folie jedes für sich auf Unterlage befestigen (durchsichtige Klebstreifen), Eckpunkte der Folie auf Unterlage markieren (Passergenauigkeit bei Mehrfachfolien!);

4. Herstellung der Zeichnung und Schrift mit schwarzer Ausziehtusche in den vorgesehenen Schriften auf einer oder mehreren Folien, Folien trocknen lassen (s. Abb. 83/1);

5. Einsetzen von Farben, trocknen lassen;

6. Mehrfachfolien

– passergenau mit Klebstreifen oder Lenkerband in der gewünschten Reihenfolge zusammenkleben (Reihenfolge festgelegt);

– passergenau lochen zum Einlegen in die Stiftleiste am Projektor (Reihenfolge variabel).

Als Arbeitsmittel zum Schreiben und Zeichnen auf Folie können Faserschreiber, Ausziehtuschen oder spezielle Folientuschen verwendet werden.

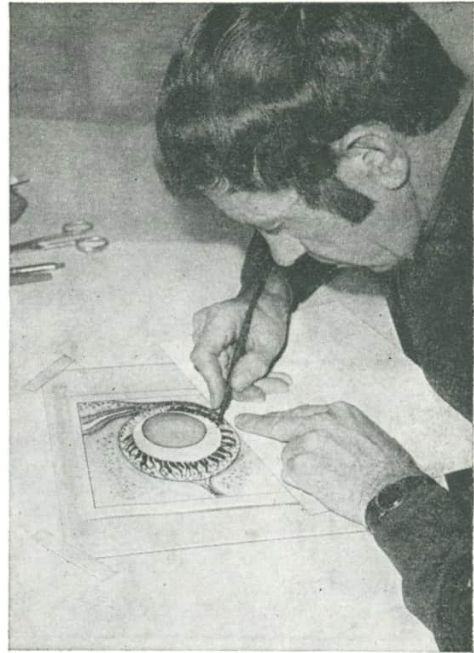


Abb. 83/1 Herstellen einer Projektionsfolie mit Hilfe einer untergelegten Zeichnung

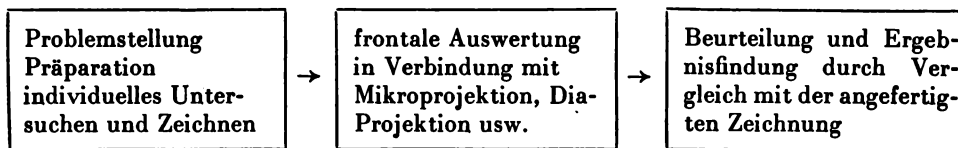
### *Hinweise für den Unterricht*

Nach wie vor ist die Mikrozeichnung in jeder Form (z. B. Schülerzeichnung, Wandtafelzeichnung von Lehrer oder Schüler, Anschauungsbild, Applikation, Projektionsfolie) ein unentbehrliches Unterrichtsmittel mit hohem erzieherischem Wert.

Während Skizzen in Bleistifttechnik sowie Farbstiftzeichnungen schon von Schülern der 7. Klasse angefertigt werden können, sollte die Anfertigung vollausgeführter Zeichnungen in anderen Techniken auf die höheren Klassen beschränkt werden (soweit überhaupt im obligatorischen Unterricht die zeitlichen Voraussetzungen dafür gegeben sind). Begabte Schüler können in Form langfristiger Aufträge zur Herstellung größerer Anschauungstafeln und Projektionsfolien herangezogen werden.

Der Biologielehrer selbst muß unablässig bemüht sein, sich in alle Techniken gut einzuarbeiten. Nur dann ist es ihm möglich, Schülerarbeiten richtig zu bewerten und das immer wieder auftauchende Argument: „Ich kann nicht zeichnen“ zu entkräften.

Für das mikroskopische Zeichnen im Unterricht ist es vorteilhaft, andere Darstellungsformen mit einzubeziehen, wie es beispielsweise im folgenden Schema angegeben ist.



Bei der frontalen Auswertung können auch entsprechende Lehrbuchabbildungen oder Klassensätze von Schwarz-Weiß-Mikrofotografien eingesetzt werden.

## Mikrofotografie

### *Allgemeines*

Eine Mikrofotografie übertrifft jede Beschreibung an Anschaulichkeit und jede Zeichnung an dokumentarischer Treue.

Mikrofotos und Mikrofilme dienen heute in zunehmendem Maße als Beleg- und Dokumentationsmaterial für die Forschung und als Anschauungsmaterial auf allen Ebenen der Lehre.

Über Vorteile und Nachteile der Mikrofotografie sowie Möglichkeiten der Kombination mit anderen Darstellungsformen siehe Seite 70 ff.

Einordnung der Mikrofotografie in das Gesamtgebiet der Fotografie:

Abbildungs- maßstab	Aufnahmebereich	Anordnung der Geräte	
$\beta' < 1:1$	Makro- fotografie	Normal- aufnahme	normaler Kameraauszug, ohne Vorsatz- linsen
		Nah- aufnahme	Auszugsverlängerung bis zur doppelten Brennweite des Objektivs (Tuben, Balgen- geräte) oder Vorsatzlinsen
$\beta' > 1:1$	Mikro- fotografie	Lupen- aufnahme	einstufige Vergrößerung durch um- gedrehtes Normalobjektiv mit großer Auszugsverlängerung (Tuben, Balgen- geräte) oder einfaches Mikroskop mit mikrofotografischen Spezialobjektiven (z. B. Zeiss-M-Objektive) ohne Okular
		Mikro- aufnahme	zweistufige Vergrößerung durch Mikro- skopobjektiv und Okular (oder Pro- jektiv)

## Schwierigkeitsgrad und Fehlerquellen

Auch heute noch sind manche Mikroskopierende, vor allem aber fotografierende Naturfreunde, der Meinung, daß die Mikrofotografie eine besonders schwierige und oft wenig erfolgversprechende Technik ist und daß komplizierte, umfangreiche und vor allen Dingen kostspielige Apparaturen nötig sind, um in der Mikrofotografie Erfolge zu erzielen. Auch der Fotograf, der in der bildmäßigen fotografischen Technik und Dunkelkammerpraxis bewandert ist, muß selbstverständlich die spezielle Technik der Mikrofotografie erst erlernen. Übung und Geduld führen auch hier – wie bei jeder anderen erlernbaren Technik – zum Erfolg. In vielen Dingen liegen die Verhältnisse sogar wesentlich einfacher als in der allgemeinen Fotografie.

Die Mikrofotografie kann als eine spezielle Form der Mikroprojektion angesehen werden, bei der das vom Objektiv entworfene Bild anstatt auf einen Projektionsschirm auf eine lichtempfindliche fotografische Schicht projiziert wird. Das bedeutet u. a., daß auf der fotografischen Schicht nur die Ebene scharf abgebildet wird, auf die das Mikroskopobjektiv im Augenblick der Aufnahme scharf eingestellt ist (s. S. 73). Daraus folgt, daß sich die Mikrofotografie, wenn wirklich sehr klare und scharfe Bilder erzielt werden sollen, auf sehr dünne Objekte beschränken muß. Fotografiert man dickere Objekte, so muß entweder eine gewisse Unschärfe und oft auch eine durch die Übereinanderlagerung vieler Ebenen hervorgerufene und sehr verwirrende Vielfalt von Konturen mit in Kauf genommen werden, oder es muß eine Steigerung der Abbildungstiefe durch Ändern der Scharfeinstellung während der Belichtungszeit versucht werden. Man geht wie folgt vor:

1. Lichtintensität der Mikroskopierleuchte so weit dämpfen (Neutralfilter, Polarisationsfilter, Vorschaltwiderstände o. ä.), daß sich Belichtungszeiten von mehr als 30 s ergeben.

2. Aperturblende so einstellen, daß  $BA = n. A.$  ist, höchstens aber auf  $\frac{4}{5}$  der  $n. A.$  abblenden.

3. Mit Hilfe der am Feintrieb befindlichen Teilung feststellen, wie weit der Feintrieb gedreht werden muß, damit nacheinander – von oben nach unten – alle Ebenen des Objekts scharf erscheinen.

4. Auf obere Schärfeebene einstellen, Verschluß öffnen und während der Belichtung so mit dem Feintrieb nachstellen, daß am Ende der Belichtung die untere Schärfeebene erreicht ist.

Dabei wird nur eine befriedigend scharfe Abbildung erreicht (s. Abb. 86/1). Erschütterungen und Schwingungen der Aufnahmeapparatur oder ihrer Grundplatte während der Belichtungszeit gehören zu den Hauptfehlerquellen. Grundsätzliche mechanische Trennung von Kamera und Mikroskop (Vertikalkamera) vermindert, feste Verbindung von Kamera und Mikroskop (Aufsetzkamera) erhöht die Verwacklungsgefahr. Von außen einwirkende Schwingungen und Erschütterungen (z. B. durch Straßenverkehr) müssen durch schwingungsgedämpfte Aufstellung der gesamten Apparatur abgefangen werden. Verkehrsarme Zeiten sind für mikrofotografische Arbeiten besonders geeignet (z. B. Abend- und frühe Nachtstunden).

Bei Aufnahmen mit stark vergrößernden Objektiven mit entsprechend geringer Tiefenschärfe kann schon allein das Ablaufen des Vorlaufwerkes, die Auslösung des Verschlusses über Drahtauslöser sowie ein harter Ablauf des Schlitzverschlusses zu erheblichen Verwacklungen und Bildunschärfen führen. Abhilfe bei Schwarzweißaufnahmen: Die Mikroskopierleuchte über eine elektrische Belichtungsuhr an das Netz

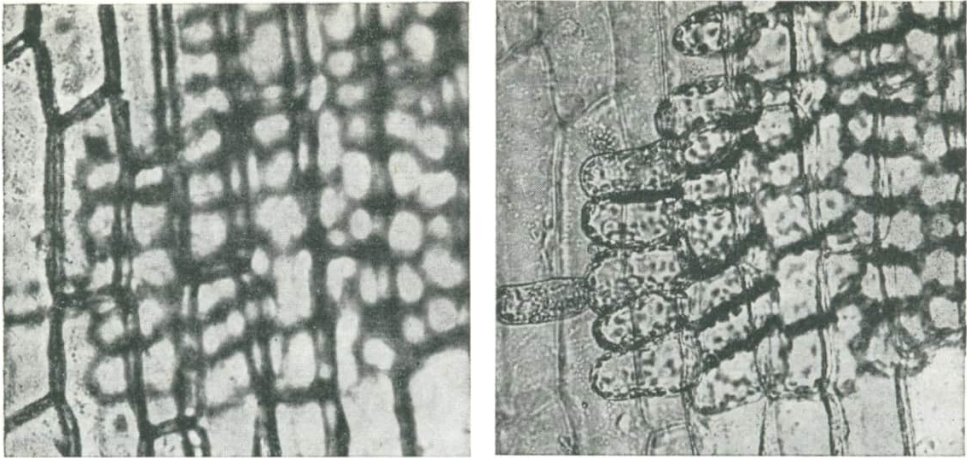


Abb. 86/1 Lilie (*Lilium* sp.), Epidermis mit Schwammgewebe; links Hauptschärfe auf der Epidermis, rechts nachfokussierte Aufnahme (Epidermis und Schwammgewebe scharf abgebildet; 100: 1/220: 1)

anschließen, scharf einstellen, Mikroskopierleuchte ausschalten, Verschuß mit Einstellung B oder T öffnen, Apparatur ausschwingen lassen, Belichtung über Belichtungsuhr regeln und Verschuß schließen. Für Farbaufnahmen ist es günstiger, zur Belichtung einen alten Zentralverschuß in den Strahlengang zwischen Leuchte und Mikroskop einzufügen, weil sich die Farbtemperatur der Lampe beim Ein- und Ausschalten stark verändert.

Bezüglich der Fehlerquellen, die im Negativ-Positiv-Prozeß liegen, sei auf die entsprechende Fachliteratur verwiesen.

## Aufnahmeprotokoll

Zu jeder Mikrofotografie gehört ein sorgsam geführtes Aufnahmeprotokoll. Ob diese Protokolle in einem **Aufnahmetagebuch** oder in einer **Aufnahmekartei** zusammengefaßt werden, muß jeder selbst entscheiden.

Ein Aufnahmeprotokoll sollte über folgende Einzelheiten Auskunft geben:

- Objekt (deutscher Name, wenn möglich wissenschaftlicher Name)
- Präparat (Frischpräparat, Dauerpräparat, Färbung usw.)
- laufende Nummer des Films (wertvoll beim späteren Heraussuchen bestimmter

Negative)

- Filmmaterial (z. B. ORWO NP 15)
- Kamera (z. B. PRAKTICA PL C 3)
- optische Kameralänge (Abstand Augenlinse des Okulars bis zur Filmebene; Angabe in mm)
- verwendete Optik (genaue Angaben über Kondensator, Objektiv und Okular)
- Abbildungsmaßstab auf dem Negativ (s. S. 92)
- Stellung der Aperturblende (z. B. BA = n. A., BA =  $\frac{4}{5}$  n. A. usw.)

- Untersuchungsmethode (z. B. Hellfeld-Durchlicht, Reliefbeleuchtung, Kontrastfarbenbeleuchtung usw.)
- Filter (Farbfilter, Graufilter usw. mit Angabe der genauen Bezeichnung)
- Lichtquelle (z. B. Kunstlicht, Tageslicht)
- Belichtungszeit (z. B.  $\frac{1}{20}$  s-Kameraverschluß; 2 s-Belichtungsuhr)
- Ergebnis und Bemerkungen.

Jede Mikroaufnahme muß nicht nur inhaltlich, sondern auch technisch ausgewertet werden. Entsprechende Vermerke über positive und negative Ergebnisse führen zu wertvollen Erfahrungswerten, zum Beispiel über Belichtungszeiten, Filterwahl usw.

Negativfilme werden - numeriert - entweder unzerschnitten in entsprechenden Blechdosen oder, in Streifen zu je sechs Bildern zerschnitten, in beschrifteten Filmtaschen aufbewahrt.

## *Methoden der Mikrofotografie*

### Beleuchtung, Belichtung und Filter

Für mikrofotografische Arbeiten ist die Qualität der Präparatausleuchtung von ausschlaggebender Bedeutung. Alle Behelfslösungen sind abzulehnen (z. B. normale Glühlampe und Mattscheibe, Tageslicht usw.). Im allgemeinen reichen die üblichen Niedervolt-Mikroskopierleuchten (s. S. 29) für normale Anforderungen völlig aus. Allerdings ist die exakte Einhaltung des Köhlerschen Beleuchtungsprinzips (s. S. 45) unbedingt erforderlich. Es ist ratsam, in den Filterhalter der Leuchte - zwischen Kollektorlinse und Leuchtfeldblende - eine feine Mattscheibe einzulegen. Dadurch wird eine gleichmäßig leuchtende Fläche erzielt. Durch ungleichmäßige Beleuchtung können Strukturen vorgetäuscht werden, die im Objekt nicht vorhanden sind (besonders wichtig bei starken Vergrößerungen). Bei zu schwacher Beleuchtung tritt Kontrastminderung ein. Die Optik muß vollkommen sauber sein. Vor allem muß die Augenlinse des Okulars oder des Projektivs einwandfrei sein; Stäubchen und Kratzer auf dieser Linse werden abgebildet! Zur eventuell notwendigen Regelung der Lichtintensität werden nur Neutralgraufilter verwendet; niemals die Lichtmenge durch Zuziehen der Aperturblende regulieren! Grundsätzlich wird nur so weit abgeblendet, wie es zur Darstellung des Bildes unumgänglich notwendig ist. Die BA darf maximal nur bis auf  $\frac{3}{4}$  der numerischen Apertur gesenkt werden, sonst entstehen zu viele Beugungskonturen (s. Abb. 43/1), die das Bild für wissenschaftliche Zwecke unbrauchbar machen. Bei Farbfilmern entstehen außerdem erhebliche Farbverfälschungen.

Nach beendeter Einstellung wird nochmals überprüft, ob das Sehfeld gleichmäßig ausgeleuchtet ist. Das bereitet bei schwach vergrößernden Objektiven mehr Schwierigkeiten als bei stark vergrößernden. Schon sehr geringe Helligkeitsunterschiede machen sich besonders bei Farbaufnahmen unangenehm bemerkbar.

Die **Elektronenblitz-Technik** ermöglicht es, in mikrofotografisches Neuland vorzudringen. Sehr lichtstarke Niedervoltmikroskopierleuchten oder Halogenleuchten ermöglichen bei Verwendung mittel- bis hochempfindlicher Kleinbildfilme (s. S. 96) Momentaufnahmen bis etwa  $\frac{1}{250}$  s. Das reicht aus, langsam bewegliche Objekte scharf wiederzugeben. Schnell bewegliche Objekte (z. B. Flagellaten, schlagende Wimpern, Rotatorien) können mit der zwischen  $\frac{1}{600}$  s und  $\frac{1}{4000}$  s liegenden Leuchtzeit moderner Blitzgeräte scharf abgebildet werden (s. Abb. 44/1, 59/1).



In der Mikrofotografie tritt die Blitzröhre als Lichtquelle an die Stelle der Mikroskopierleuchte. Besonders geeignet sind Ringblitzgeräte (z. B. RB 2); es lassen sich jedoch auch andere handelsübliche Elektronenblitzgeräte verwenden.

Bei der Anordnung der Blitzröhre müssen zwei Dinge besonders berücksichtigt werden:

– Die Regeln der Köhlerschen Beleuchtung müssen möglichst weitgehend eingehalten werden, da sonst das Licht der Blitzröhre nicht optimal genutzt wird.

– Die Mikroskopierleuchte muß als Pilotlicht im Strahlengang bleiben, weil mit ihrem Licht die Scharfeinstellung vorgenommen werden und das Objekt bis zum Moment der Belichtung beobachtet werden muß.

Relativ einfach lassen sich diese Forderungen mit Blitzröhren erfüllen, deren Reflektor abnehmbar ist. Da bei Spiegelreflexkameras mit relativ langen Verschlusszeiten geblitzt wird, muß das Licht der Mikroskopierleuchte eventuell so durch Graufilter gedämpft werden, daß Nebenbelichtungen vermieden werden. Da die von Blitzröhren abgegebene Lichtmenge nicht regulierbar und immer gleich groß ist, muß deren Licht bei schwachen Vergrößerungen und hellen Präparaten ebenfalls durch Graufilter gedämpft werden.

Steht nur ein Blitzgerät zur Verfügung, dessen Blitzröhre fest in ein Gehäuse mit Reflektor eingebaut ist, setzt man das Blitzgerät an die Stelle der Mikroskopierleuchte und spiegelt das Licht der Mikroskopierleuchte als Pilotlicht ein. Im Strahlengang ist eine unter  $45^\circ$  geneigte, fast planparallele Glasplatte (z. B. Dia-Glas) angebracht, die etwa 10% des Lichts der seitlich aufgestellten Pilot-Lichtquelle in den Strahlengang einspiegelt. Durch diese Anordnung gehen etwa 10% des Lichts der Blitzröhre verloren. Die Gefahr einer wirksamen Nebenbelichtung durch die Pilotleuchte besteht bei dieser Anordnung nicht.

Elektronenblitzaufnahmen fallen – wie bei normalen Fotografien – oft recht „flau“ aus. Deshalb werden die Filme zu einem hohen Gamma entwickelt und harte bis extraharte Vergrößerungspapiere benutzt!

Problematisch ist die exakte Bestimmung der richtigen Belichtungszeit. Schwarzweißfilme besitzen zwar einen erheblichen Belichtungsspielraum (1 : 20 bis 1 : 30); es ist jedoch zu bedenken, daß jede Unter- oder Überbelichtung eine Einbuße an Kontrast und Konturenschärfe mit sich bringt. Farbfilme müssen sehr genau belichtet werden, da sonst unweigerlich Farbverfälschungen auftreten.

Durch Probelichtungen bzw. durch Erfahrungswerte mit bestimmten Objektiv-Okularkombinationen bei festgelegten Kameraauszügen, Filterwerten usw. kann für Schwarzweißmaterial die etwa richtige Belichtungszeit ermittelt werden. Bei Platten oder großformatigen Planfilmen kann eine stufenweise Belichtungsprobe durchgeführt werden (s. Abb. 89/1). Bei Kleinbildfilm können Probelichtungsreihen hergestellt werden. Dabei werden die Belichtungszeiten (jeweilige Verdoppelung) so gewählt, daß der angenommene – oder auch gemessene – richtige Wert in der Mitte der Reihe liegt.

Bei der Herstellung von Farbaufnahmen empfiehlt es sich, die Belichtungszeit fotoelektrisch durch Meßzellen in Verbindung mit einem Galvanometer zu bestimmen. Die Meßzellen werden in den Strahlengang des Mikroskops geschwenkt (z. B. Pentacon-Lichtmeßeinrichtung). Das Meßsystem muß durch Probeaufnahmen geeicht werden.

Besonders einfach und zeitsparend ist die Messung der Belichtungszeit bei Spiegelreflexkameras, die mit Innenmessung ausgerüstet sind (s. Abb. 91/2). Selbstverständlich muß auch diese Einrichtung auf eine optimale Meßwerteneinstellung geeicht werden. Es ist jedoch zu beachten, daß Messungen sehr dunkler Objekte (z. B. bei

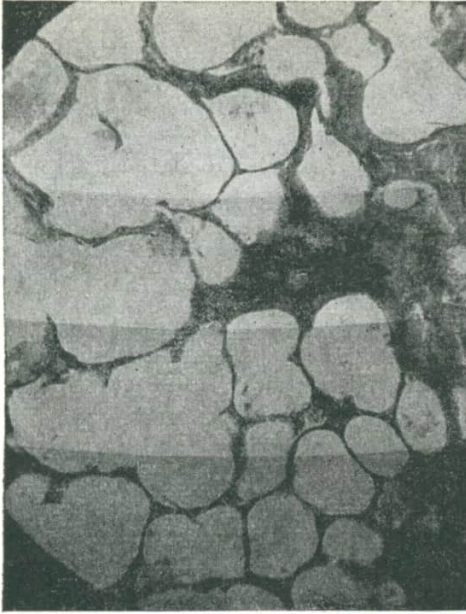


Abb. 89/1 Probestreifenaufnahme zur Bestimmung der Belichtungszeit. Die Streifen wurden von unten nach oben mit 1, 2, 4, 8, 16 und 32 s belichtet; die richtige Belichtungszeit zeigt der 3. Streifen mit 4 s.

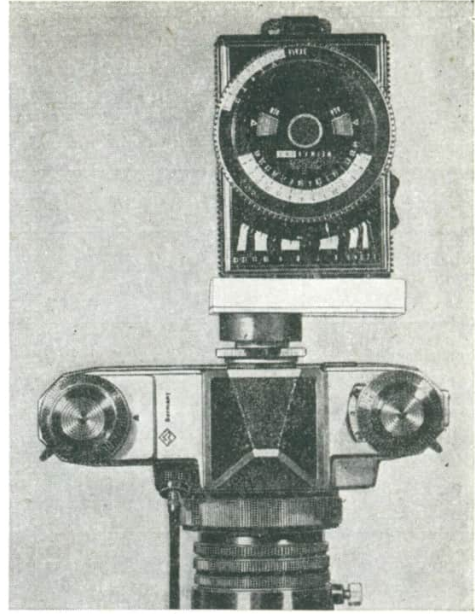


Abb. 89/2 Behelfsmäßige Lichtmessung mit dem Belichtungsmesser WEIMARLUX cds des VEB Feingerätewerk Weimar

Untersuchungen im polarisierten Licht) oder sehr kontrastreicher Objekte (z. B. im Dunkelfeld) fehlerhaft oder unmöglich werden. Der Belichtungsmesser Weimarlux cds kann nach Eichung ebenfalls zur behelfsmäßigen Lichtmessung verwendet werden (s. Abb. 89/2).

Die Filterwahl kann bei Verwendung von panchromatischem Schwarzweißfilm unter zwei Gesichtspunkten erfolgen:

– Soll eine weitgehend tonwertrichtige Wiedergabe der Objektfarben erfolgen, werden **Kompensationsfilter** benutzt. So gleichen beispielsweise Gelb- oder Orangefilter den Blaugehalt der beleuchtenden Strahlen aus. Da jedoch manche Farben – z. B. blaue und rote Töne – auf panchromatischem Film mit einem annähernd gleichen Grauwert wiedergegeben werden, erzielt man zwar tonwertrichtige, aber kontrastarme Negative, die – auch bei Verwendung harter Papiergradationen – unbefriedigende Vergrößerungen ergeben. In den meisten Fällen ist die **kontrastreiche Wiedergabe** bei Mikrofotos viel wichtiger als die tonwertrichtige Wiedergabe (im Gegensatz zur allgemeinen Fotografie!). Im allgemeinen wird die kontrastreiche Wiedergabe einer Objektfarbe durch Anwendung komplementärfarbiger **Selektionsfilter** unterstützt.

Werden Achromate zur Herstellung der Aufnahmen verwendet, so wird deren blau-rotes Restspektrum (s. S. 17) durch Anwendung eines strengen Gelbgrünfilters ge-

dämpft. Die Aufnahmen werden dann deutlich schärfer und auch kontrastreicher. Das Einstellen der Schärfe muß mit eingelegtem Filter erfolgen. Die richtige Anwendung von Filtern ist in erster Linie eine Sache der Erfahrung, da keine Färbung der anderen völlig gleicht. Die folgenden Hinweise für die richtige Filterwahl können also nur als Anhaltspunkte dienen:

Filterfarbe	Wirkung
gelb	besonders für blaue und violette Farbtöne kontraststeigernd; sonst Wirkung ähnlich wie Grünfilter
gelbgrün	viel verwendete Universalfilter für die gebräuchlichen Doppelfärbungen (z. B. Hämalaun-Eosin); sonst wie Grünfilter
grün	Dämpfung der Wirkung des Restspektrums von Achromaten, Schärfesteigerung; rote, blaue und violette Farben werden dunkler wiedergegeben
orange	heben blaue und violette Farbtöne gegen Rot hervor, für Azan-Färbungen und Giemsa-Färbungen gut geeignet
hellrot	für chlorophyllhaltige Objekte in Frischpräparaten
rot	für dunkle Chitinteile
blau	zur Kontraststeigerung bei gelben Farbtönen, sehr hellen Chitinteilen und farblosen Objekten (z. B. Diatomeen, Radiolarien)

Bei sehr dünnen oder sehr schwach gefärbten Objekten tragen auch Selektionsfilter nicht spürbar zur Kontraststeigerung bei. In solchen Fällen sollte eine andere Untersuchungsmethode (z. B. Dunkelfeld, Kontrastfarbenbeleuchtung) gewählt werden.

Für die Farb-Mikrofotografie gelten andere Regeln. Kunstlicht-Umkehrfilme und Farb-Negativfilme werden grundsätzlich ohne Filter belichtet. Immer häufiger werden anstatt der niedriger empfindlichen Kunstlichtfilme Tageslicht-Umkehrfilme verwendet. Vorteile sind:

- höhere Allgemeinempfindlichkeit (bis 20 DIN)
- bessere Farbtreue bei wärmerer Farbwiedergabe und höherer Brillanz
- ausreichender Belichtungsspielraum
- Film kann für Mikro-, Makro- und allgemeine Aufnahmen in der Kamera bleiben.

Bei der Verwendung von Tageslichtfilmen für Mikroaufnahmen müssen die gelben Anteile der Beleuchtungsstrahlen ausgefiltert werden. Dazu werden schwache Blaufilter benutzt (z. B. Schottfilter FGB 4), die in den beleuchtenden Strahlengang gebracht werden.

Elektronenblitzaufnahmen auf Farbfilm dürfen nicht gefiltert werden.

## Arbeit mit der Spiegelreflex-Kleinbildkamera (Aufsetzkamera)

Eine rationelle Lösung der Probleme der Mikrofotografie bei laufenden Arbeiten ermöglicht die mit einem Spiegelreflexsystem ausgestattete Kleinbildkamera. Bei ihr läßt sich das Objektiv mit wenigen Griffen entfernen. Die Kamera wird mit einem speziellen Mikrozwischenstück auf dem Okulartubus angebracht und dadurch mechanisch fest mit dem Mikroskop verbunden. Die ganze Einrichtung stellt dann eine geschlossene Einheit dar (s. Abb. 91/1).

Viele Mikrofotografen lehnen eine starre Verbindung zwischen Mikroskop und Kamera ab (Verwacklungsgefahr besonders bei starken Vergrößerungen). Bei Verwendung eines Reoprogeräts (oder eines Mikrozwischenstücks mit Balgen) kann die Kamera so über dem Mikroskop angebracht werden, daß keine mechanische Verbindung besteht. Zum Fernhalten von Fremdlicht greifen zwei Lichtschutzmanschetten berührungslos ineinander. Mit dem Balgenauszug läßt sich der Abbildungsmaßstab verändern. Bei Nichtgebrauch oder zur visuellen Beobachtung wird die gesamte Aufnahmeapparatur nach Anheben zur Seite geschwenkt (s. Abb. 91/2).

Der wesentlichste Vorteil der Spiegelreflexkamera besteht darin, daß das Sucherbild der späteren Aufnahme entspricht. Das schwierige Problem der Scharfeinstellung wird dadurch so einfach gelöst, daß alle vorkommenden Aufgaben ohne Schwierigkeiten zu bewältigen sind. Der aufzunehmende Gegenstand kann bis zum letzten Augenblick vor

Abb. 91/1 Mikrofotografie bei direkter Verbindung der Aufnahmekamera mit dem Mikroskop (PRAKTICA VL C2 — Mikrozwischenstück — Geradtubus — AMPLIVAL mit Aufsichtbeleuchtung)

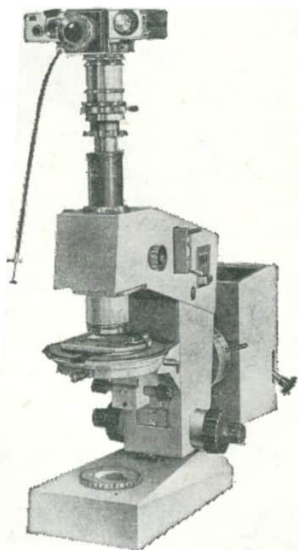
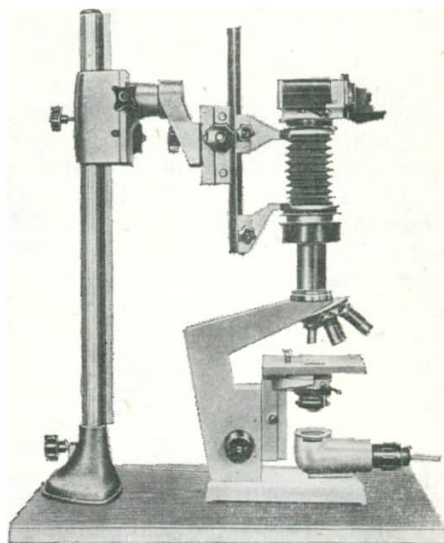


Abb. 91/2 Mikrofotografie bei indirekter Verbindung der Aufnahmekamera mit dem Mikroskop (PRAKTICA VL C2 — Reoprogestell — Balgenaufsatz und Einstellschlitten — Lichtschutzmanschette und Lichtabschlußhülse — Geradtubus — Mikroskop LABOVAL)



der Belichtung beobachtet werden. Dadurch sind auch Aufnahmen lebender, schnellbeweglicher Objekte möglich. Da Spiegelreflexkameras über Schlitzverschlüsse verfügen, besteht die Möglichkeit, trotz entfernter Optik mit dem Kameraverschluß zu belichten.

Es ist zu beachten, daß die Belichtungszeit mit dem Quadrat der Auszugsverlängerung (optische Kameralänge) zunimmt. Da Kleinbildkameras nur eine geringe optische Länge haben, wird weniger Licht zur Aufnahme benötigt als bei Apparaten mit großer optischer Kameralänge. Das Negativ erhält unabhängig vom Format bei gleicher optischer Kameralänge immer die gleiche Lichtmenge. Die bei der Verwendung des Formats  $9\text{ cm} \times 12\text{ cm}$  gewonnenen Belichtungsrichtzahlen können nicht ohne weiteres auf das Kleinbildformat übertragen werden. Bei sonst völlig analogen Verhältnissen ist nur etwa  $\frac{1}{12}$  der Belichtungszeit erforderlich, die bei der Verwendung des Formats  $9\text{ cm} \times 12\text{ cm}$  notwendig wäre. Das ist bei schwierigen Aufnahmen mit hohen Vergrößerungen, bei Dunkelfeldaufnahmen, Aufnahmen mit polarisiertem Licht, Farbaufnahmen und vor allen Dingen bei Aufnahmen von lebenden Objekten, bei denen mit kurzen Momentbelichtungen gearbeitet werden muß, ein weiterer Vorteil des Kleinbildformats.

Ein weiterer wesentlicher Vorteil der Arbeit mit der Kleinbildkamera ist, daß beliebig viele Aufnahmen in schneller Folge angefertigt werden können. Dadurch wird der Mikrofotograf in die Lage versetzt, Serien- oder Reihenaufnahmen von Lebensvorgängen (z. B. typische Stadien aus der Teilung eines Pantoffeltierchens oder der Teilung einer Zelle in den Staubfadenhaaren von *Tradescantia*) anzufertigen.

Mit der Kleinbildkamera kann der ganze Umfang der Vergrößerungsleistung des Mikroskops von der Lupenaufnahme bis zur Immersionsvergrößerung ausgenutzt werden. Es muß jedoch schon bei der Aufnahme beachtet werden, daß das  $24\text{ mm} \times 36\text{ mm}$  große Negativ im Positivprozeß noch auf  $9\text{ cm} \times 12\text{ cm}$ , also auf das 3,7fache, vergrößert werden muß. Diese  $9\text{ cm} \times 12\text{ cm}$ -Bilder sollen aus der deutlichen Sehweite (25 cm) betrachtet werden. Oft wird nur ein Ausschnitt des Gesamtbildes vergrößert. Das kann leicht dazu führen, daß die Grenze der förderlichen Vergrößerung überschritten wird und das Bild sogenannte tote oder leere Vergrößerung zeigt. Bei der späteren Vergrößerung des Bildes ist darauf zu achten, daß das 500- bis 1000fache des Wertes der numerischen Apertur des zur Herstellung der Aufnahme benutzten Mikroskopobjektivs nicht überschritten wird!

Als Beispiel soll die Herstellung einer Aufnahme mit einem Objektiv 40facher Eigenvergrößerung und der numerischen Apertur 0,65 dienen. Die Zusammenstellung dieses Objektivs mit einem Huygensschen Okular 10facher Eigenvergrößerung ergibt eine Gesamtvergrößerung von  $40 \cdot 10 = 400$ fach, wenn der Kameraauszug 25 cm beträgt. Bei anderen Kameraauszügen wird der Vergrößerungsmaßstab auf dem Negativ nach der Formel  $N = b/s \cdot V$  errechnet, wobei N dem Abbildungsmaßstab auf dem Negativ, b dem Kameraauszug in cm, s der deutlichen Sehweite (25 cm) und V der Gesamtvergrößerung Okular  $\times$  Objektiv bei subjektiver Beobachtung gleichzusetzen ist. Bei Verwendung von Zeiss-Projektiven beträgt  $s = 12,5\text{ cm}$ . In unserem Fall ergäbe sich  $N = 10 \cdot 400 : 25 = 160$ . Wird dieses Negativ auf  $9\text{ cm} \times 12\text{ cm}$ , also etwa 3,7fach, vergrößert, so ergibt sich durch die Rechnung  $160 \times 3,7$  eine rund 600fache Gesamtvergrößerung, die dicht an der oberen Grenze des förderlichen Vergrößerungsmaßstabs ( $0,65 \cdot 1000 = 650$ ) liegt.

Die untere Grenze des förderlichen Vergrößerungsmaßstabes, die für dieses Objektiv bei 325facher Gesamtvergrößerung (n. A.  $0,65 \cdot 500$ ) liegt, sollte nicht unterschritten

werden, weil dann das Auge nicht mehr imstande ist, bei Betrachtung des 9 cm × 12 cm großen Positivs aus der deutlichen Sehweite den gesamten Bildinhalt mühelos zu erkennen.

## Arbeit mit der großformatigen Kamera (Vertikalkamera)

Für die speziellen Zwecke der Mikrofotografie ist die Plattenkamera sehr geeignet. Bei mikrofotografischen Aufnahmen stören viele ihrer Nachteile (z. B. großes Gewicht, geringe Beweglichkeit und Verschußgeschwindigkeit, Größe des Aufnahmeformats) nicht. Mitunter bietet sich die Gelegenheit, ein altes Gerät preiswert zu kaufen. Es ist unbedingt darauf zu achten, daß das Gerät doppelten Bodenauszug aufweist. Einige leicht in den Schienen laufende Kassetten sind ebenfalls erforderlich.

Die mikrofotografische Arbeit mit Plattenkameras ist nicht einfach, aber präzise. Die Lichtquelle wird bei visueller Beobachtung so zum Mikroskop eingestellt, daß das Sehfeld optimal und völlig gleichmäßig ausgeleuchtet wird (Köhlersches Prinzip beachten!). Nachdem das Objektiv entfernt ist, wird die völlig ausgezogene Kamera mit der Bodenmutter so an ein Labor- oder Repröstativ angeschraubt, daß ihre optische Achse senkrecht steht. Daraufhin wird das Stativ so an das Mikroskop herangeschoben, daß die optische Achse der Kamera die Verlängerung der optischen Achse des Mikroskops darstellt. Die Kamera wird in der Höhe so angeordnet, daß ihre Blendenebene wenige Millimeter über dem Okular steht. Nach Entfernung der Mattscheibe kann von oben her die Zentrierung kontrolliert und die Blende so weit geschlossen werden, daß der aus dem Okular tretende Strahlenkegel nicht abgeschattet wird. Ist die Mattscheibe eingesetzt, der auf „T“ gestellte Verschuß geöffnet und die Bildfeldausleuchtung noch einmal kontrolliert, kann mit der Scharfeinstellung begonnen werden. Wenn das Korn der Mattscheibe zu sehr stört, kann sie dünn mit Fett eingerieben werden.

Die Vergrößerung wird durch Wechseln der Objektive und Okulare oder durch Veränderung der Balgenlänge der Kamera eingestellt. Nach der Scharfeinstellung wird der Verschuß geschlossen und die Mattscheibe vorsichtig gegen eine geladene Kassette ausgewechselt. Jede ruckartige Bewegung kann eine Veränderung der Scharfeinstellung herbeiführen. Bis zum Auslösen des Verschlusses wartet man noch einige Zeit, um die gesamte Einrichtung ausschwingen zu lassen. Die Verschußbedienung geschieht erschütterungsarm durch einen Drahtauslöser. Nach erfolgter Belichtung wird die Mattscheibe sofort wieder eingesetzt und noch einmal die Scharfeinstellung kontrolliert. Stimmt sie nach der Aufnahme noch, so kann man sicher sein, daß diese Aufnahme, wenn alle anderen Voraussetzungen erfüllt sind, brauchbar sein wird. Anderenfalls wird vorsichtshalber eine zweite Aufnahme hergestellt.

Die etwa richtige Belichtungszeit wird durch Probeaufnahmen ermittelt, die streifenweise belichtet werden. Das geschieht, indem der Kassettenschieber in 6 gleiche Abschnitte eingeteilt und bei den Aufnahmen jeweils um einen Streifen weiter geöffnet wird. Auf diese Art und Weise addieren sich die einzelnen Belichtungszeiten und ergeben 6 Streifen verschieden langer Belichtung. Dabei ist zu beachten, daß die Belichtungszeiten eine geometrische Reihe bilden, da sonst die Unterschiede in der Deckung der Negative nicht festgestellt werden können. Die abgebildete Aufnahme (s. Abb. 89/1) zeigt 6 Streifen, die 1, 2, 4, 8, 16 und 32 Sekunden lang belichtet worden sind. Die Belichtungszeiten wurden durch Addieren von 6 aufeinanderfolgenden Be-

lichtungen, bei denen jeweils die schon vom Schieber freigegebenen Streifen wieder mitbelichtet wurden, gewonnen. Die tatsächlichen Erstbelichtungszeiten für die einzelnen Streifen stehen in der nachfolgenden Übersicht an erster Stelle.

	Einzelbelichtungszeiten in s	Gesamtbelichtungszeit in s
1. Streifen	16 + 8 + 4 + 2 + 1 + 1	32
2. Streifen	8 + 4 + 2 + 1 + 1	16
3. Streifen	4 + 2 + 1 + 1	8
4. Streifen	2 + 1 + 1	4
5. Streifen	1 + 1	2
6. Streifen	1	1

Aus einer so belichteten Platte sucht man den Streifen heraus, der die richtige Belichtungszeit aufweist. Solche Testnegative werden von normalen und nicht zu durchsichtigen Präparaten für jede vorhandene Objektiv-Okular-Zusammenstellung angefertigt. Bei Verwendung der gleichen Lichtquelle und des gleichen Aufnahmematerials erhält man damit Anhaltspunkte für die annähernd richtige Belichtung fast aller Präparate.

Mit der vorstehend beschriebenen mikrofotografischen Einrichtung können viele mikrofotografische Aufgaben zur Zufriedenheit gelöst werden. Selbst Aufnahmen mit starken Vergrößerungen gelingen auf Grund der exakten Scharfeinstellungsmöglichkeit (s. Abb. 224/1). Es ist jedoch nicht möglich, sich bewegende Objekte aufzunehmen, da Beobachtungs- und Scharfeinstellungsmöglichkeit bis zum Moment der Aufnahme fehlen. Das trifft auch für den Fotoeinsatz 9 cm × 12 cm zum Demonstrationsaufsatz zu (s. S. 100; Abb. 94/1).

Sollen sehr hohe Anforderungen befriedigt werden, so muß eine der großen Mikro-

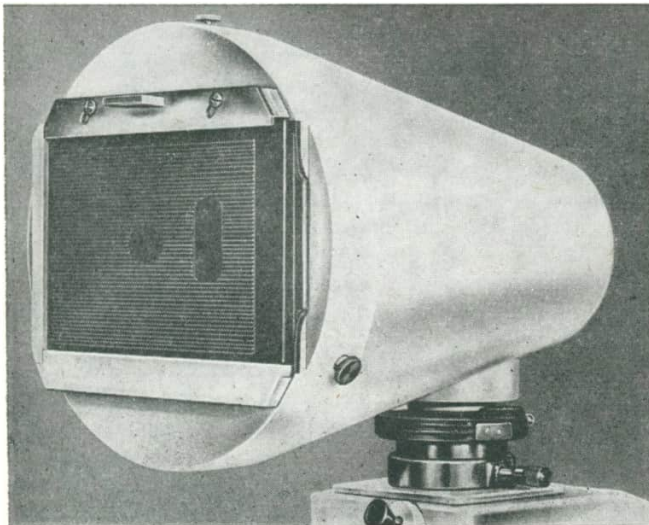


Abb. 94/1 Fotoeinsatz 9 cm × 12 cm zum Demonstrationsaufsatz des VEB Carl Zeiss JENA

kameras vom Format 9 cm × 12 cm verwendet werden. Vielseitigkeit (z. B. Spiegelreflexeinrichtung) und höchste Präzision kennzeichnen diese Geräte, die in der wissenschaftlichen Forschung bevorzugt angewendet werden.

### Mikrofotografie in natürlichen Farben

Ein Vergleich von Farb- und Schwarzweißaufnahmen desselben Objekts läßt sofort die Vorzüge des Farbfotos erkennen. Der Farbfotografie kommt auf Grund der klaren und scharf differenzierten Wiedergabe der verschiedenen Gewebeanteile hohe Beweiskraft zu. Entwickelte Farbfotos enthalten keinerlei Silber mehr, sie sind völlig kornlos und sehr transparent. Sie ergeben auch bei stärkster Projektionsvergrößerung gut erkennbare, in sich geschlossene Bilder. Besonders im Unterricht sind Farbdiapositive solchen in Schwarzweiß unbedingt vorzuziehen.

Als Aufnahmematerial stehen ORWOCHROM-Umkehr- und Negativfilme für Tageslicht und Kunstlicht in verschiedenen Konfektionierungen zur Verfügung. Aus finanziellen Erwägungen ist dem 24 mm × 36 mm-Umkehr-Kleinbildfilm der Vorzug zu geben. Für ihn spricht auch, daß Farbaufnahmen direkt als Diapositive im Unterricht verwendet werden können. Für den Lehrer scheiden die Negativfilme aus, da farbigen Papierbildern unterrichtlich kaum Bedeutung zukommt.

Weil zur Herstellung von Farbaufnahmen völlig gleichmäßiges, gleichfarbiges Kunstlicht für relativ lange Belichtungszeiten zur Verfügung stehen muß, wurde für die Mikrofotografie bisher ausschließlich der ORWOCHROM-Umkehrfilm UK17 empfohlen. Dieser Film weist eine Empfindlichkeit von etwa 17 DIN auf. Genau kann man beim Colorfilm die DIN-Grade nicht angeben, da sie sich exakt nur auf Schwarzweiß-Negativmaterial anwenden lassen. Der Wert 17 DIN ist durch Vergleich mit Schwarz-Weiß-Filmen als Anhalt für die Belichtung angegeben. Die Erfahrung zeigt jedoch, daß der ORWOCHROM UK 17 bei Mikroaufnahmen so belichtet werden kann, als läge die Empfindlichkeit bei etwa 14 DIN. Umkehrfarbfilme verfügen nur über einen sehr geringen Belichtungsspielraum und müssen deshalb genau belichtet werden. Beim Farbfilm bewirkt jede zu kurze Belichtung ein dunkleres, farbstärkeres, jede zu lange Belichtung ein helleres, farbschwächeres Bild. (Über die Verwendung von COLOR-Tageslichtfilmen für Mikroaufnahmen s. S. 90.)

In der normalen Farbfotografie strebt man danach, starke Farbkontraste – grelle Buntheit – zu vermeiden. Die Mikrofotografie braucht gerade diese starken Kontraste. Die besten Ergebnisse bringen deshalb etwas überfärbte Präparate.

Wie schon betont, scheidet Tageslicht zur Herstellung von Farbaufnahmen aus. Als Lichtquelle werden Niedervoltlampen in Mikroskopierleuchten benutzt, da deren Licht in der spektralen Zusammensetzung dem der Nitraphotlampen gleicht, auf das der Kunstlichtfilm sensibilisiert wird. Bei Tageslichtfilm werden Blaufilter verwendet (s. S. 90). Die Regeln der Köhlerschen Beleuchtung dürfen nur abgeändert Anwendung finden. Die Leuchtfeldblende muß ganz geöffnet werden, da normale Kondensoren die Leuchtfeldblende mit breiten, farbigen Rändern im Präparat abbilden. Dadurch besteht die Gefahr, daß das Sehfeld gefärbt wird. Das gleiche gilt für die Aperturbblende, die im Normalfall nur so weit geschlossen werden darf, daß die BA der n. A. entspricht. Bei sehr kontrastarmen Präparaten darf die Aperturbblende bis auf  $\frac{4}{5}$  der hinteren Öffnung des Objektivs zugezogen werden. Die sich durch die weite Öffnung der Blenden ergebenden Nachteile müssen in Kauf genommen werden; am wenigsten stören sie bei



Schnittpräparaten mit künstlicher Färbung, deren Kontraste ja bekanntlich durch Absorption entstehen. Als Untersuchungsmethode kommt vor allem die gerade Hellfeld-Durchlicht-Beleuchtung in Frage, da schiefes Licht die Farbwiedergabe stark stört. Optische Kontrastfärbungen, Untersuchungen mit polarisiertem Licht sowie Fluoreszenzerscheinungen lassen sich gut farbig wiedergeben.

Das schwierigste Problem der Farbmikrofotografie ist die Ermittlung der richtigen Belichtungszeit. Als brauchbare Methode kann empfohlen werden, Probeaufnahmereihen mit den verschiedenen Objektiv-Okular-Kombinationen auf Farbfilm anzufertigen. Genaueste Protokollierung dieser sowie aller späteren Aufnahmen ergibt dann mit der Zeit brauchbare Erfahrungswerte. Trotzdem erscheint es angeraten, wichtige Aufnahmen mit verschiedenen Belichtungszeiten vorzunehmen. Das geht so vor sich, daß die 1. Aufnahme mit der halben der als richtig angenommenen Belichtungszeit, die 2. mit der als richtig geschätzten und die 3. mit dem Doppelten dieser Zeit belichtet wird. Die sicherste Methode der Belichtungszeitbestimmung ist die Benutzung elektrischer Meßeinrichtungen (s. S. 88).

### Schwarzweiß-Aufnahmematerial und Negativtechnik

Sehr wesentlich für das Gelingen der Mikrofotografien ist die richtige Wahl des Aufnahmematerials.

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die wichtigsten Eigenschaften von Schwarz-Weiß-Negativfilmen des VEB Filmfabrik Wolfen.

Film	NP 15	NP 20	NP 27
Empfindlichkeit in DIN	15	20, bei sehr kontrastarmen Motiven bis 24	27, bei Kunstlicht bis 30
Sensibilisierung	panchromatisch	panchromatisch	super-panchromatisch (besonders hohe Rotempfindlichkeit)
Auflösungsvermögen	170 Linien/mm (für mikroskop. Objektive)	120 Linien/mm (für mikroskop. Objektive)	71 Linien/mm
Körnigkeit	22	28	37
Gradation	0,55 bis 0,70 (bei 9 bis 11 min Entwicklung in A 49/20 °C)	0,60 bis 0,85 (bei 9 bis 16 min Entwicklung in A 49/20 °C)	etwa 0,65 (bei 14 min Entwicklung in A 49/20 °C)
Lichthofschutz	17	17	13

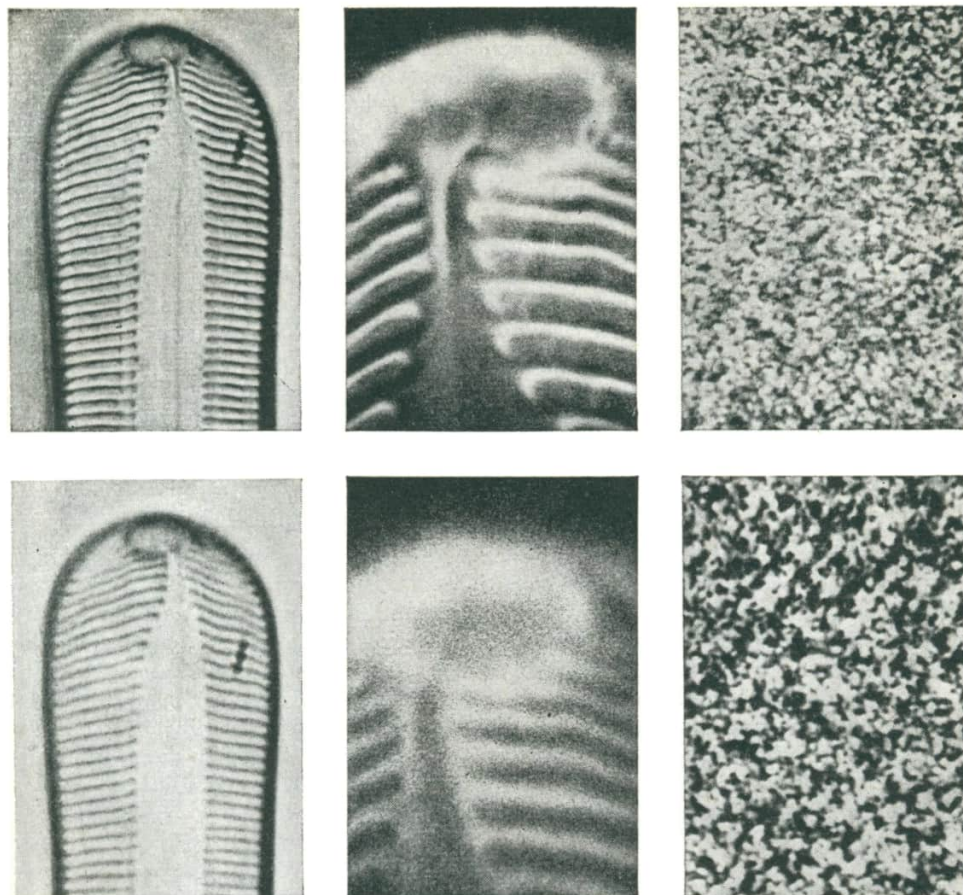


Abb. 97/1 Körnigkeit, Kontrast und Auflösungsvermögen von Filmen verschiedener Empfindlichkeit (oben ORWO NP 15, unten ORWO NP 27), Aufnahme, Entwicklung und Vergrößerung unter gleichen Bedingungen. Wiedergabe der Schalenstruktur der Diatomee *Pinnularia* sp. als Positiv (links; 200 : 1/360 : 1), Körnigkeit des Negativs (Mitte; 10 : 1/18 : 1) und Größe des Silberkorns (rechts; 340 : 1/600 : 1)

Für die Mikrofotografie spielt die Körnung des verwendeten Aufnahmematerials eine wichtige Rolle. Das Auflösungsvermögen der Objektive bestimmt die Feinheit der gerade noch wiedergegebenen Strukturen. Leider reicht das Auflösungsvermögen der Silberteilchen in der fotografischen Emulsion nicht ganz an das der Mikrooptik heran. Es kommt also darauf an, möglichst feinkörnige Filme oder Platten zu verwenden. Äußerste Feinkörnigkeit muß vor allen Dingen dann verlangt werden, wenn das Negativ nachträglich stark vergrößert werden soll. Niedrig empfindliche Filme sind feinkörniger als hochempfindliche (s. Abb. 97/1). Höchstempfindliches Material wird ohne Rücksicht auf seine Grobkörnigkeit nur dann verwendet, wenn es darauf ankommt, Momentaufnahmen von sich bewegenden Objekten anzufertigen.

Aufnahmematerial für Mikrofotos muß lichthoffrei arbeiten, damit es bei kontrastreichen Vorlagen nicht zu Überstrahlungen kommt (Lichthofbildung).

Als bestes Material für mikrofotografische Zwecke kann eine orthopanchromatische oder panchromatische, möglichst feinkörnige und lichthoffreie Emulsion geringer bis mittlerer Empfindlichkeit empfohlen werden.

Ob man die Filme selbst entwickelt und auch die Positive selbst herstellt, hängt von der jeweils vorhandenen Ausrüstung ab. Die besten Ergebnisse werden zweifellos dann erreicht, wenn der ganze Arbeitsgang von der Herstellung des Präparats bis zum fertigen Bild selbst durchgeführt werden kann. Bei der Entwicklung von Mikroaufnahmen ist zu beachten, daß die Größe des Silberkorns wesentlich durch die Wahl des Entwicklers beeinflußt werden kann. Geeignet sind Feinkornentwickler (ORWO F 43) oder Feinstkornentwickler (ORWO A 49). Negative von kontrastarmen Vorlagen entwickelt man besser in Feinkornentwicklern (steilere Gradationskurve), sehr kontrastreiche Negative in Feinstkornentwicklern (flachere Gradationskurve). Für die sonstigen Arbeiten in der Dunkelkammer gelten die allgemein üblichen Regeln.

## Unterrichtliche Nutzung

Gute Mikrofotografien als Diapositive oder Papierbilder sind in jedem Fall geeignet, den Unterricht zu beleben. Die Dia-Projektion kann zum Auswerten beim mikroskopischen Zeichnen herangezogen werden. Selbstverständlich kann auch nach dem projizierten Bild gezeichnet werden. Es ist beispielsweise auch sehr anschaulich, eine Aufnahmeserie zu einem bestimmten Stoffgebiet auf einem Karton zusammenzustellen und so lange im Biologieraum hängen zu lassen, wie das betreffende Gebiet bearbeitet wird. Auch Klassensätze von Schwarz-Weiß-Abzügen haben sich bewährt.

Den Umweg über die Mikrofotografie wählt man vor allen Dingen dann, wenn die direkte Beobachtung durch die Schüler schwer oder nicht möglich ist. Mikrofotografien sind eine wertvolle Bereicherung der Unterrichtsmittelsammlung.

## Mikroprojektion

### *Grundsätzliches*

Für unterrichtliche Zwecke ist die Projektion mikroskopischer Frisch- und Dauerpräparate bedeutungsvoll. (Zur Benutzung von Mikroprojektionsverfahren bei der Herstellung mikroskopischer Zeichnungen s. S. 74.)

Die optischen Grundlagen der Mikroprojektion entsprechen denen der Mikrofotografie. Allerdings ist die Projektionsfläche im allgemeinen weiter vom Mikroskop entfernt als bei der Mikrofotografie.

Eine befriedigende Mikroprojektion wird nur erreicht, wenn die folgenden Hinweise beachtet werden:

– Sollen die Präparate mit genügender Helligkeit auf dem Bildschirm abgebildet werden, so muß eine sehr starke Lichtquelle zur Verfügung stehen. Optimale Bildhelligkeit wird nur erreicht, wenn das Bild der Lichtquelle den Durchmesser der Kondensorblende bei genauer Zentrierung auf die Mitte des Kondensors ganz ausfüllt.

Lichtwurfleuchten reichen nur für die Projektion auf kurze Entfernungen mit schwachen Vergrößerungen aus. Bogenleuchten erzielen eine wesentlich größere Lichtintensität. Moderne Projektionsleuchten sind mit hochleistungsfähigen Gasentladungslampen ausgerüstet.

– Zur Projektion werden Objektive bis zur Apertur 0,65 verwendet. Okulare können bis zu etwa 7facher Eigenvergrößerung verwendet werden. Für größere Projektionsentfernungen und zur Erzielung gut geebener Bilder werden Planachromate oder Apoachromate in Verbindung mit Projektionsokularen (Projektive, bis 5fach) benutzt.

– Die Scharfeinstellung wird durch Höhenverstellung des Tubus vorgenommen.

– Bei der Projektion macht sich die geringe Schärfentiefe mikroskopischer Bilder besonders unangenehm bemerkbar. Da unter den gegebenen Verhältnissen Kontrast und Schärfentiefe wesentlich sind als hohe Auflösung (s. u.), kann die Aperturblende weiter geschlossen werden als beim direkten Blick in das Mikroskop (soweit die Helligkeit das zuläßt!).

– Die obere Grenze der förderlichen Vergrößerung (= das 1000fache der n. A. des verwendeten Objektivs) kann im Projektionsbild ohne Bedenken weit überschritten werden, da dieses ja nicht im Abstand der deutlichen Sehweite von 25 cm, sondern aus mehreren Metern Entfernung betrachtet wird. Aus dem gleichen Grunde können hohe Objektivaperturen kaum ausgenutzt werden (Prinzip der subjektiven Vergrößerung).

– Bei der Projektion mit Okular sind kurze Projektionsabstände einzuhalten.

– Die Mikroprojektion ist wegen der erforderlichen Lichtstärke auf die Methode der Hellfeld-Durchlicht-Beleuchtung beschränkt.

– Als Projektionsfläche eignen sich weißer Karton oder eine einfache weiße Wand besser als Silberriffel- oder Perlwände (u. a. nur 30° Rückstrahlwinkel).

– Gewähr für die Erkennbarkeit des projizierten Bildes von allen Plätzen ist gegeben, wenn der Abstand zwischen der Projektionsfläche und den letzten Sitzplätzen nicht mehr als das 6fache des Projektionsbild-Durchmessers beträgt.

– Es ist vorteilhaft, die Schüler bei der Mikroprojektion zwanglos um das Projektionsgerät zu gruppieren.

– Kontrastreiche und in den Einzelheiten gut erkennbare Projektionsbilder sind nur bei Vollverdunklung des Raumes zu erzielen.

### *Mikroprojektionsgeräte*

#### **ROW-Kleinmikroskop-Projektor**

Dieses Gerät (s. Abb. 14/2) reicht auf Grund seiner technisch bedingten Grenzen nur zur Projektion von Präparaten mit relativ großen, gut überschaubaren Strukturen aus (z. B. Insekten und deren Teile, gefärbte botanische Schnittpräparate).

Das Kleinmikroskop wird – ohne Spiegel – auf die Projektionsleuchte geschraubt und kann mit einem Konterring in jeder notwendigen Stellung zur Drehachse festgelegt werden. Die allseitig dreh- und schwenkbar an einem Säulenstativ befestigte Projektionsleuchte ist mit einer 6V/30W-Lichtwurf Lampe in einem zentrierbaren Lampenhalter ausgestattet. Belüftungsöffnungen und ein Rubinglaszylinder leiten die Wärme ab. Ein verstellbarer, asphärischer Kollektor und ein Schlitz zur Aufnahme von Matt- bzw. Filterglasscheiben vervollständigen die Ausrüstung.

Normalerweise projiziert man bei waagerechter Projektorstellung mit dem Objektiv I oder den Objektiven I und II, aber ohne Okulartubus und Okular. Die folgende Übersicht bezieht sich auf die Projektion mit den Objektiven I und II und ohne Okular:

Projektionsabstand	Abbildungsmaßstab	Durchmesser des projizierten Bildes	maximaler Betrachtungsabstand
100 cm	85 : 1	etwa 30 cm	1,80 m
150 cm	120 : 1	etwa 40 cm	2,40 m
200 cm	160 : 1	etwa 55 cm	3,30 m
250 cm	200 : 1	etwa 65 cm	3,90 m
300 cm	235 : 1	etwa 80 cm	4,80 m

Bei der Projektion von Frischpräparaten wird mit senkrecht stehendem Projektor und aufgesetztem Projektionsprisma gearbeitet.

Beim mikroskopischen Zeichnen (s. S. 73) wird mit Okulartubus, Okular und Projektionsprisma in waagerechter Geräteanordnung gearbeitet (s. Abb. 74/1). Bei einem Abstand von 25 cm zwischen dem Zeichenkarton und der Mitte des Projektionsprismas entspricht das Größenverhältnis des Projektionsbildes dem Produkt aus Objektiv- und Okularvergrößerung (am Tubus ablesbar). Das projizierte Bild hat dann etwa 18 cm Durchmesser.

Die Scharfeinstellung erfolgt durch Verstellen des Haupttubus im Tubusträger.

Im Bereich ihrer technischen Möglichkeiten leistet diese einfache Mikroprojektions-einrichtung gute Dienste.

### Demonstrationsaufsätze

Bei manchen Unterrichtsthemen ist es erforderlich, einem größeren Kreis von Schülern sehr kleine Objekte zu demonstrieren. Steht eine entsprechend leistungsfähige Projektionseinrichtung nicht zur Verfügung, so kann man solche Objekte mit Hilfe der sogenannten Nahprojektion zeigen. Dabei wird unter Verwendung einer starken Lichtquelle (Mikroskopierleuchte) und unter Benutzung von Objektiv und Okular das Bild auf die etwa 25 cm vom Okular entfernte Mattscheibe des Demonstrationsaufsatzes projiziert und kann dann je nach Größe der Mattscheibe von einem kleinen Personenkreis gleichzeitig betrachtet werden. Man kann mit Demonstrationsaufsätzen stark vergrößerte Bilder zeigen und im unverdunkelten Raum demonstrieren. Ein Demonstrationsaufsatz läßt sich mit geringen Kosten selbst herstellen. Dazu wird lediglich eine Mattscheibe, dünnes Sperrholz und ein etwa 3 cm × 3 cm großer, oberflächenversilberter Spiegel benötigt.

Für Zeiss-Mikroskope steht ein Demonstrationsaufsatz zur Verfügung, der an Stelle des Beobachtungstubus auf den Tubusträgerkopf aufgesetzt werden kann (s. Abb. 101/1). Das mikroskopische Bild wird auf einen Bildschirm von 16 cm Durchmesser projiziert. Eine eingebaute Fresnellinse unterstützt die Entstehung eines lichtstarken, brillanten Bildes auch bei Verwendung stark vergrößernder Objektive bis etwa 40 : 1. Da der Demonstrationsaufsatz einen Maßstabsfaktor 10× aufweist, werden Schirmbild-

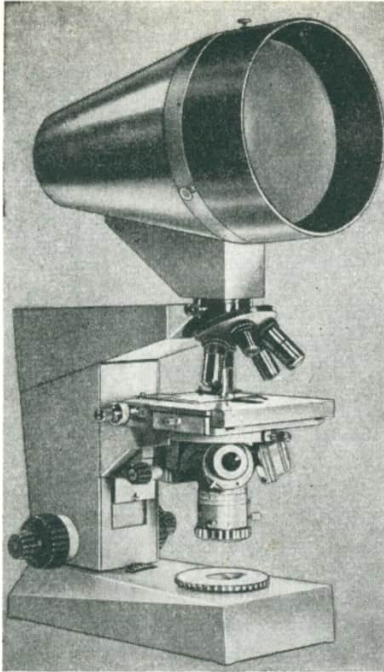


Abb. 101/1 Demonstrationsaufsatz  
10x des VEB Carl Zeiss JENA

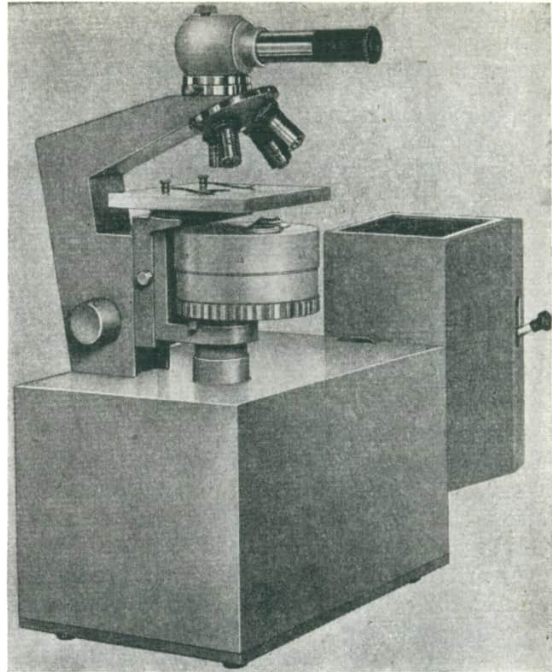


Abb. 101/2 Mikroprojektionsgerät PICTOVAL des  
VEB Carl Zeiss JENA

vergrößerungen bis etwa 400 : 1 erreicht, die aus bis zu einem Meter Entfernung betrachtet werden können. Im Rahmen der Projektionsscheibe sind Bohrungen für Tischfedern vorhanden. Man kann Folien mit Maßstabsteilungen oder Zählnetzen bzw. Transparentpapier zum Zeichnen des Objektivs vor dem Bildschirm befestigen.

Lichtschutz und Projektionsscheibe des Demonstrationsaufsatzes können leicht gegen einen Fotoeinsatz für Normalfalz-Kassetten 9 cm × 12 cm ausgewechselt werden. In den Demonstrationsaufsatz ist zur Belichtung ein einfacher Klappverschluß eingebaut. Für Aufnahmen sich bewegender Objekte ist diese Einrichtung nicht geeignet, da eine Beobachtungsmöglichkeit bis zum Auslösen des Verschlusses nicht gegeben ist.

## Große Mikroprojektionsgeräte

Alle Ansprüche, die der Unterricht der allgemeinbildenden Schule stellt, können durch große Mikroprojektionsgeräte über den gesamten Vergrößerungsbereich befriedigt werden.

Die rationelle Projektion mikroskopischer Präparate in vorzüglicher Qualität auch bei starken Vergrößerungen ermöglicht das Mikroprojektionsgerät PICTOVAL des VEB Carl Zeiss JENA (s. Abb. 101/2). Planobjektive (3,2/0,10; 6,3/0,16; 16/0,32; 40/0,65) in Verbindung mit Projektiven ergeben hervorragend gezeichnete Projektions-

bilder. Dadurch, daß jedem Objektiv ein Kondensator entsprechender Apertur zugeordnet ist, werden eine volle Ausnutzung des beleuchtenden Lichts und gesteigerte Bildhelligkeit im Projektionsbild erreicht. Es ist ein rascher Wechsel der Objektive und der entsprechenden Kondensoren möglich. Es werden Bilddurchmesser von 0,80 m bis etwa 4 m erreicht. Lichtquellen mit Gasentladungslampen können verwendet werden. Auch Frischpräparate können ohne Schädigung längere Zeit projiziert werden, da die Präparate optimal gegen Wärmestrahlung geschützt sind. Das formschöne Gerät läßt sich leicht bedienen und warten.

### *Hinweise für den Unterricht*

Mikroprojektionsgeräte können und sollen das individuelle Arbeiten und Beobachten mit dem Mikroskop nicht ersetzen, sie können es ergänzen.

Bei der Mikroprojektion stellen viele Lehrer zu hohe Anforderungen an die Leistungsfähigkeit der Geräte. Wer die Mikroprojektion methodisch richtig einsetzen will, muß sie nicht nur technisch beherrschen, sondern auch die Grenze ihrer Leistungsfähigkeit kennen und beachten. Dadurch wird vermieden, daß Versuche mit ungeeigneten Objekten vorgenommen werden. Protozoen oder gar Bakterien lassen sich nicht mit einer kleinen Mikroprojektionseinrichtung wiedergeben, während große Geräte auch einer solchen Aufgabe noch gewachsen sind.

# Grundsätzliches zur Herstellung von Präparaten

## Frischpräparat oder Dauerpräparat?

Um biologische Objekte mit dem Mikroskop untersuchen zu können, muß man von ihnen mikroskopische Präparate herstellen. Man unterscheidet zwischen **Frisch- und Dauerpräparaten**: Die Frischpräparate sind zu einmaligem, kurzfristigem Gebrauch bestimmt; Dauerpräparate sollen wichtige Merkmale der Objekte noch nach vielen Jahren klar und deutlich zeigen. Die Objekte werden deshalb in spezielle Mittel eingeschlossen und so vor dem Verderben geschützt.

Beide Arten von Präparaten haben Vor- und Nachteile. Der wesentlichste Vorteil der **Frischpräparate** ist, daß Organismen, Organe, Gewebe und Zellen im lebenden oder überlebenden Zustand untersucht werden können. Physiologische Vorgänge und morphologisch-anatomische Einzelheiten lassen sich an ihnen nahezu unverändert beobachten, da die Objekte in Frischpräparaten zunächst nicht mit Chemikalien in Berührung kommen. Darüber hinaus lassen sich an Frischpräparaten mikrochemische Reaktionen durchführen (z. B. Stärkenachweis durch Jod-Kaliumjodid-Lösung). Anschließend an diese Reaktionen liegen selbstverständlich nicht mehr die ursprünglichen Verhältnisse vor. Dadurch, daß Schüler das Untersuchungsmaterial selbst beschaffen und die Herstellung der Präparate beobachten können, gewinnen sie besonderes Interesse an ihnen.

Diesen Vorteilen der Frischpräparate stehen einige Nachteile gegenüber. Oft sind gerade die wichtigsten Teile eines Objekts im mikroskopischen Bild auf Grund mangelnder optischer Kontrastwirkung gar nicht oder nur schlecht sichtbar. So heben sich beispielsweise Zellkerne wenig vom Zellplasma ab, weil beide einen nahezu gleichen Brechungsindex aufweisen. Durch Vitalfarbstoffe läßt sich in manchen Fällen eine bessere Kontrastwirkung hervorrufen. Werden andere Farbstoffe bzw. Chemikalien (z. B. Eisessig) angewendet, um Kontraste zu erzeugen, so wird das Objekt dadurch verändert; es liegt kein Frischpräparat mehr vor.

Sollen im frontalen Unterricht mit voller Mikroskopausstattung gleiche Präparate beobachtet werden, so kostet es meist sehr viel Zeit, Frischpräparate in genügender Anzahl herzustellen bzw. herstellen zu lassen. Oft entspricht dann die kurze Nutzungszeit des Frischpräparats nicht dem großen Aufwand an Zeit und Mühe. Es kann dann günstiger sein, mit **Dauerpräparaten** zu arbeiten. Für Dauerpräparate sprechen weitere Gründe. Es kommt vor, daß Stoffgebiete in einer Jahreszeit bearbeitet werden müssen, in der geeignetes Untersuchungsmaterial nicht zu beschaffen ist. Oft ist das Material nicht dann verfügbar, wenn es benötigt wird (z. B. Trichine, Meerespolypen). Wichtige Lebensvorgänge, wie zum Beispiel Teilung und Konjugation des Pantoffeltierchens, lassen sich im Frischpräparat nur selten gerade dann zeigen, wenn es der Ablauf der Unterrichtsstunde verlangt. In diesen Fällen helfen Dauerpräparate zumindest so weit, daß sie einen typischen Zustand aus dem Ablauf des Vorgangs zeigen können. Wesentlichster Vorzug der Dauerpräparate ist, daß die eingeschlossenen Objekte durch künst-



liche Färbungen hervorragende Kontraste zeigen, so daß feinste Struktureinheiten der Zellen und Gewebe sichtbar werden. Dauerpräparate stehen unabhängig von Jahreszeit und Verfügbarkeit des Untersuchungsobjekts zur Verfügung. Einmal zum Präparieren aufgewandte Zeit und Mühe lohnen sich, da die Präparate bei sorgfältiger Herstellung Jahre und Jahrzehnte benutzt werden können. Die Benutzung von Dauerpräparaten im Unterricht ermöglicht große Zeitersparnis.

Der wesentlichste Nachteil der Dauerpräparate ist, daß die Objekte vor der Einbettung und Färbung fixiert, das heißt abgetötet werden müssen. Dabei lassen sich Veränderungen und Schädigungen der Objekte nicht verhindern. An Dauerpräparaten können keine histochemischen Reaktionen mehr durchgeführt werden. Die Schüler zeigen für Dauerpräparate zunächst nicht das Interesse, das sie selbsthergestellten Präparaten entgegenbringen. Es besteht außerdem die Gefahr, daß die künstlichen Färbungen bei ihnen zu verkehrten Vorstellungen und Schlußfolgerungen führen.

Beide Präparatengruppen ergänzen sich in ihren Eigenschaften. Es empfiehlt sich, jedes Objekt zunächst in unverändertem Zustand im Frischpräparat zu untersuchen und zu zeichnen. Erst dann sind die Voraussetzungen für die Anfertigung und kritische Beobachtung eines Dauerpräparats gegeben. Da Schüler und Jugendliche besonders lebenden Organismen großes Interesse entgegenbringen, sollte im Unterricht so oft wie möglich mit Frischpräparaten gearbeitet werden. Oberschulen müssen außerdem über eine auf die Lehrplanforderungen abgestimmte Sammlung guter Dauerpräparate in Klassensätzen und zur Einzeldemonstration verfügen. Fertigt der Lehrer diese Dauerpräparate selbst an, so vertieft er sein Wissen und kann den Lehrstoff wesentlich eindrucksvoller vermitteln, als wenn er gekaufte Präparate vorführt. Er kann außerdem die Objekte nach dem Lehrplan auswählen und von vornherein so viele gleiche Präparate herstellen, wie er für seinen Unterricht benötigt. Beim Herstellen der Präparate können biologische Arbeitsgemeinschaften dem Lehrer wertvolle Hilfe leisten. Die Teilnehmer bekommen dabei Einblicke in die Untersuchungsverfahren und erwerben sich zusätzliche Kenntnisse, Fähigkeiten und Fertigkeiten.

Leider ist es nicht immer möglich, die erforderlichen Dauerpräparate selbst anzufertigen. Vielfach ist das notwendige Material nicht zu beschaffen, häufig sind die Präparationen zu schwierig oder erfordern Einrichtungen und Apparate, die die Schule nicht besitzt. Müssen Präparate gekauft werden, so prüft man jedes daraufhin, ob es auch das Typische des betreffenden Objekts zeigt.

## Chemikalien

Sämtliche im folgenden Kapitel angegebenen Daten über Fixierung, Färbung, Einwirkungszeiten, Mengen usw. dienen der ersten Orientierung und sind als Durchschnittswerte aufzufassen. Auch der erfahrene Praktiker wird durch objektive Schwierigkeiten immer wieder zum Probieren gezwungen und muß bei vielen Objekten die günstigsten Verhältnisse selbst ermitteln.

Die mit <G> versehenen Chemikalien gehören zur notwendigen Grundausrüstung, mit <B> bzw. <Z> sind Chemikalien gekennzeichnet, die vorwiegend für botanische bzw. zoologische Objekte benötigt werden.

Die Chemikalien sind in einem verschließbaren Schrank in braunen Flaschen auf-

zubewahren. Bei der Beschriftung der Flaschen müssen die Bestimmungen des Giftgesetzes beachtet werden.

Bei Schülerübungen ist vor dem Umgang mit Chemikalien eine Unfallschutzbelehrung durchzuführen.

### *Untersuchungsflüssigkeiten für Frischpräparate*

Alle Objekte, die als Frischpräparate untersucht werden sollen, bleiben möglichst in der Flüssigkeit, in der sie leben. In einem Heu- oder Salataufguß gezüchtete Pantoffeltierchen untersucht man in der Kulturflüssigkeit; Darmparasiten des Gras- oder Wasserfrosches kommen in der Darmflüssigkeit, Daphnien, Algen und Mückenlarven im Tümpelwasser auf den Objektträger usw. Nur in Ausnahmefällen überführt man die Objekte in besondere Untersuchungsflüssigkeiten.

Wasser wird als Zusatz zu botanischen Schnitten verwendet. Vorzuziehen sind Brunnen- und Regenwasser, da sie kaum Kalzium enthalten. Leitungswasser wird abgekocht, dabei fällt Kalzium als Karbonat aus. Auf keinen Fall untersucht man lebende Protozoen, Zölenteraten, Würmer usw. sowie Teile von Tieren in ungekochtem Leitungswasser, da sonst die Objekte sofort mehr oder weniger stark geschädigt werden. Bei Pantoffeltierchen läßt sich beispielsweise eine starke Vergrößerung und unregelmäßige, meist stark beschleunigte Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen beobachten; rote Blutkörperchen erleiden Hämolyse usw. Man überführt lebende Organismen oder nichtfixierte Gewebe und Organe niemals in destilliertes Wasser, um Schädigungen der Objekte zu vermeiden.

Quittenkernschleim benötigt man zur Untersuchung von Protozoen, Rotatorien und anderen Objekten, die sich so schnell bewegen, daß die Beobachtung erschwert wird. Um die Bewegungen zu hemmen, setzt man der Untersuchungsflüssigkeit Quittenkernschleim zu. Einige Quittenkerne, in der Untersuchungsflüssigkeit kalt aufgequollen, machen das Wasser stark schleimig.

Physiologische Kochsalzlösung <Z> dient als Untersuchungsflüssigkeit für Organismen, die in Körperhöhlen von Tieren leben, für Gewebe und Organe und zur Verdünnung von Körperflüssigkeiten (z. B. Blut). Selbstverständlich muß die physiologische Kochsalzlösung mit den Untersuchungsobjekten isotonisch sein, damit keine Schädigungen eintreten. Zur Herstellung von Normalsalzwasser nimmt man reines Natriumchlorid und destilliertes Wasser, in den meisten Fällen genügt jedoch eine Lösung von Kochsalz in Brunnen- oder Regenwasser.

### Physiologische Kochsalzlösungen

Klassen	g Kochsalz auf 100 cm <sup>3</sup> destilliertes Wasser
Vögel und Säugetiere	0,9
Reptilien	0,8
Amphibien und Fische	0,5 bis 0,7

Filterte physiologische Kochsalzlösung ist lange Zeit haltbar, wenn man sie in einer gut schließenden Flasche aufhebt.

**Ringer- und Tyrode-Lösung** <Z> werden an Stelle der physiologischen Kochsalzlösung bei allen physiologischen Untersuchungen verwendet. Sie sind für die meisten Objekte günstiger als physiologische Kochsalzlösung.

**Ringer-Lösung:** Natriumchlorid (NaCl) 0,85 g (Warmblüter), 0,65 g (Kaltblüter)  
oder  
Kaliumchlorid (KCl) 0,025 g  
Kalziumchlorid (CaCl<sub>2</sub>) 0,03 g  
bidestilliertes Wasser 100 ml

Lösung der Salze in der angegebenen Reihenfolge. Die Lösung ist nicht haltbar und darf nicht abgekocht werden.

**Tyrode-Lösung:** Natriumchlorid 0,8 g  
Kalziumchlorid 0,02 g  
Kaliumchlorid 0,02 g  
Magnesiumchlorid 0,01 g  
Mononatriumphosphat 0,005 g  
Natriumkarbonat 0,1 g  
Traubenzucker 0,1 g  
bidestilliertes Wasser 100 ml

Lösung der Bestandteile in der angegebenen Reihenfolge. Die Lösung ist nicht haltbar und darf nicht gekocht werden. (Für die Untersuchung von Frischpräparaten notwendige Nachweis- und Vitalfärbemittel s. S. 115 ff.)

### *Betäubungsmittel*

Häufig muß man Lebewesen töten, um Untersuchungsmaterial zu gewinnen. Bei kleineren Tieren tötet meist schon das Fixierungsmittel. Größere Lebewesen werden zur Vermeidung von Tierquälereien vor dem Töten betäubt. Oft zieht man es vor, Tiere tief zu betäuben, anstatt sie sofort zu töten, weil dann viele Organe (Herz beim Frosch, Nephridien beim Regenwurm) noch nach längerer Zeit Lebensfunktionen zeigen.

Die Tiere betäubt man nicht im Beisein der Schüler; Schüler dürfen nicht mit Betäubungsmitteln umgehen!

**Diäthyläther** (Äther) ist ein schnell wirkendes Betäubungsmittel für luftatmende Tiere (zum Betäuben von Wassertieren ungeeignet!). Es ist sehr flüchtig und leicht brennbar. Mischungen von Ätherdämpfen mit Luft explodieren sehr leicht (feuersicher in gut verschlossener Flasche aufbewahren!).

Zur Betäubung legt man die Tiere unter einen Glassturz und stellt etwas Äther in einem Wägegläschen oder Blockschälchen dazu. Vielfach genügt auch ein äthergetränkter Wattebausch. Niemals wird Äther auf die Tiere gegossen. Ätherbetäubungen halten nicht sehr lange an, deshalb Vorsicht bei Sezierungsbungen! Nichts wirkt abstoßender auf Schüler als das Wiederaufleben eines schon teilweise seziierten Tieres.

**Chloroform** ist ebenfalls leicht flüchtig und brennbar. Es wirkt langsamer, aber nachhaltiger als Äther. Daher empfiehlt es sich, große luftatmende Tiere zuerst mit Äther vorzubetäuben und dann mit Chloroform nachzubetäuben! Vorsicht bei der Verwendung! Es dürfen keine Spritzer auf die Haut kommen, weil sie dadurch geschädigt wird! Chloroform ist lichtempfindlich und wird in braunen Flaschen im Giftschränk aufbewahrt. Es ist für Wassertiere ungeeignet!

**Chloreton** ist ein hervorragendes Narkotikum für Wassertiere. Man hält eine 0,5%ige wäßrige Lösung der weißen Kristalle vorrätig (haltbar!) und gibt nach Bedarf einige Tropfen in das Aufenthaltswasser der Tiere. Die Menge ist von der Größe der Tiere und der Wassermenge abhängig, in der sie sich befinden. Reaktionsfähigkeit der Tiere mit der Nadel prüfen, nach Aufhören der Reaktionen Tiere aus dem Chloretonwasser entfernen und eventuell töten.

**Äthylurethan (Urethan)** ist für die meisten Wassertiere, aber auch für Wirbeltiere (Injektion!) verwendbar. Es wird in 0,3- bis 10%iger Lösung vorrätig gehalten. Zur Betäubung von Wassertieren wird dem Wasser eine 0,3- bis 1%ige Lösung zugesetzt. Die Betäubung tritt – je nach Wassermenge und verwendeter Konzentration – nur langsam ein. Größeren Versuchstieren wird Äthylurethan in 10%iger Lösung subkutan oder intravenös injiziert bzw. oral oder rektal appliziert.

Kaninchen: 1,0 g/kg bis 1,2 g/kg subkutan bzw. oral; 120 mg/kg bis 300 mg/kg intravenös (Narkose tritt sofort ein und hält nur kurz an);

Meerschweinchen: 1,0 g/kg bis 1,2 g/kg subkutan bzw. oral;

Frosche: 1 ml bis 2 ml in den Brustlymphsack oder Urethan in Pulverform auf den feuchten Rücken streuen.

**Kohlendioxid** dient zur Betäubung sehr kontraktile Mikroorganismen, vor allem von Rotatorien. Viele Rädertierarten bewegen sich sehr schnell und können daher nicht genau untersucht werden. Betäubt man sie nicht, dann ziehen sie sich bei der Fixierung so stark zusammen, daß sie kaum noch zu Bestimmungsübungen verwendet werden können. Um Kohlendioxid zu gewinnen, läßt man Salzsäure auf Kreide, Marmor oder Kalkstein tropfen. Planktonen können dadurch betäubt werden, daß man frisches Selterswasser in die Untersuchungsflüssigkeit gibt.

Auch **Methylalkohol** kann Fangproben tropfenweise als Betäubungsmittel zugesetzt werden. Zur Betäubung empfindlicher Lebewesen (z. B. Bryozoen) werden mit Alkohol getränkte Fließpapierstreifen in die Aufenthaltsflüssigkeit gelegt.

**Chloralhydrat** dient als Betäubungsmittel für Wassertiere. Man hält die farblosen Kristalle oder eine 5%ige Lösung in destilliertem Wasser vorrätig. Diese Stammlösung wird dem Aufenthaltswasser zugesetzt oder die Kristalle werden auf die Wasseroberfläche gegeben. Die Tiere sofort nach der Betäubung entnehmen, da Chloralhydrat gleichzeitig als Aufhellmittel wirkt und Epithelien schnell zerstört.

**Magnesiumchlorid** ist vielseitig für Wassertiere verwendbar. Eine 33%ige Lösung wird dem Aufenthaltswasser langsam zugesetzt. Die Konzentration soll etwa 1% bis 2% (maximal 7%) Magnesiumchlorid betragen.

**Magnesiumsulfat** wird der Aufenthaltsflüssigkeit von Wassertieren in fester Form bis zur Sättigung zugesetzt. Man kann die zu betäubenden Organismen auch gleich in eine konzentrierte Lösung bringen.

**Essigsäure** wird zur Betäubung von Protozoen, Bryozoen und Rotatorien verwandt. Die Organismen werden in einem kleinen Wassertropfen mit schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop untersucht. Neben diesen Tropfen kommt ein Tropfen Essigsäure (keine Brücke!). Die Essigsäuredämpfe sollen etwa 1 min bis 5 min einwirken. Nach eingetretener Betäubung wird der Essigsäuretropfen entfernt. Die Betäubungsdauer beträgt etwa 2 min bis 15 min. Der Zusatz frischen Wassers unterstützt das Wiedererwachen der Organismen.

Alle Narkotika wirken auf Protozoen fast immer tödlich. Zu fixierende Organismen oder Teile von ihnen werden sofort nach Aufhören der Reaktionen der Wirkung der Narkotika entzogen, da sonst Schädigungen eintreten können.

## *Fixiermittel*

**Ziel und Bedeutung der Fixierung:** Biologische Objekte verändern sich innerhalb weniger Stunden nach dem Tode so stark, daß die feineren Strukturen keine Ähnlichkeit mehr mit den Strukturen im lebenden Protoplasma zeigen. Beispielsweise verliert das Gewebe der Nieren nach dem Tode schon innerhalb einer knappen Stunde seinen typischen Bau. Da die Präparate aber genaue Beobachtungen ermöglichen sollen, müssen die normalen Gewebezustände möglichst weitgehend erhalten bleiben. Zu diesem Zweck werden die feinen protoplasmatischen Strukturen während des Absterbens der Organismen oder sofort nach deren Tod fixiert.

Meist besteht die Fixierung in einer Fällung des Eiweißes. Dabei verliert das Plasma die Semipermeabilität seiner dünnen Häute, die bei lebendem Gewebe Färbungen mehr oder weniger verhindert. Wenn die Plasmagrenzschichten permeabel sind, können beispielsweise Farbstoffe und Nachweismittel ungehindert in die Zelle diffundieren. Nur Vitalfarbstoffe (s. S. 120 ff.) dringen befriedigend auch in lebende Zellen ein.

**Anforderungen an Fixiermittel:** Ein gutes Fixiermittel soll starke Eiweißfällungskraft und gutes Eindringungsvermögen haben; es darf die Masse des zu fixierenden Objekts nur in geringem Maße verändern. Vorteilhafterweise werden Fixiergemische verwendet, die durch ein Zusammenwirken ihrer verschiedenen Komponenten Nachteile einzelner Fixiermittel ausgleichen, also zu besseren Ergebnissen führen.

**Durchführen der Fixierung:** Das Fixieren muß schnell vor sich gehen! Die Flüssigkeiten dringen zuerst in die äußersten Teile eines Objekts ein. Um die inneren Partien bildet sich dabei leicht eine Art Rinde, so daß große Stücke schwer zu fixieren sind. Damit die Objekte gut durchfixiert werden, nimmt man nur Stücke bis zu höchstens 1 cm Seitenlänge. Bei Verwendung mancher Fixiermittel (vor allem sublimathaltiger Mittel) müssen die Objekte sogar noch kleiner sein (bis höchstens 0,5 cm Seitenlänge). Die zu behandelnden Stücke müssen völlig im Fixiermittel untertauchen. Bei sehr wasserhaltigen Objekten empfiehlt es sich, 50- bis 100mal soviel Fixierflüssigkeit zu verwenden, wie das Volumen der zu fixierenden Objekte beträgt. Diese dürfen nur so lange in den Flüssigkeiten bleiben, bis sie durchfixiert sind. Besonders sorgfältig sind hartchitinisierte Objekte zu fixieren, da sie sich bei ungenügender Fixierung noch nachträglich im Inneren durch Fäulnis verändern (vorher anstechen oder anschneiden!). Alle Fixiermittel werden während der Einwirkung mehrfach gewechselt. Tiere, die dazu neigen, sich zu kontrahieren (z. B. Süßwasserpolyphen, Strudelwürmer, Glockentierchen), legt man in ganz wenig Kulturflüssigkeit und überspritzt sie in möglichst gestrecktem Zustand mit 60 °C bis 70 °C heißen Flüssigkeiten (Organismen vorher betäuben, s. S. 106)! Luftblasen, die in Objekten eingeschlossen sind, können mit der Wasserstrahlpumpe oder durch Anstechen bzw. vorsichtiges Drücken entfernt werden.

**Fixierdauer:** Bevor man die notwendige Erfahrung hat, fixiert man vorsichtshalber lieber etwas zu lange als zu kurz! Längere Einwirkung kann bei manchen Objekten jedoch stark schaden. Die Dauer der Fixierung hängt von der Temperatur des Fixiermittels ab. Heiße Lösungen wirken wesentlich schneller und gründlicher als kalte. Fixiermittel dürfen nur im Wasserbad erhitzt werden!

**Auswaschen:** Nach der Fixierung müssen die Reste der Fixiermittel aus den Präparaten ausgewaschen werden. Die Wahl des Auswaschmittels hängt von der Art der Fixierflüssigkeit ab (genaue Angaben s. S. 114 f.). Es muß mit reichlichen Flüssigkeitsmengen ausgewaschen werden.

Gebrauchte Fixierflüssigkeiten können nicht wieder verwendet werden.

Die im folgenden genannten Fixiermittel dürften für alle mikroskopischen Präparationen in Schulen, Lehrerbildungsinstituten und die Belange des Naturfreundes ausreichen.

Der Anfänger benutzt zunächst vorwiegend die Fixierungen 1, 2, 9 und 10 (sie sind der besseren Übersicht wegen mit einem <G> gekennzeichnet) und arbeitet erst dann mit den anderen Mitteln, deren Anwendung schwieriger ist.

Sämtliche Fixiermittel sind Plasmagifte und müssen verschlossen aufbewahrt werden. Schüler dürfen nur unter Aufsicht und nach genauer Belehrung mit ihnen arbeiten. Glasgefäße sind nach Gebrauch sofort zu reinigen.

#### Fixierung 1: Alkohole <G>

Äthylalkohol (Äthanol) ist ein gebräuchliches und leicht anwendbares Fixiermittel, das sich für die Herstellung von Übersichtspräparaten aus pflanzlichem und tierischem Material eignet. Je nach dem Wassergehalt des zu fixierenden Objekts wird Alkohol von 60%, 75% oder 96%, in einigen Fällen auch absoluter Alkohol, verwendet. Da Alkohol den Objekten sehr schnell viel Wasser entzieht, werden stark wasserhaltige Objekte in niedrigprozentigen Alkohol gelegt.

Alkoholverdünnungen lassen sich mit Hilfe eines Meßzylinders herstellen. Soll 100%iger Alkohol auf 70% verdünnt werden, so gießt man 70 cm<sup>3</sup> Alkohol in den Meßzylinder und füllt mit destilliertem Wasser bis 100 cm<sup>3</sup> auf. Soll aus 96%igem Alkohol 30%iger hergestellt werden, so werden 30 cm<sup>3</sup> 96%iger Alkohol im Meßzylinder mit destilliertem Wasser auf 96 cm<sup>3</sup> aufgefüllt. Steht 70%iger Alkohol zur Verfügung und wird 50%iger benötigt, so füllt man 50 cm<sup>3</sup> 70%igen Alkohol mit destilliertem Wasser zu 70 cm<sup>3</sup> auf. Mit diesen 3 Beispielen dürfte das Prinzip erklärt sein. Zur Herstellung von Alkoholverdünnungen wird nur destilliertes Wasser verwendet, weil sich beim Verdünnen mit Leitungswasser oft Kalkschleier bilden. Alkohol und Wasser mischen sich von selbst nur sehr langsam; darum muß kräftig geschüttelt werden. Das Gemisch darf bei der Verwendung keine Schlieren mehr zeigen.

Die Alkoholstufen 30%, 60%, 75% und 96% dienen auch häufig zum Entwässern von Objekten, werden also viel gebraucht. Deshalb werden vier entsprechende Vorratsflaschen aufgestellt. Damit die Verdünnungsstufen gleich in den Flaschen hergestellt werden können, bringt man an jeder Flasche zwei Marken an. Die untere Marke gibt an, wieviel absoluter Alkohol in die Flasche gegossen, die obere, wie weit mit Wasser aufgefüllt werden muß. Die Marken können auf das Etikett gezeichnet werden.

Denaturierter Äthylalkohol (Brennspiritus) fixiert zwar für feinere Untersuchungen schlechter, kann aber für Schulzwecke verwendet werden. Benzinvergällter Äthylalkohol ist ebenfalls geeignet. Durch Zusatz stark hygroskopischer Mittel (z. B. ausgeglühtes Kupfersulfat) wird die meist nur 98- bis 99%ige Handelsware vollständig entwässert.

Alkohol muß gut verschlossen aufbewahrt werden, da er Wasser aus der Luft aufnimmt und dadurch niederprozentig wird. Alkohol hat als Fixiermittel den Nachteil, daß er große Tier- und Pflanzenteile durch plötzlichen Wasserentzug stark schrumpfen läßt (s. Abb. 110/1). Absoluter Alkohol wird vorzugsweise zur Fixierung kleiner wasserarmer Objekte benutzt. Alkohol löst aus pflanzlichen Geweben das Chlorophyll heraus und färbt sich dadurch grün. Wenn Trübungen oder Verfärbungen auftreten, ist die Fixierflüssigkeit sofort zu wechseln. Weiterhin löst Alkohol Fette aus den Objekten heraus. Sollen Fettgewebe präpariert werden, darf kein Alkohol verwendet werden.

Die Objekte werden je nach ihrer Größe 2 bis 24 Stunden lang fixiert. Nicht sofort weiterverarbeitete Teile dürfen nicht im Fixieralkohol bleiben, sondern werden in 70- bis 90%igem Alkohol konserviert. n-Propylalkohol („Optal“) wird für Fixierzwecke nicht verwendet!

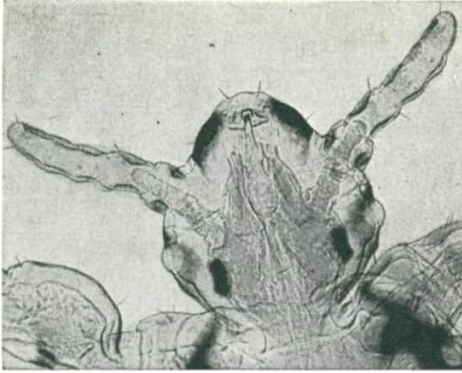


Abb. 110/1 Kleiderlaus (*Pediculus capitis*);  
 Protoplasmaschrumpfung nach schlechter  
 Alkoholfixierung (35 : 1/70 : 1)

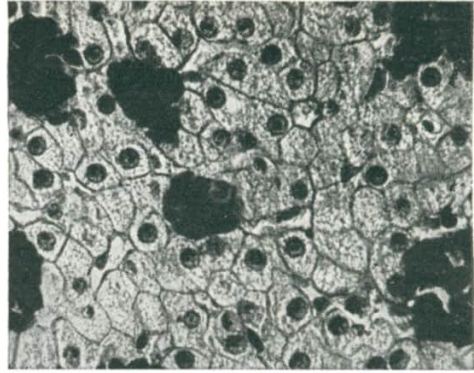


Abb. 110/2 Feuersalamander (*Salamandra  
 salamandra*); Leberschnitt mit Quecksilber-  
 niederschlag nach Sublimatfixierung (84 :  
 1/170 : 1)

Methylalkohol (Methanol) ist sehr billig. Er dient auf Grund seiner dazu geeigneten Oberflächenspannung als Fixiermittel für Ausstrichpräparate. Er wird auch bei der Herstellung von Arthropodenpräparaten verwendet und ist außerdem als Entwässerungs- und Lösungsmittel gebräuchlich. Man kann ihm nicht durch geglühtes Kupfersulfat Wasser entziehen, da sich Kupfersulfat im Methylalkohol löst. Bei Schülerübungen wird dieser sehr stark giftige Alkohol grundsätzlich nicht benutzt.

Alkohol wird vorzugsweise zum Fixieren von Arthropoden und widerstandsfähigen Pflanzenteilen benutzt. Darüber hinaus ist Alkohol ein unentbehrlicher Bestandteil vieler Fixiergemische, bei denen Zusätze seine nachteiligen Eigenschaften ausgleichen.

Größere Alkoholvorräte müssen feuersicher lagern, im Arbeitsraum dürfen sich nur kleine, zum sofortigen Verbrauch bestimmte Mengen befinden.

#### Fixierung 2: Formalin <G>

Formalin heißt die etwa 40%ige wäßrige Lösung des Formaldehyds. Das käufliche 35- bis 40%ige Formalin ist die Stammlösung. Es gibt stechend riechende Dämpfe ab, die die Schleimhäute stark reizen (Vorsicht bei der Verwendung!). Formalin ist giftig! Unverdünntes Formalin wird in braunen Flaschen lichtgeschützt aufbewahrt, um der Bildung von Paraformaldehyd, das als weißer Niederschlag ausfällt, vorzubeugen.

Formalin ist in Verdünnungen mit Aqua destillata ein sehr gutes, universell verwendbares, schnell eindringendes Fixiermittel für pflanzliche und tierische Objekte, das kaum Schrumpfungen hervorruft. Mit ihm können auch größere Objekte behandelt werden. Formalin zerstört Chlorophyll; Fette bleiben erhalten. Formalin erhält im Gegensatz zum Alkohol die natürlichen Farben der Objekte relativ gut. Auf Exkursionen verwendet man es gern zum Abtöten, Fixieren und Konservieren von Objekten, die sonst auf dem Transport Schaden erleiden würden. Es schadet nicht, wenn fixierte Objekte längere Zeit in schwachen Lösungen aufbewahrt werden. Nur durch wochenlange Einwirkung werden Gewebe stärker gehärtet.

Zum Gebrauch wird die 40%ige Stammlösung im Verhältnis 1 : 4 bis etwa 1 : 10 mit Aqua destillata verdünnt. Für zarte Objekte werden schwächere, für widerstandsfähigere Teile stärkere Lösungen benutzt. Zum Fixieren von Meerestieren verdünnt

man das Formalin mit Seewasser. In der Praxis wird einer Fangprobe einfach entsprechend viel Formalin zugesetzt. Auf genaues Einhalten der Konzentration kommt es dabei nicht an. Die fixierten Objekte werden nach beendeter Fixierung kurz und kräftig mit Wasser abgespült und dann doppelt so lange wie fixiert wurde in 96%igem Alkohol ausgewaschen.

In Formalin fixierte Objekte lassen sich mit fast allen Farbstoffen gut und haltbar färben. Formalin ist das Universalfixiermittel für den Anfänger und für die Arbeit in der Schule. Auch für wissenschaftliche Arbeiten (z. B. in der Pathologie) werden Formaldehydlösungen verwendet. Formalin ist wesentlicher Bestandteil vieler Fixiergemische.

#### Fixierung 3: Essigsäure

100%ige Essigsäure erstarrt bereits bei 16,5 °C zu einer kristallinen Masse. Die käufliche konzentrierte Essigsäure ist gewöhnlich 96- bis 99%iger „Eisessig“. Sie wird meist in Fixiergemischen verwendet und fixiert vor allem die Kerne gut. Eisessig ist der wesentlichste Bestandteil wichtiger Farbfixierlösungen (s. S. 121 ff.). Vorsicht beim Gebrauch, Eisessig ist ätzend und stark wasseranziehend; stets gut verschlossen aufbewahren!

#### Fixierung 4: Pikrinsäure (Trinitrophenol)

Die gelblichen Kristalle werden in Aqua destillata gelöst. In der Flasche muß ein ungelöster Bodensatz bleiben. Diese kaltgesättigte, wäßrige Pikrinsäurelösung fixiert, wirkt entkalkend, dringt relativ gut ein und eignet sich gleich gut für tierische und pflanzliche Objekte. Gesättigte alkoholische Pikrinsäurelösung wird ebenfalls häufig verwendet.

Wäßrige konzentrierte Lösung soll zur Fixierung etwa 24 Stunden einwirken. Die Entkalkung geht nur langsam vor sich und dauert oft wochenlang. Schädigungen zarter Gewebe lassen sich daher bei Objekten, die Knochen enthalten, kaum vermeiden. Pikrinsäure färbt bei der Fixierung die Gewebe stark gelb. Das wirkt sich jedoch nicht nachteilig aus. Man wäscht in 70%igem Alkohol, der oft gewechselt werden muß, so lange aus, bis der Alkohol farblos bleibt. Durch Zusatz von Lithiumkarbonat zum Alkohol wird das Auswaschen der Säurereste beschleunigt. Wasser darf zum Auswaschen nicht verwendet werden, da sich Pikrinsäurefällungen teilweise in Wasser lösen und in den Objekten Strukturvergrößerungen hervorrufen. Vollständig läßt sich die Pikrinsäure nicht entfernen; das ist auch nicht erforderlich.

Nach Pikrinsäurefixierungen ergeben alkoholische Hämatoxylin- und Karminfarbstoffe die besten Färbungen. Besser als reine Pikrinsäure eignen sich pikrinsäurehaltige Gemische als Fixiermittel.

#### Fixierung 5: Quecksilberchlorid (Sublimat) <Z>

Quecksilberchlorid ist stark giftig; es muß stets unter Verschuß bleiben und darf bei Schülerübungen nicht verwendet werden. Auch schwache Sublimatlösungen dürfen nie in Wunden kommen. Nach wiederholten leichten Vergiftungen stellen sich schwere Schädigungen ein. Ungeschützte Metallinstrumente werden durch Sublimatlösungen stark angegriffen. Daher werden Instrumente aus Glas oder Horn verwendet. Metallinstrumenten gibt man durch Eintauchen in geschmolzenes Paraffin einen schützenden Überzug.

Sublimat wird als gesättigte Lösung in 0,75%iger Kochsalzlösung vorrätig gehalten. Man bringt 1000 cm<sup>3</sup> destilliertes Wasser (+ 7,5 g NaCl) zum Kochen, stellt die Flamme ab, gibt 60 g Sublimat dazu, schwenkt von Zeit zu Zeit um und läßt erkalten. Am Boden der Flasche setzen sich Kristallnadeln ab.



Diese gesättigte wäßrige Sublimatlösung fixiert sowohl in kaltem als auch in heißem Zustand. Da jedoch Sublimatlösung schwer eindringt, sollen nur sehr kleine Stücke bis höchstens 0,5 cm Kantenlänge damit fixiert werden. Die Fixierung wird so lange fortgesetzt, bis die Objekte auch innen weiß gefärbt sind (nach etwa 5 bis 6 Stunden). Zu lange Fixierung ist schädlich. Die Objekte werden mit Wasser (möglichst Aqua destillata) abgespült und in 70%igem Alkohol ausgewaschen.

Bei Fixierung mit Sublimatlösung oder sublimathaltigen Fixierungsgemischen entstehen oft schwarze bis schwarzbraune Quecksilberniederschläge in den Geweben, die die spätere Untersuchung sehr stören und zu Fehldeutungen Anlaß geben können (s. Abb. 110/2). Außerdem lassen sich Präparate nur dann gut und haltbar färben, wenn diese Niederschläge restlos beseitigt sind. Darum wird dem zum Auswaschen dienenden Alkohol Jod-Kaliumjodid-Lösung zugesetzt, bis er Teefarbe zeigt. Solange die Braunfärbung verschwindet, ist der Zusatz zu wiederholen. Da Jod-Kaliumjodid-Lösung auch einen Teil der Sublimatfällungen lösen kann, darf die Jodbehandlung nicht länger ausgedehnt werden, als für die Beseitigung der Niederschläge notwendig ist. Jod beeinträchtigt ebenfalls stark die Färbbarkeit. Deshalb muß anschließend mit Alkohol (mehrmals wechseln!) ausgewaschen werden, dem anfangs einige Tropfen Fixiersalzlösung (Natriumthiosulfat) zugesetzt werden. Sublimat ist ein hervorragendes Fixiermittel, es ist aber nicht ganz einfach anzuwenden.

#### Fixierung 6: Trichloressigsäure <Z>

Sie ist in 5- bis 10%iger wäßriger Lösung ein gutes Entkalkungs- und Fixiermittel. Für die Fixierung wirbelloser Tiere kann die Wirkung durch Zusatz von 5%iger Essigsäure im Verhältnis 1 : 1 verbessert werden. Die Fixierung dauert 1 bis 24 Stunden je nach Größe des Objekts. Das Auswaschen erfolgt in 70- bis 96%igem Alkohol (mindestens 24 Stunden).

#### Fixierung 7: Chromsäure <B> <Z>

Man hält eine 1%ige Lösung in Aqua destillata vorrätig. Chromsäurelösung ist stark giftig! Sie dient in Gemischen als hervorragendes Fixiermittel für tierische und ganz besonders für pflanzliche Objekte (s. Fix. 15). Zusatz von Eisessig verbessert die Wirkung. Zu 70 cm<sup>3</sup> 1%iger Chromsäurelösung werden 5 cm<sup>3</sup> Eisessig und 90 cm<sup>3</sup> Wasser gegeben. Chromsäure soll bis 24 Stunden einwirken und wird mit Wasser ausgewaschen.

#### Fixierung 8: Kaliumbichromat <Z>

Die roten, prismenförmigen Kristalle lösen sich bei Zimmertemperatur in destilliertem Wasser im Verhältnis 1 : 10. Man stellt sich eine gesättigte Lösung her. Kaliumbichromat findet ausschließlich in Fixiergemischen Verwendung (s. Fix. 16).

Fixiergemische wirken besser als die bisher genannten einfachen Fixierflüssigkeiten. Schon nach kurzer Übung zeigt die Praxis, welches Gemisch man nehmen muß, um ein bestimmtes Ziel zu erreichen. Alle sind gut haltbar und können in großen Vorratsflaschen aufgehoben werden.

#### Fixierung 9: Alkohol-Formalin <G>, Alkohol-Formalin-Eisessig <G> <B> <Z>

Auf 2 Teile 80%igen Alkohol kommt 1 Teil 40%iges Formalin. Das für botanisches und zoologisches Material verwendbare Gemisch soll 1 bis 2 Tage einwirken. Anschließend wäscht man mit 80%igem Alkohol gründlich aus, bis kein Formalingeruch mehr auftritt. Das Gemisch ist besonders geeignet für Eier und kleine Embryonen. Als Universalfixierung für zoologisches, vor allem aber botanisches Material gilt Alkohol-Formalin-Eisessig im Verhältnis 60 : 40 : 2.

#### Fixierung 10: Carnoysches Gemisch (Alkohol-Chloroform-Eisessig) <G> <B> <Z>

Absoluter Alkohol, Chloroform und Eisessig werden im Verhältnis 6 : 3 : 1 gemischt.

Carnoysches Gemisch ist eines der besten Fixiermittel und dringt sehr schnell in pflanzliche und tierische Objekte ein.

Bei der Fixierung von Arthropoden, für die sich das Gemisch ganz besonders eignet, soll es heiß einwirken. Die Erwärmung erfolgt im Wasserbad! Die Einwirkungszeit soll 10 Minuten bis 30 Minuten, höchstens jedoch 3 Stunden betragen. Bei längerer Einwirkung schrumpfen die Objekte stark und werden zu hart. Danach wird etwa 24 Stunden lang in 96%igem oder absolutem Alkohol, zumindest aber bis zum völligen Verschwinden des stechenden Geruchs der Essigsäure (Alkohol mehrfach wechseln!) ausgewaschen.

**Fixierung 11: Bouins Gemisch (Pikrinsäure-Formalin-Eisessig) <B> <Z>**

Gesättigte wäßrige Pikrinsäure, 30%iges Formalin und Eisessig werden im Verhältnis 15 : 5 : 1 gemischt. Dieses hervorragende und einfach zu handhabende Gemisch dient in der Botanik zum Fixieren von Kernen und Zellteilungsvorgängen, ist aber auch für Amphibien und Protozoen sowie viele andere tierische Objekte sehr gut geeignet. Die Fixierung dauert 2 bis 24 Stunden, auch tagelange Einwirkung schädigt selbst Protozoen nicht. Allerdings werden bei sehr langer Einwirkung Gewebe stark gehärtet. Pflanzliche Objekte können bis zu einer Woche in dem Gemisch liegen, Entkalken dünner Knochen dauert etwa 2 bis 4 Wochen. Ausgewaschen wird in 70%igem Alkohol (s. Fix. 4), der mehrmals gewechselt wird.

**Fixierung 12: Sublimat-Alkohol nach Schaudinn <Z>**

Sublimat-Alkohol enthält absoluten Alkohol und wäßrige, gesättigte Sublimatlösung im Verhältnis 1 : 2 sowie einige Tropfen Eisessig. Er dient vorzugsweise zum Fixieren von Protozoen und wird vor der Verwendung im Wasserbad auf 60 °C bis 70 °C erhitzt. Die Fixierungsdauer beträgt 12 bis 24 Stunden. Das Auswaschen erfolgt in 70- bis 90%igem Alkohol; eventuell Jodzusatz verwenden (s. Fix. 5).

**Fixierung 13: Zenkersche und Hellysche Flüssigkeit <Z>**

Lösen von 2,5 g Kaliumbichromat, 1 g Natriumsulfat und 5 g Sublimat in 100 cm<sup>3</sup> Aqua destillata ergibt die Stammlösung. Das Gemisch erhält kurz vor der Benutzung einen Zusatz von 5 cm<sup>3</sup> Eisessig (Zenkersche Flüssigkeit). Zur Fixierung von Protozoen können 5 cm<sup>3</sup> Formalin (Hellysche Flüssigkeit) den Eisessig ersetzen. Zenkersche Flüssigkeit ist für fast alle Objekte und Färbungen geeignet; sie fixiert sehr gut Kernfiguren. Lediglich stark wasserhaltige Teile sollen nicht in diese Mischung gelangen. Man fixiert 1 bis 24 Stunden und wäscht dann ebensolange in fließendem Wasser aus. Dazu kommen die Objekte in eine Glasröhre, deren unteres aufgeweitete Ende mit Seidengaze zugebunden ist. Das obere Ende wird mit einem Schlauch an den Wasserhahn angeschlossen. Der Wasserhahn wird nur wenig aufgedreht. Noch vorteilhafter arbeitet es sich mit einem zugebundenen Trichter. Härtung und Entwässerung in den Alkoholstufen sollen unter Lichtabschluß vor sich gehen. Dies gilt für alle Gemische, die Chromsäure in irgendeiner Form enthalten (z. B. Fix. 15).

**Fixierung 14: Susa <Z>**

Auf 80 cm<sup>3</sup> destilliertes Wasser kommen 4,5 g Sublimat, 0,5 g Kochsalz, 2 g Trichloroessigsäure (krist.), 20 cm<sup>3</sup> Formalin sowie 4 cm<sup>3</sup> Eisessig. Susa ist ein universell verwendbares Gemisch. Es wird vorteilhafterweise warm (40 °C bis 70 °C) gebraucht.

Die sich durch das Formalin nach längerem Stehen bildenden Niederschläge sollen vor der Verwendung abfiltriert werden. Eine Nachbehandlung der fixierten Objekte mit Jod-Kaliumjodid-Lösung erübrigt sich bei diesem Fixierungsgemisch, obwohl es Sublimat enthält. Meist entstehen keine Quecksilberniederschläge. Sollte es doch einmal vorkommen, so werden die aufgeklebten Schnitte (s. S. 178) mit Jod behandelt.

Je nach Größe und Konsistenz der Objekte dauert die Fixierung 1 bis 24 Stunden. Etwa die gleiche Zeit wird in 90%igem Alkohol ausgewaschen (mehrfach wechseln).

**Fixierung 15: Nawaschinsches Gemisch <B>**

Das Nawaschinsche Gemisch besteht aus 1%iger Chromsäure und Eisessig im Verhältnis 10 : 1. Elf Teilen dieses Grundgemisches setzt man kurz vor der Verwendung 4 Teile 30%iges Formalin zu.

Das Nawaschinsche Gemisch ergibt vor allem bei botanischen Objekten vorzügliche Ergebnisse, besonders bei Meristemen in Vegetationskegeln und Wurzelspitzen. Man fixiert etwa 24 Stunden. Dabei schlägt der zunächst rötlichbraune Ton der Flüssigkeit in Grün um, da durch Reduktion aus 6wertigem Chrom 3wertiges entsteht. Nach dem Fixieren wird etwa zwei Stunden lang mit fließendem Wasser ausgewaschen und anschließend mit Alkoholstufen entwässert, wobei Lichtzutritt verhindert werden muß (s. Fix. 13).

**Fixierung 16: Kaformazet (Kaliumbichromat-Formalin-Essigsäure) <Z> <B>**

Da sich die fertige Lösung nicht lange hält, mischt man erst unmittelbar vor der Benutzung 85 cm<sup>3</sup> 3%ige Kaliumbichromatlösung mit 10 cm<sup>3</sup> Formalin und 5 cm<sup>3</sup> Eisessig. Dieses Gemisch ermöglicht vorzügliche Ergebnisse bei tierischen, aber auch bei pflanzlichen Geweben (z. B. bei Thallophyten).

Bis 1 cm dicke Stücke sollen etwa 6 bis 24 Stunden in dem Gemisch bleiben. Sofort nach beendeter Fixierung wird mit mehrmals gewechselter 5%iger Lösung von Lithium- oder Natriumsulfat ausgewaschen. Das verhindert bei tierischen Objekten, daß das Bindegewebe quillt. Dann wird 24 Stunden lang mit Wasser endgültig ausgewaschen.

**Übersicht über wichtige Fixierflüssigkeiten**

Fixierflüssigkeit	Zusammensetzung, Konzentration, Einwirkungs-dauer	Eigenschaften	Auswaschen	Bemerkungen
Äthylalkohol	60- bis 100%ig; 2 bis 24 Stunden	dringt in Stücke bis 5 mm Dicke schnell ein, starke Schrumpfung durch Wasserentzug, zieht Chlorophyll u. a. Farbstoffe aus, löst Fette und Lipide	nicht erforderlich	besonders geeignet für verholzte Pflanzenteile und Arthropoden; Konservierungsmittel auf Exkursionen
Formalin	40%ige Stammlösung, 1 : 4 bis 1 : 10 verdünnt; einige Minuten bis mehrere Wochen	dringt schnell ein, Schrumpfung unbedeutend, entzieht Chlorophyll; andere Farbstoffe, Fette, Lipide bleiben erhalten	abspülen mit Wasser, auswaschen mit 96%igem Äthylalkohol (oft wechseln)	Universalfixierungsmittel für Anfänger und Konservierungsmittel auf Exkursionen

Äthyl- alkohol- Formalin- Eisessig	60 Teile 80%iger Äthylalkohol, 40 Teile 40%iges Formalin und 2 Teile Eisessig; 1 bis 2 Tage	dringt auch in größere Objekte schnell ein, Schrumpfung gering bis mit- tel, entzieht Chlorophyll u. a. Farbstoffe, Fette und Lipide	mit 80%igem Äthylalkohol (oft wech- seln)	Universalfixier- mittel, besonders geeignet für Eier, Embryonen, Kern- u. Plasma- strukturen; Kon- servierungs- mittel auf Exkur- sionen
Carnoy- sches Ge- misch	6 Teile absolu- ter Äthylalko- hol, 3 Teile Chloroform und 1 Teil Eisessig; 10 bis 30 Minu- ten, nicht über 3 Stunden	dringt auch in widerstands- fähige Objekte sehr schnell ein (besonders bei heißer Anwen- dung), bei lan- ger Anwendung starke Schrump- fung und Här- tung, löst Chlo- rophyll und Fette	mit 96%igem oder absolu- tem Äthyl- alkohol (24 Stunden)	vorzügliche Er- haltung von Kernstrukturen, besonders geeig- net für Arthro- poden; bei heißer Anwendung im Wasserbad er- hitzen
Bouins Gemisch	15 Teile gesät- tigte wäßrige Pikrinsäure, 5 Teile 30%iges Formalin und 1 Teil Eisessig; 2 bis 24 Stun- den	dringt schnell ein (besonders bei heißer An- wendung), Schrumpfung gering, wirkt ent- kalkend, Fette und Lipide werden ange- griffen, lange Einwirkung wirkt härtend	mit 70- bis 80%igem Äthylalkohol (oft wech- seln)	Universalfixier- mittel, besonders geeignet für Kern- und Plas- mastrukturen (Teilungsvor- gänge) und Em- bryonen; bei hei- ßer Anwendung im Wasserbad er- hitzen

*Mittel zur Vorbehandlung, Aufhellung und Konservierung; Nachweis-Reagenzien*

Destilliertes Wasser (Aqua destillata) wird häufig als Lösungs- und Verdünnungsmittel benötigt. Es ist in Drogerien oder Apotheken erhältlich. Destilliertes Wasser wird in großen Weithalsflaschen aufgehoben, die dunkel stehen sollen. Lebende Organismen werden in Aqua destillata geschädigt!

Eau de Javelle (Kaliumhypochloritlösung) <B> muß dunkel aufbewahrt werden. Es hält sich nicht lange und ist stets frisch zu beschaffen. Selbstherstellung lohnt nicht.

Eau de Javelle dient zur Aufhellung pflanzlicher Teile. Es zerstört das Protoplasma, wird also zur Herstellung reiner Membranpräparate benutzt. Mit Eau de Javelle auf-

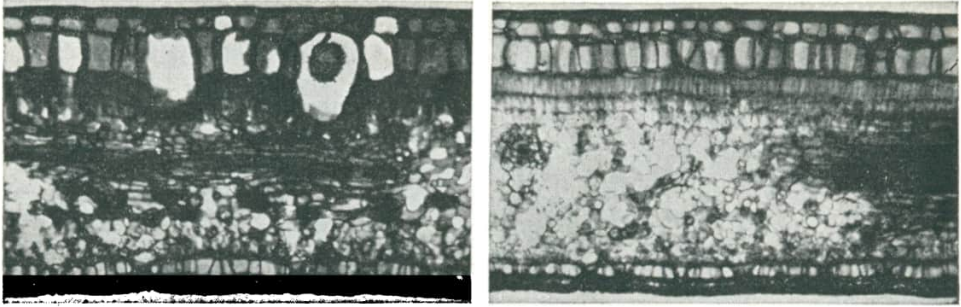


Abb. 116/1 Gummibaum (*Ficus elastica*); Handschnitt, Blatt quer. Links nicht aufgehellt, rechts mit Eau de Javelle aufgehellt (28 : 1/50 : 1)

gehellte Schnitte pflanzlichen Materials geben besonders nach Hämalanfärbung sehr klare und übersichtliche Bilder (s. Abb. 116/1). Eau de Javelle soll einwirken, bis die Objekte völlig weiß geworden sind. Dann wird gründlich mit Wasser ausgewaschen, dem eine Spur Essigsäure zugesetzt wurde. Eau de Javelle ist ein geeignetes Mittel zur Entfernung der Gallertüllen bei Lurchiern und zur Entfärbung.

**Kalilauge** ist eine etwa 20- bis 30%ige Lösung von Kaliumhydroxid in destilliertem Wasser. Sie wird häufig als Mazerations- und Aufhellungsmittel bei der Herstellung tierischer und pflanzlicher Präparate benötigt. Kalilauge hat quellende Wirkung und macht dadurch die Objekte durchsichtiger.

Kalilaugeflaschen sind stets gut mit Gummistopfen zu verschließen, da sich bei Luftzutritt durch  $\text{CO}_2$ -Aufnahme Kaliumkarbonat bildet, das in weißlichen Niederschlägen ausflockt und die Stopfen der Aufbewahrungsflaschen festkittet. Verdünnte Lauge hellt stärker auf als konzentriertere. Durch Erhitzen wird die notwendige Einwirkungszeit bedeutend verkürzt. Vorsicht, Kalilauge „stößt“ beim Erhitzen (s. S. 149)! Statt Kalilauge kann auch Natronlauge verwendet werden. Nach Kalilaugebehandlung sind die Objekte gründlichst auszuwaschen (s. S. 149, Abb. 150/2). Zur Neutralisation werden den Auswaschflüssigkeiten (Wasser oder Alkohol) einige Tropfen Salzsäure zugesetzt.

**Diaphanol** (Chlordioxidessigsäure) <Z>, eine gelbliche Flüssigkeit, leistet als Bleich- und Aufweichmittel hervorragende Dienste. Es entfernt Farbstoffe und Pigmente. Es hat Tiefenwirkung, ohne die Strukturen der Gewebe anzugreifen. Zum Bleichen werden die fixierten Objekte aus 65%igem Alkohol in das Diaphanol gebracht, das sich dabei langsam entfärbt. Farbloses Diaphanol wirkt nicht mehr (wechseln!). Die gebleichten Objekte werden in 65%igem Alkohol ausgewaschen.

Diaphanol erweicht Chitin und andere tierische Hartsubstanzen wie Keratin, Tunizin usw. (z. B. Nagelsubstanz, Horn der Hufe, Igelstacheln).

Lebende Gewebe sind vor dem Einlegen in aufhellende Mittel mit Äthylalkohol abzutöten, weil sonst durch Plasmolyse starke Veränderungen in den Objekten auftreten können.

**Salpetersäure** <Z> (handelsübliche konzentrierte Salpetersäure ist 69,2%ig) wird als Entkalkungsmittel für Gewebe benutzt, die Knochen enthalten (Geruchs-, Gehörorgan) und geschnitten werden sollen. Dazu muß die Säure in 5%iger wäßriger Lösung einwirken. Zur Herstellung der Lösung gibt man zu 100  $\text{cm}^3$  Wasser etwa 7,5  $\text{cm}^3$  konzentrierte Salpetersäure. (Die durch gelöstes  $\text{NO}_2$  gelb bis rotbraun gefärbte hochkonzentrierte, rauchende Salpetersäure mit 99% Säuregehalt wird besser nicht benutzt.)

Ob die Objekte völlig entkalkt sind, läßt sich leicht durch vorsichtiges Einstechen mit einer Nadel prüfen. Nach dem Entkalken wird in 5%iger Natriumsulfatlösung ausgewaschen, bis das Waschwasser Lackmuspapier nicht mehr rötet und anschließend etwa 1 bis 2 Tage gewässert.

Salpetersäure in Verbindung mit Kaliumchlorat dient zum Mazerieren verholzter Gewebe.

Silbernitrat <Z>, muß sowohl als reines Salz wie als 2%ige Lösung in braunen Flaschen dunkel aufbewahrt werden. Imprägnationen mit Silber dienen vorwiegend der Darstellung von Zellgrenzen und Nervengeweben. Zellen und Gewebe imprägnieren sich nach Behandlung mit Silbernitratlösung braun, weil sich durch das Licht reduziertes salpetersaures Silber absetzt. Bei der Arbeit mit Silbersalzlösungen darf man keine Metallgeräte benutzen.

Jod-Kaliumjodid-Lösung (Lugolsche Lösung) und Jodtinktur (1 g Jod auf 10 cm<sup>3</sup> 96%igen Alkohol) dienen als Nachweismittel für Eiweiß und Stärke. Eiweiß färbt sich gelbbraun, Stärke blauviolett bis schwarzviolett.

Lugolsche Lösung dient u. a. auch der Entfernung von Quecksilberniederschlägen aus sublimatfixierten Präparaten.

Chlorzinkjodlösung <B> wird aus 30 g Zinkchlorid, 5 g Kaliumjodid, 1 g Jod und 14 cm<sup>3</sup> Aqua destillata hergestellt. Chlorzinkjodlösung dient als Nachweismittel: Zellulose färbt sich violett, Kutin gelbbraun.

Phlorogluzin <B> wird in einer 1- bis 5%igen Lösung in Wasser oder in 70%igem Alkohol vorrätig gehalten. In Verbindung mit Salzsäure ist es ein wichtiges Nachweismittel für Verholzung der Zellmembranen (leuchtend rote Färbung bei Vorhandensein von Lignin).

An Stelle des Phlorogluzins kann auch Kaliumpermanganat in 1%iger wäßriger Lösung verwendet werden.

Salzsäure wird als farblose, chemisch reine Säure mit 24% HCl-Gehalt (38%ig = rauchende Salzsäure) verwendet.

Die gelbliche technische Salzsäure enthält Verunreinigungen von Arsen, Chlor, Schwefeldioxid und Eisenchlorid. Sie ist für mikroskopische Arbeiten unbrauchbar. Salzsäure dient als Entkalkungs-, Nachweis- und Entfärbungsmittel. Zum Entfärben wird sie häufig als Salzsäurealkohol (1 bis 2 cm<sup>3</sup> reine Salzsäure auf 100 cm<sup>3</sup> 70%igen Alkohol) verwendet.

Phosphormolybdänsäure <Z> wird als Beizmittel bei Azanfärbung (var. nach Domagk, s. S. 126) benötigt. Anwendung in 1%iger wäßriger Lösung, auswaschen mit destilliertem Wasser. Die Beize ist haltbar.

Eisenaun wird in 2,5%iger wäßriger Lösung als Beiz- und Differenzierungsmittel bei Eisenhämatoxylinfärbung nach Heidenhain benötigt. Nur hellviolette Kristalle verwenden! Die Beize hält sich nicht sehr lange, ist also jedesmal frisch anzusetzen.

Thymol (Thymiankampfer) wird in 0,3%iger Lösung Farblösungen zugesetzt, damit diese nicht verschimmeln. Lösung (nicht Kristalle) in gut verschlossener Flasche aufbewahren.

Formalin (s. S. 110) wird als Konservierungsmittel für fixierte Objekte, die nicht sofort verarbeitet werden sollen, verwendet. Man benutzt es in Verdünnungen 1 : 10 bis 1 : 15. Konzentrierte Lösungen härten die Objekte so stark, daß sie sich bei der späteren Verarbeitung sehr schlecht schneiden lassen bzw. leicht brechen. Vor der Verarbeitung sollen die konservierten Objekte mehrere Tage lang gründlich gewässert werden.

Alkohol (besonders 80%iges Propanol) ist ein viel verwendetes Konservierungsmittel, das allerdings entfärbt und bei längerer Einwirkung stark härtet. Deshalb nie mit absolutem Alkohol konservieren. Trübe Konservierungsflüssigkeit wechseln!

Zarte Objekte werden in 75%igem Alkohol gehärtet und gelagert. Sie lassen sich dann besser schneiden.

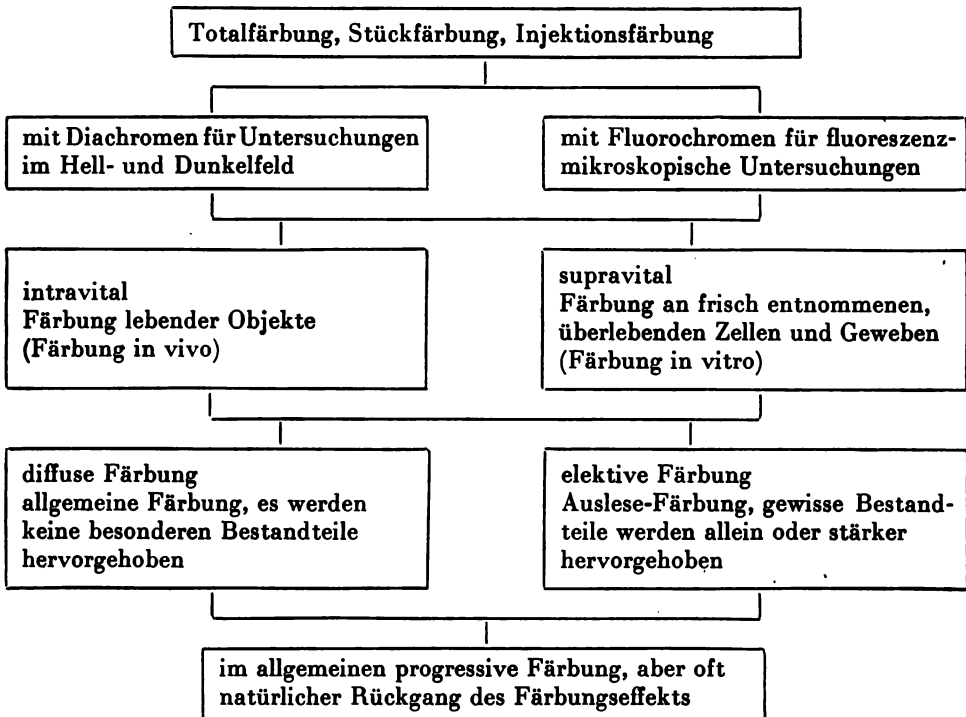
In Paraffinöl (Paraffinum liquidum) <B>, das völlig indifferent ist, lassen sich sehr gut lebende Objekte (z. B. Mitosen in Pflanzenhaaren) beobachten. Das Paraffinöl hellt stark auf (n = 1,482) und verhindert das Austrocknen der Präparate.

### Färbemittel

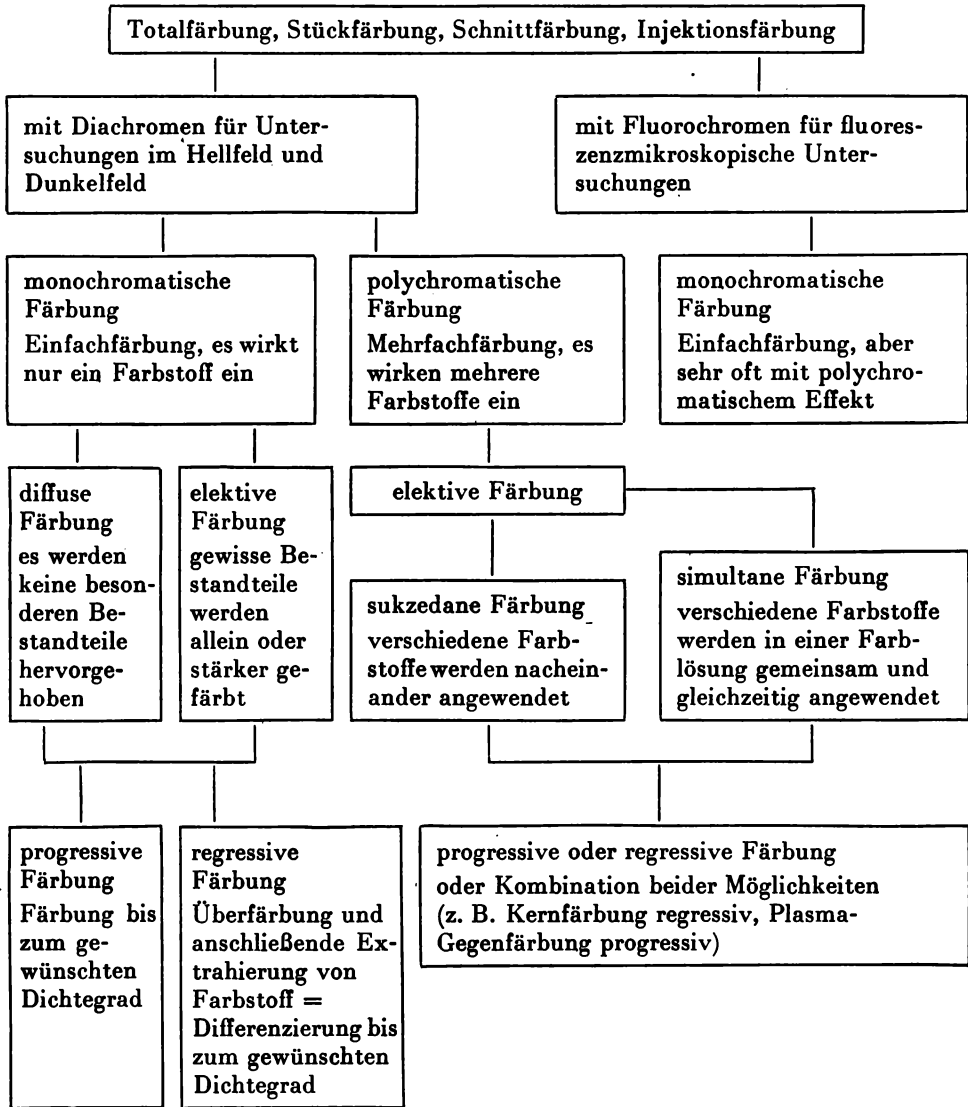
Viele Strukturen sind in ungefärbtem Zustand nicht oder nur unvollkommen erkennbar. Sie treten aber deutlich hervor, wenn die Präparate nach verschiedenen Methoden gefärbt werden. Daher haben die Färbemethoden für die Mikroskopie große Bedeutung. Allerdings heben auch optische Kontrastverfahren (polarisiertes Licht, Fluoreszenz- und Phasenkontrastmikroskopie) Struktureinzelheiten klar hervor. Da die Fixierung und Färbung die Objekte mehr oder weniger stark verändern, wird nur fixiert oder gefärbt, wenn keine andere Möglichkeit der Kontraststeigerung besteht.

### Übersicht über gebräuchliche Färbemethoden

#### Vitalfärbung (Objekt lebend)



Postvitale Färbung (Objekt abgetötet und fixiert)



Vitalfärbungen vermitteln oft überraschende Einblicke in das Lebensgeschehen. Deshalb sind sie für Schülerübungen und Kursdemonstrationen sehr wichtig, obwohl die Farbstoffe in lebende Gewebe schwer eindringen und Vitalfärbungen im allgemeinen nicht beständig sind.

Postvitale Färbungen: Gut durchfixierte Objekte nehmen die verschiedensten sauren und basischen Farbstoffe schnell auf. Die Färbungen sind klar und dauerhaft.



**Saure Farbstoffe:** Farbsäure oder Salz einer Farbsäure (z. B. Eosin, Erythrosin, Pikrinsäure, Säurefuchsin);

**Basische Farbstoffe:** Basochrome Farbstoffe; Farbbase oder Salz einer Farbbase (z. B. Hämalan, Hämatoxylin, Neutralrot, Methylenblau).

Der Anfänger beginnt mit monochromatischen Färbungen und einfachen polychromatischen Färbungen (Simultanfärbungen bevorzugen!). Für Demonstrationszwecke sind polychromatische Färbungen zu bevorzugen! Die gebräuchlichen Methoden bezeichnet man nach den verwendeten Farbstoffen (z. B. Hämalan-Eosin-Färbung) oder nach dem Wissenschaftler, der die Methode in die mikroskopische Technik eingeführt hat (z. B. Giemsa-Romanowski-Färbung).

Bei der **Totalfärbung** wirkt der Farbstoff auf einen unzerteilten Organismus ein. Die **Stückfärbung** (Färbung einzelner Teile größerer Objekte) dient zur Vorfärbung von Objekten, die auf dem Mikrotom geschnitten werden sollen, damit sie zur besseren Orientierung der Schnittebenen im Paraffinblock sichtbar bleiben. Totalfärbungen, Stückfärbungen und Färbungen von Hand- oder Handmikrotomschnitten führt man meist im Blockschälchen aus, Schnittfärbungen auf Objektträger geklebter Paraffinschnitte tierischen Materials in Färbeküvetten (s. Abb. 178/1). Ausstriche werden ähnlich gefärbt wie Schnitte.

Um den Verlauf von Blutgefäßen, Kapillaren, Tracheen usw. im Schnitt- oder Stückpräparat erkennen zu können, werden in Körperhöhlen und Gefäße erstarrungsfähige Farbstoffe eingespritzt: **Injektionsfärbung**.

In der folgenden Zusammenstellung sind nur die gebräuchlichsten, billigsten und am leichtesten anzuwendenden Farbstoffe aufgeführt. Am Anfang stehen die Färbungsmittel, die dem Anfänger besonders zu empfehlen sind. Er übt sich zunächst in den Färbungen 1, 2, 6, 8, 9 und 10 (mit einem <G> gekennzeichnet); die Mehrfachfärbungen am Schluß der Aufzählung sollen dem Fortgeschrittenen weitere Anregungen geben. Für erste Versuche werden die Färbungen 22, 29 und 31 empfohlen. Für die meisten Arbeiten reichen die Färbungen 1 bis 15 aus. Färbung 1 kann durch Färbung 2, 3 durch 4, 6 durch 7, 8 durch 9 und 11 durch 12 bzw. umgekehrt ersetzt werden. Die folgenden Färbungen dürften auch für spezielle Arbeiten in den erweiterten Oberschulen und an den Instituten der Lehrerbildung genügen. Man kauft fertige Lösungen nur, sofern sie haltbar sind. Ein Zusatz von 2% bis 3% Toluol schützt vor Schimmelbildung und schadet nicht.

## Vitalfarbstoffe

**Färbung 1: Neutralrot <G>** ist ein hervorragender Farbstoff zur Lebendfärbung (s. Farbtafel 2, Abb. c). Man kauft es in Pulverform und stellt sich eine 1%ige Stammlösung her. Zur Färbung sehr empfindlicher Objekte (z. B. *Euglena*) setzt man dem Wohn- oder Anzuchtwasser Neutralrot in Substanz zu. Immer wird es in Verdünnungen von 1:1000 bis 1:25000 oder schwächer angewandt, stärkere Lösungen schädigen. Die beste Konzentration des Färbungsmittels für die einzelnen Tier- oder Pflanzenarten muß man durch Probieren ermitteln. Der Farbstoff darf dem Anzucht- oder Tümpelwasser nur in ganz geringen Mengen zugesetzt werden; einige kleine Kristalle genügen für einen Liter Wasser. Die Untersuchungsflüssigkeit soll, gegen das Licht oder eine helle Fläche gehalten, gerade eine ganz leichte Rotfärbung erkennen lassen. Die Färbung der Organismen beansprucht etwa eine Viertelstunde. Der beste Färbungs-

grad ist nach durchschnittlich 2 bis 3 Stunden erreicht. Man stellt Versuche mit Protozoen, Hydren, Rädertieren, Würmern, Kleinkrebsen und wasserlebenden Insekten bzw. Insektenlarven an. Die Tiere werden während der Färbung im Dunkeln gehalten. Eine Vitalfärbung der Zellkerne gelingt nicht immer, am leichtesten jedoch bei Sauerstoffmangel. Da die Färbung nicht haltbar ist und schon während der Untersuchung wieder zurückgehen kann, setzt der Lehrer für Unterrichtsversuche mehrere Gläser in etwa 10 Minuten Abstand an. Teilweise gelingt es, Lebendfärbungen durch Fixieren der Objekte zu erhalten (s. Farbtafel 2, Abb. c). Zur Färbung lebender tierischer Gewebeteile muß das Neutralrot in physiologischer Kochsalzlösung gelöst werden.

**Färbung 2: Methylenblau** <G> <Z> ist in Verdünnungen von 1:500 bis 1:1000 für die Lebendfärbung von Zellkernen, vorwiegend jedoch zur Darstellung von Nervenzellen und -geweben in lebenden Organismen geeignet (s. S. 220). Den Farbstoff hält man in fester Form vorrätig. Mischungen von Methylenblau- und Neutralrotlösungen ergeben oft sehr übersichtliche Mehrfach-Vitalfärbungen. Das läßt sich gut an Wasserflöhen und Mückenlarven erproben.

Methylenblau dient weiterhin unter anderem als Kernfarbstoff in Farbfixierlösungen (s. S. 125) sowie zur Bakterienfärbung. Hierfür löst man 15 g Farbstoff in 100 cm<sup>3</sup> 96%igem Alkohol und setzt 1 cm<sup>3</sup> 10%ige Kalilauge und 99 cm<sup>3</sup> Aqua destillata zu. Aus- und Abstriche werden 5 Minuten gefärbt und anschließend mit Wasser abgespült (gute Übersichtsfärbung). Diese Färbung hält sich in Dauerpräparaten schlecht.

### Fixierungs-Färbungs-Schnellmethoden

**Färbung 3: Karminessigsäure** fixiert und färbt zugleich (Fixierungs-Färbungs-Schnellmethode) und ist daher ein ideales Mittel zur schnellen Herstellung von Frischpräparaten mit starker Kernfärbung. Herstellung der Farb-Fixierlösung: 45%ige Essigsäure (45 cm<sup>3</sup> Eisessig + 55 cm<sup>3</sup> Aqua destillata) im enghalsigen Erlenmeyerkolben über kleinster Flamme etwa eine halbe bis eine Stunde erhitzen, dabei gleichzeitig so viel Karmin zugeben, wie sich löst; darauf achten, daß alles Kondenswasser in den Kolben zurückfließt. Nach dem Erkalten kann die Lösung verwendet werden; sie hält sich in einer braunen Flasche unbegrenzt. Es ist ratsam, die Lösung fertig zu kaufen.

Karminessigsäure eignet sich zur schnellen Färbung zoologischer Quetsch- und Zupfpräparate, liefert aber auch bei widerstandsfähigeren pflanzlichen Objekten gute Ergebnisse. Liegt Material vor, das nicht zerkleinert zu werden braucht (z. B. Pollenschlauchkulturen oder Hodenausstriche), so gibt man lediglich einige Tropfen Karminessigsäure auf das Präparat und legt ein Deckglas auf. Zeigt die sofort vorzunehmende Untersuchung, daß sich das Zellplasma mitfärbt, so wird die Farblösung durch 45%ige Essigsäure ersetzt. Material, das zerkleinert werden muß (z. B. Wurzel- oder Sproßmeristeme), wird etwa eine halbe bis eine Stunde in Carnoyscher Flüssigkeit oder Alkohol-Eisessig 3:1 vorfixiert und dann in möglichst dünne Handschnitte zerlegt. Die Handschnitte bringt man mit einem Tropfen Karminessigsäure auf einen Objektträger. Dann wird über kleiner Flamme erhitzt, bis die Lösung anfängt, Blasen zu bilden. (Deckglas auflegen!) Zellkerne und eventuelle Kernteilungsstadien sind stark rot gefärbt und setzen sich scharf gegen das schwach rötliche Plasma ab. Durch mäßigen Druck auf das Deckglas kann das Zellgewebe zerteilt werden. Die nunmehr vereinzelt liegenden Zellen kann man mit stärkster Vergrößerung untersuchen. Karminessigsäurepräparate eignen sich schlecht zur Verarbeitung als Dauerpräparat. Bei der Unter-

suchung von Karminessigsäure-Färbungen werden die Strukturen besonders deutlich, wenn ein dichtes Grünfilter bei entsprechend starker Beleuchtung in den Strahlengang gebracht wird. Die Strukturen erscheinen dann sehr dunkel und kontrastreich.

**Färbung 4: Methylgrün-Essigsäure** eignet sich ebenfalls für die Farb-Fixier-Schnellmethode. Wegen ihres geringen Gehalts an Essigsäure benutzt man sie besonders zur Behandlung von zarten botanischen Objekten und zur schnellen Darstellung der Kerne von Protozoen. Die Objekte werden nicht erhitzt. Zur Herstellung von Methyl-Essigsäure schüttet man so viel Methylgrün in 1- bis 2%ige Essigsäure, daß die fertige, filtrierte Lösung tief blaugrün ist.

Dieses und das vorstehend beschriebene Schnellverfahren ergeben zwar oft unvollkommene Fixierungen und Färbungen, eignen sich aber vorzüglich für Beobachtungen auf Exkursionen oder im Unterricht.

**Färbung 5: Pikro-Nigrosin <B>** eignet sich ausgezeichnet zur Fixierung und gleichzeitigen Färbung von Algen, ergibt aber auch bei anderen botanischen und zoologischen Objekten (Protozoen, Zölenteraten) gute Ergebnisse. Herstellung: auf 90 cm<sup>3</sup> gesättigte wäßrige Pikrinsäure kommen 10 cm<sup>3</sup> wäßrige 1%ige Nigrosinlösung. (Fertige Lösung kaufen!) Da die fixierende Substanz, die Pikrinsäure, gleichzeitig färbt, zeigen mit Pikro-Nigrosin behandelte botanische Schnitte eine Doppelfärbung: die Pikrinsäure läßt verholzte Membranen gelb, das Nigrosin unverholzte grün hervortreten. Die Färbungen sind haltbar! Nach Abspülen in Wasser und Auswaschen in 70%igem Alkohol können die Objekte zu Dauerpräparaten verarbeitet werden.

## Farbstoffe für postvitale Färbungen

Vor Anwendung der folgenden Färbungen müssen die Objekte einwandfrei fixiert worden sein.

**Färbung 6: Saures Hämalaun nach Mayer <G>** ist ein hervorragendes Kernfärbungsmittel, das nach den meisten Fixiermitteln gute Ergebnisse liefert. Das zu färbende Material wird erst nach gründlichem Auswaschen in destilliertem Wasser in die vor Gebrauch filtrierte weinrote Farblösung übertragen. Färbung progressiv 5 bis 10 Minuten; auch bei längerem Färben tritt kaum starke Überfärbung ein. Nach dem Färben wird 10 bis 20 Minuten in mehrfach gewechseltem Leitungswasser ausgewaschen, besser noch mit fließendem Wasser durchspült; der weinrote Farbton schlägt wegen der alkalischen Reaktion des Wassers nach Blau bis Blauviolett um. Ergebnis: Kerne leuchtend blau, Knorpel dunkelblau, übriges Gewebe ungefärbt bis schwach graublau. Zur Gegenfärbung des Plasmas eignen sich Eosin, Erythrosin oder Orange G. In reinen Membranpräparaten pflanzlicher Objekte färbt Hämalaun unverholzte Elemente tiefblau, verholzte Teile bleiben ungefärbt (s. Farbtafel 3, Abb. a, b).

**Färbung 7: Hämatoxylin nach Delafield** ist ein viel verwendeter Kernfarbstoff. Er ist nicht einfach zu handhaben, da er leicht überfärbt. Im übrigen gilt das für die Färbung 6 Gesagte. Überfärbungen beseitigt man durch Behandlung der Objekte mit Salzsäurealkohol, wobei die Farbe wieder in Rot umschlägt. Danach wird in Leitungswasser gewässert, dabei tritt erneut Blaufärbung ein. Hämatoxylinlösung ist nur begrenzt haltbar.

**Färbung 8: Alkoholische Boraxkarminlösung <G>** ist ein für botanische und zoologische Objekte sehr gut geeignetes Kernfärbungsmittel. Für die völlige Durchfärbung der Objekte, die aus etwa 30%igem Alkohol in die Farblösung übergeführt werden,

sind je nach der Größe 10 bis 24 Stunden, oft auch mehrere Tage, notwendig. Boraxkarmin eignet sich ganz besonders für Total- und Stück-, weniger für Schnittfärbungen. Nach der Färbung wird mit 70%igem Alkohol ausgewaschen. Besonders gute Ergebnisse lassen sich durch Überfärbung und nachfolgende Differenzierung in 70%igem Salzsäurealkohol erzielen. Ergebnis: Scharfe rote Kernfärbung. Zur Gegenfärbung eignet sich 1 : 3 verdünnte wäßrige gesättigte Pikrinsäure sehr gut. Da Pikrinsäure differenzierend wirkt, braucht kein Salzsäurealkohol verwendet zu werden. Danach wird in 96%igem Alkohol ausgewaschen. Nach Formalinfixierung wirkt Boraxkarminfärbung häufig nicht.

Färbung 9: Alizarinviridin <G> ist noch einfacher zu handhaben und färbt wesentlich schneller als Boraxkarmin. Daher eignet es sich besser zur Färbung von Planktonorganismen und zur Gewinnung von Übersichtspräparaten ganzer Objekte. Mit unverdünnter Stammlösung hat man schon nach 5 Minuten Färbedauer gute Ergebnisse; im Verhältnis 1 : 2 bis 1 : 5 mit destilliertem Wasser verdünnte Stammlösung läßt man 2 bis 10 Stunden einwirken. Ergebnis: Kerne und Plasma sind abgestuft grün gefärbt.

Färbung 10: Safranin <G> ist ein universell verwendbarer Farbstoff. Die Objekte werden aus etwa 30%igem Alkohol in die Farblösung übertragen. Obwohl relativ kurze Färbungszeiten von 5 bis 15 Minuten zur Durchfärbung vieler Objekte genügen, überfärbt man sehr stark, dehnt die Färbung bis zu 24 Stunden aus und differenziert in 96%igem Salzsäurealkohol. Safranin färbt bei pflanzlichen Objekten vor allem Zellkerne und verholzte Zellmembranen leuchtend orangerot (s. Farbtafel 3, Abb. b). In tierischem Gewebe werden die Kerne besonders nach Fixierung mit chromhaltigen Mitteln leuchtend rot gefärbt. Zur Herstellung der Farblösung löst man 2 g Safranin in 100 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol und verdünnt dann mit 100 cm<sup>3</sup> Anilinwasser (10 cm<sup>3</sup> Anilin mit 100 cm<sup>3</sup> destilliertem Wasser stark durchschütteln, filtrieren). Kaufen der fertigen Lösung ist ratsam. Zur Gegenfärbung eignet sich Lichtgrün, das zugleich differenzierend wirkt.

Färbung 11: Eosin <G> <Z> wird häufig in 0,5- bis 1%iger wäßriger <G> oder alkoholischer Lösung als Plasmafarbstoff nach vorhergehender Kernfärbung angewandt (s. Farbtafel 3, Abb. a). Die Färbedauer beträgt 5 bis 10 Minuten, bei Überfärbung wird in Leitungswasser bzw. 70- bis 90%igem Alkohol ausgewaschen. Die Alkoholstufen schnell hinaufführen, da Alkohol niederer Konzentration Eosin schnell auszieht. Eosin ist ein wesentlicher Bestandteil mehrerer Blut-Farbfixerlösungen. Nach Möglichkeit in Substanz vorrätig halten. Erythrosin ergibt – bei gleicher Anwendung – noch bessere Ergebnisse.

Färbung 12: Orange G <Z> ist ein sehr lichtbeständiger Plasmafarbstoff. Man hält ihn in 0,5- bis 1%iger Lösung vorrätig. Damit die Lösung nicht verdirbt, wird Thymol zugesetzt. Mit Wasser auswaschen, Überfärbungen in Wasser differenzieren. Orange G ist ein wesentlicher Bestandteil der Azanfärbung (Färb. 30).

Färbung 13: Lichtgrün <B> wird in 0,5- bis 3%igen Lösungen als Plasmafarbstoff zum Nachfärben nach Eisenhämatoxylin-, Safranin- oder Boraxkarminfärbungen verwendet. Außerdem ist es in einzeitigen botanischen Doppelfärbungen für die Färbung unverholzter Membranen wichtig. Zur Nachfärbung nach Kernfärbungen läßt man es einige Minuten einwirken und wäscht mit Wasser aus. Lichtgrün eignet sich zum Färben von Objekten, von denen fotografische Aufnahmen hergestellt werden sollen, da es gute Kontrastwirkungen gibt (s. Farbtafel 4, Abb. a). Lichtgrün ist wenig lichtbeständig.

Färbung 14: Karbolfuchsin wird wegen seiner kräftigen Wirkung besonders zur Färbung bakteriologischer Ausstriche benutzt. Es wird aus 1 g Fuchsin, 5 cm<sup>3</sup> Karbol-

säure in 100 cm<sup>3</sup> destilliertem Wasser und 10 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol hergestellt. Um gut kontrastierte Übersichtsbilder zu erhalten, färbt man eine halbe bis eine Minute und spült anschließend mit Wasser oder 70%igem Alkohol ab.

**Färbung 15: Opalblau <Z>** in 10%iger Lösung ist geeignet, um schnell Präparate von Ziliaten herzustellen. Vor Verwendung läßt man kurz aufkochen, um ausgeflockten Farbstoff wieder in Lösung zu bringen. Wenn man 1 cm<sup>3</sup> 10%iger Opalblaulösung 4 bis 6 Tropfen einer 6,5%igen Phloxinrhodaminlösung zusetzt, werden die Groß- und Kleinkerne der Ziliaten bisweilen abgestuft rot bis rosa gefärbt; das gesamte Präparat verliert seinen sonst kalten blauen Farbton (s. Farbtafel 2, Abb. c). Opalblaulösungen sind unbegrenzt haltbar. Opalblau-Phloxinrhodamin-Lösung wird wie Opalblaulösung verwendet, färbt aber in einzelnen Fällen Kerne und Zellplasma abgestuft rot bis rosa.

**Färbung 16: Kernschwarz** ist für Kernfärbungen, zur Färbung unverholzter pflanzlicher Zellmembranen und für Total- und Stückfärbungen sehr geeignet. Man löst 5 g Kernschwarz in 100 cm<sup>3</sup> heißem, destilliertem Wasser und filtriert ab. Die Färbezeit beträgt 15 Minuten bis eine Stunde. Auswaschen mit destilliertem Wasser. Bei Überfärbung mit Salzsäurealkohol differenzieren. Zur Gegenfärbung eignen sich für zoologische Objekte Eosin und Orange G, für botanische Chrysoidin. Ergebnis: Kerne scharf dunkelblau bis schwärzlich, Zellplasma hellbraun (s. Farbtafel 4, Abb. c).

**Färbung 17: Gentianaviolett <B>** ist ein wichtiger Kernfarbstoff für Übersichtsbilder pflanzlicher Objekte. Man färbt etwa 5 bis 20 Minuten, wäscht in 70- bis 97%igem Alkohol aus und differenziert bei Überfärbung in etwa 0,1%igem Essigsäure-Wasser. Mit Karbolgentianaviolett erhält man sehr gute Bakterienfärbungen. 1%ige wäßrige Gentianaviolettlösung ergibt in tierischen Geweben scharfe, reine Kernfärbungen (Chromatin violett). Differenzierung in 96%igem Alkohol.

**Färbung 18: Chrysoidin <B>** eignet sich in dünner wäßriger Lösung sehr gut zur Färbung verholzter Membranen; sie nehmen einen stroh- bis rötlichgelben Farbton an. Abspülen in Wasser. Die Alkoholstufen müssen rasch durchlaufen werden, da sonst die Farbe zu stark ausgezogen wird (s. Farbtafel 4, Abb. c).

**Färbung 19: Sudan III** ist ein gebräuchlicher Fettfarbstoff, der fast alle Arten von Fetten in pflanzlichen und tierischen Objekten intensiv rot bis orange färbt. Man stellt mit heißem 70%igem Alkohol eine gesättigte Stammlösung her; sie ist jahrelang haltbar. Für botanische Präparate benutzt man eine Lösung von Sudan III in Xylol.

**Färbung 20: Eisenhämatoxylin nach Heidenhain** ist eines der besten Kernfärbemittel für Schnittfärbungen. Feinste Zellstrukturen erscheinen wie in Tusche gezeichnet.

Aus destilliertem Wasser kommen die Schnitte für 3 bis 12 Stunden zum Beizen in 2,5%ige Eisenalaunlösung. Die benutzte Beize gießt man nicht fort, verwendet jedoch zum Beizen selbst stets eine frisch angesetzte Lösung. Nach dem Beizen werden die Präparate mehrmals kurz in Aqua destillata abgespült und 1 bis 36 Stunden in Hämatoxylinlösung nach Heidenhain gefärbt. Die Schnitte sind dann tiefschwarz. Anschließend werden sie in der schon gebrauchten Eisenalaunlösung differenziert. Da die Schnitte schnell Farbe verlieren, muß man sie, sobald sie durchsichtig werden, aus der Entfärbungslösung herausnehmen und in Brunnenwasser abspülen. Ergibt die mikroskopische Kontrolle, daß die Färbung befriedigend ausgefallen ist, wäscht man die Schnitte gründlich mit Leitungswasser aus. Andernfalls differenziert man (evtl. in verdünnter Eisenalaunlösung) weiter. Zur Gegenfärbung können Orange G oder Lichtgrün dienen, jedoch ergeben auch reine Kernfärbungen sehr übersichtliche Bilder. Ergebnis: Chromatin der Kerne, Nukleolen, Zellgranula, Zentrosomen, Teile quergestreifter Muskulatur u. a. tiefschwarz, alles übrige schwach gelblich (s. Farbtafel 4, Abb. d).

## Farbfixierlösung für Ausstriche

**Färbung 21: Giemsas Farbfixierlösung <Z>** enthält als fixierenden Bestandteil Methylnalkohol, als färbenden Anteil Eosin und zum Teil in Methylenazur umgewandeltes Methylenblau. Das Gemisch eignet sich zur simultanen Fixierung und Färbung von Ausstrichen (z. B. von Blut, Blutparasiten, Bakterien; Färbevorgang s. S. 160). Man verwendet nur fertig gekaufte Lösungen (s. Farbtafel 4, Abb. b).

Ergebnis: Erythrozyten	= rosa
Lymphozyten-Protoplasma	= hellblau
eosinophile Granula	= rot bis rotbraun
basophile Granula	= dunkelblau
neutrophile Granula	= rotviolett
Thrombozyten	= blau-rotviolett
Zellkerne	= rötlich violett

## Farbstoffe für sukzedane und simultane polychromatische Färbungen

**Färbung 22: Hämalaun-Safranin <G> <B>** ist eine beliebte zweizeitige Doppelfärbung für pflanzliche Objekte. (Färbevorgang s. S. 173f.) Ergebnis: Zellulose blauviolett, verholzte Membranen leuchtend rot (s. Farbtafel 3, Abb. b).

**Färbung 23: Hämalaun-Chrysoidin <B>** wird als sukzedane Doppelfärbung für pflanzliche Objekte verwendet. Färbevorgang: Aus Aqua destillata für 5 bis 10 Minuten in Hämalaun übertragen, 15 Minuten in Leitungswasser bläuen, in der Alkoholreihe entwässern, in 70%igem Alkohol Chrysoidin auflösen und 15 Minuten einwirken lassen, mit 70%igem Alkohol abspülen, endgültig entwässern und einschließen.

Ergebnis: unverholzte Membranen blauviolett, verholzte Membranen je nach dem Grad der Verholzung hellgelb bis tief goldgelb.

**Färbung 24: Hämalaun-Chrysoidin-Sudan III <B>** eignet sich als einfach auszuführende sukzedane Dreifachfärbung für pflanzliche Objekte. Färbevorgang zunächst wie bei Färbung 23. In der Xylolstufe wird dem Xylol so viel Fettfarbstoff Sudan III zugesetzt, daß es eine lebhaft hellrote Färbung zeigt. In diesem Xylol werden Kork und Kutin differenziert eingefärbt. Nach beendeter Färbung in Xylol abspülen und einschließen. Ergebnis wie bei Färbung 23, aber zusätzlich Kork und Kutin ziegelrot bis karmin.

**Färbung 25: Safranin-Lichtgrün <G> <B>** ist als simultane Doppelfärbung für pflanzliche Objekte (auch für niedere Pflanzen) geeignet. Keinen wasserhaltigen Alkohol, nur 100%iges Optal verwenden! Auch kleinste Wassermengen schaden der Färbung! Gut gespülte Schnitte 15 bis 20 Minuten färben, in oft gewechseltem Optal so lange spülen, bis das Optal klar bleibt. Ergebnis: verholzte Membranen leuchtend rot, unverholzte Membranen grün (s. Farbtafel 4, Abb. a).

**Färbung 26: Kernschwarz-Chrysoidin <B>** ist eine einfach auszuführende zweizeitige Doppelfärbung für pflanzliche Objekte. Färbevorgang: Kernschwarz 15 bis 60 Minuten einwirken lassen, abspülen in destilliertem Wasser, weiter wie in Färbung 23, Sudan-III-Färbung wie bei 24 möglich. Ergebnis: unverholzte Membranen dunkelblauschwarz, verholzte hellgelb bis tief goldgelb (s. Farbtafel 4, Abb. c).

**Färbung 27: Fuchsin-Methylgrün <B>** wird verwendet für simultane Doppelfärbung. Einer Methylgrünlösung in 50%igem Alkohol setzt man 50%igen Fuchsinalkohol zu,

bis das Gemisch violett erscheint. Das Methylgrün färbt Zellkerne und verholzte Membranen grün bis bläulich. Unverholzte Membranen werden durch Fuchsin rot gefärbt. Die Alkoholstufen müssen sehr schnell durchlaufen werden, da sonst das Methylgrün zu stark auszieht.

**Färbung 28: Auraviol nach Geidis <B>** ist ein Farbgemisch, das bei pflanzlichen Schnitten gleichzeitig unverholzte Membranen blauschwarz, verholzte leuchtend rot und korkhaltige gelblichrot färbt. Die fertigen, vorteilhafterweise mit Eau de Javelle aufgehellten Schnitte werden aus destilliertem, mit Essigsäure schwach angesäuertem Wasser in die Farblösung übergeführt und können darin viele Stunden bleiben. Die stark überfärbten blauschwarzen Schnitte werden mit Alkohol (ohne HCl!) differenziert, bis dichte Wolken der Farbe ausgezogen sind und die einzelnen Strukturen klar hervortreten. Dann muß man sofort in absoluten Alkohol übertragen, um die Differenzierung zu unterbrechen.

**Färbung 29: Hämalau-Eosin <G> <Z>** ist die beliebteste und einfachste zweizeitige Doppelfärbung für zoologisches Material. Sie ist für Übersichtsbilder universell verwendbar und läßt sich nach allen Fixierungen durchführen. (Färbevorgang s. S. 162f.) Ergebnis: Kerne und Knorpel blau, alles übrige in verschiedenen Tonabstufungen rot. Erythrozyten oft orangerot (s. Farbtafel 3, Abb. a). Hämalau-Eosinecht-Farblösung H ruft simultan etwa den gleichen Färbefeffekt hervor. Präparate aus mehrfach gewechseltem Aqua destillata für 20 bis 30 Minuten in die Farblösung bringen, in 70%igem Optal auswaschen.

**Färbung 30: Azan-novum-Färbung nach Geidis <Z>**, eine sukzedane Dreifachfärbung, zählt zu den besten und gebräuchlichsten Färbemethoden. Sie ergibt klar differenzierte Bilder, vor allem von Binde- und Drüsengewebe, sowie gute Übersichtspräparate, ist aber nicht ganz einfach durchzuführen. Schnitte sollten nicht dicker als 5 µm sein. Azan-novum kann man nach den meisten nicht chromsäurehaltigen Fixiermitteln anwenden. Besonders gute Ergebnisse nach Fixierungen mit sublimathaltigen Mitteln. Färbevorgang: aus destilliertem Wasser zur Kernfärbung für 30 Minuten oder länger in Kernechtrot übertragen. Überfärbung tritt nicht ein. Kurz abspülen in destilliertem Wasser und danach für 10 min in 5%iger Phosphor-Wolframsäure beizen. Kurz abspülen in destilliertem Wasser und für 5 bis 10 Minuten mit Anilinblau-Orange-G-Eisessig gegenfärben. Abspülen in destilliertem Wasser und differenzieren in absolutem Propylalkohol, entwässern und einschließen (möglichst in Caedax). Ergebnis: kollagenes und retikuläres Bindegewebe leuchtend blau, Chromatin der Kerne rot, Muskelgewebe rötlich bis orange, Gliafasern rot, Schleim blau, Erythrozyten rot bis orange (s. Farbtafel 3, Abb. c).

**Färbung 31: Kernechtrot-Kombinationslösung H** wirkt als Simultan-Doppelfärbung. Für zoologisches Material nur für schnell zu gewinnende Übersichten geeignet, sonst besser Färbung 30 anwenden. Material aus mehrfach gewechseltem (jeweils 5 min) destilliertem Wasser für 1/2 bis 1 Stunde in die Farblösung bringen, kurz in Leitungswasser abspülen, Alkoholreihe sehr rasch durchlaufen, in etwa 90%igem Optal 1 bis 2 Minuten differenzieren und in Neutralbalsam einschließen. Ergebnis: Kerne rot, Bindegewebe blau, Muskelgewebe rötlich bis orange. Für botanisches Material vorzüglich geeignet! In Eau de Javelle gebleichte Schnitte gründlich in Leitungswasser spülen, in mehrfach gewechseltes destilliertes Wasser (jeweils 5 min) bringen, 30 bis 45 Minuten färben, in Leitungswasser abspülen, schnell entwässern. Ergebnis: unverholzte Teile rot, verholzte blau.

**Färbung 32: Fuchsin-Methylenblau-Lösung H** ist für Bakterienausstriche als Simul-

tan-Doppelfärbung geeignet. Lufttrockene, dünne Ausstriche mit der unbeschichteten Seite dreimal kurz zum Fixieren durch die Flamme ziehen, etwa 1 bis 5 min färben, mit Leitungswasser abspülen, 1 bis 2 min zur Differenzierung in Leitungswasser stehen lassen, lufttrocknen lassen, Einschluß in Neutralbalsam.

### Übersicht über wichtige Färbemittel

Färbemittel	Färbemethode; Färbedauer	Geeignet für (Zoologisches Material = Z, botanisches Material = B)	Auswaschen; Gegenfärben	Bemerkungen
Neutralrot	Vitalfärbung, Farbstoff 1 : 1000 bis 1 : 25 000 verdünnt; wenige Minuten bis zu 3 Stunden	Z, B Zellkerne, Organellen, Gewebe, Plankton, kleine Wassertiere	nicht erforderlich	Vitalfärbungen möglichst im Dunkeln vornehmen, Färbeeffekt mit dem Mikroskop kontrollieren, Färbungen gehen schnell zurück, möglichst sofort untersuchen, zur Herstellung von Dauerpräparaten wenig geeignet
Methylenblau	Vitalfärbung, Farbstoff 1 : 500 bis 1 : 1000 verdünnt, vitale Injektionsfärbung; wenige Minuten bis zu 3 Stunden	Z, B Zellkerne, Nervenzellen, Nervengewebe, Plankton, kleine Wassertiere (Injektion bei luftatmenden Tieren)	nicht erforderlich	Färbung und Fixierung oft unvollständig, für Schnelldiagnosen, zum Gebrauch auf Exkursionen und für Schülerübungen gut geeignet, zur Herstellung von Dauerpräparaten nicht geeignet; Färbeeffekt unter dem Mikroskop kontrollieren
Karminessigsäure	Farbfixierung, progressive Einfachfärbung; wenige Minuten (über Flamme erhitzen)	Z Kernschnellfärbung bei Teilungsvorgängen und Zupf- und Quetschpräparaten	nicht erforderlich	Färbung und Fixierung oft unvollständig, für Schnelldiagnosen, zum Gebrauch auf Exkursionen und für Schülerübungen gut geeignet, zur Herstellung von Dauerpräparaten nicht geeignet; Färbeeffekt unter dem Mikroskop kontrollieren
Methylgrünessigsäure	Farbfixierung, progressive Einfachfärbung; wenige Minuten (nicht erhitzen)	B, Z Kernschnellfärbung bei zarten pflanzlichen Objekten und Protozoen	nicht erforderlich	Färbung und Fixierung oft unvollständig, für Schnelldiagnosen, zum Gebrauch auf Exkursionen und für Schülerübungen gut geeignet, zur Herstellung von Dauerpräparaten nicht geeignet; Färbeeffekt unter dem Mikroskop kontrollieren



Färbemittel	Färbemethode; Färbedauer	Geeignet für (Zoologisches Material = Z, botanisches Material = B)	Auswaschen; Gegenfärben	Bemerkungen
Alkoholische Boraxkarminlösung	Total- und Stückfärbung; einige Stunden bis mehrere Tage	B, Z Kernfärbung und diffuse Allgemeinfärbung	mit 70%igem Äthylalkohol; gesättigte wäßrige Pikrinsäure, 1 : 3 mit Wasser verdünnt, Lichtgrün	Färbung nach Formalinfixierung oft unbefriedigend; vor Gegenfärbung Differenzierung mit 96%igem HCl-Alkohol
Safranin	Stück- und Schnittfärbung; wenige Minuten bis 24 Stunden	B, Z Kernfärbung, Färbung verholzter Zellmembranen	mit 70%igem Äthylalkohol; Lichtgrün, Chrysoidin, Methylblau, Anilinblau	vor Gegenfärbung Differenzierung mit 96%igem HCl-Alkohol
Hämalaun	Stück- und Schnittfärbung; 5 bis 10 Minuten	Z, B Kernfärbung, Knorpelfärbung, Färbung unverholzter pflanzlicher Membranen, schwache Allgemeinfärbung	10 bis 20 Minuten mit fließendem Leitungswasser („Bläuen“); Eosin, Erythrosin, Orange G für tierisches Material, Safranin für pflanzliches Material	kann mit ähnlichem Färbefekt durch Kernechtrotlösung ersetzt werden
Eosin, Erythrosin, Orange G	Schnittfärbung (0,5- bis 1%ige Lösung); 5 bis 10 Minuten	Z. Plasmafärbung	mit Wasser oder 90%igem Äthylalkohol; nach Kernfärbung z. B. mit Hämalaun oder Hämatoxylin	Alkoholstufen schnell durchlaufen, Plasmafarbstoffe ziehen schnell aus

a



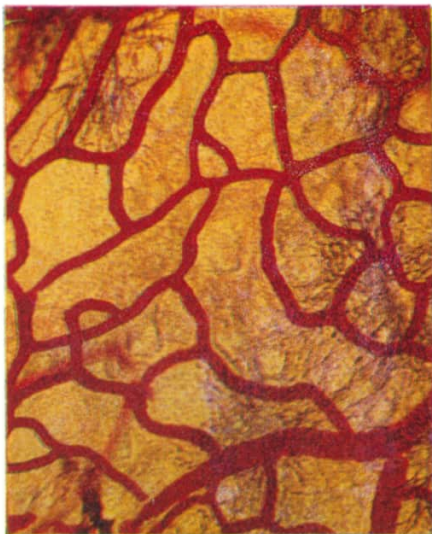
b



#### Farbtafel 1

- a Radiolarien (*Podocyrthis eulophos*), Totalpräparat in Kontrastfarbenbeleuchtung (90 : 1)
- b Kohlrabi (*Brassica rupestris*), ungefärbter Sproßlängsschnitt im polarisierten Licht unter Verwendung des Kompensatorplättchens Rot 1 (90 : 1)
- c Wasserfrosch (*Rana esculenta*), Injektionspräparat der Bauchhaut, die Blutgefäße sind mit Karmingelatine gefüllt (100 : 1)
- d Schwalbenschwanz (*Papilio machaon*), Trockenpräparat der Flügelschuppen ohne Deckglas im Auflicht-Dunkelfeld (130 : 1)

c



d



a



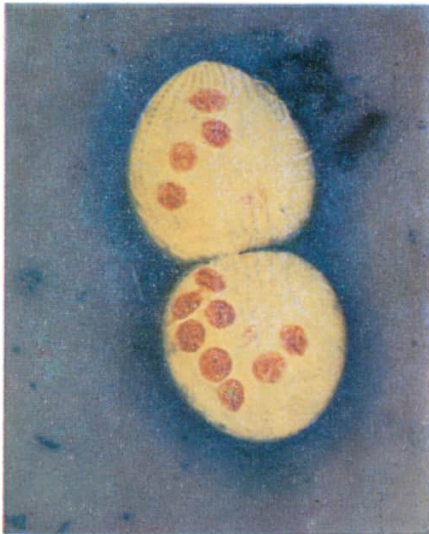
b



### Farbtafel 2

- a Larve der Forelle (*Salmo* sp.), Lupenaufnahme des lebenden Tiers in der Küvette mit Elektronenblitz vor dunklem Hintergrund (4 : 1)
- b Larve der Kreuzkröte (*Bufo calamita*), Lupenaufnahme des lebenden Tiers in der Küvette mit Elektronenblitz vor hellem Hintergrund (2 : 1)
- c Wimpertierchen (*Colpidium* sp.) in Teilung, Vitalfärbung mit Neutralrot 1 : 1000, dann Opalblauausstrich (450 : 1)
- d Puppe einer Stechmücke (*Culex* sp.), Totalfärbung mit Kernechtrot (7 : 1)

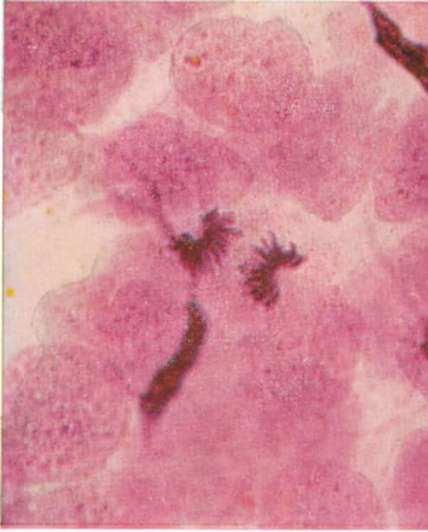
c



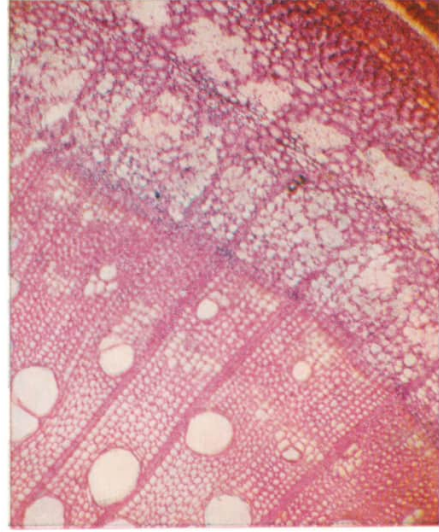
d



a



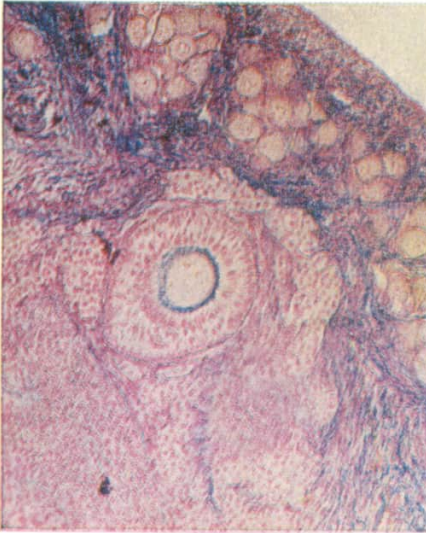
b



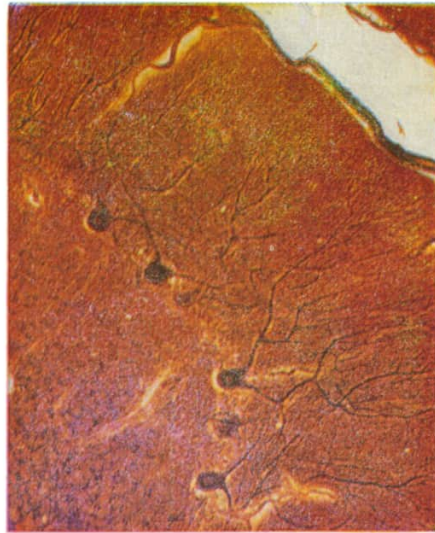
### Farbtafel 3

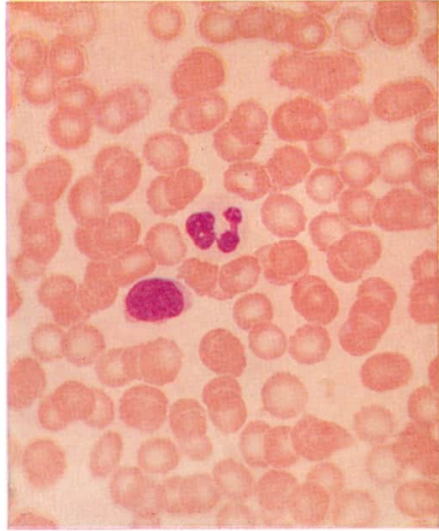
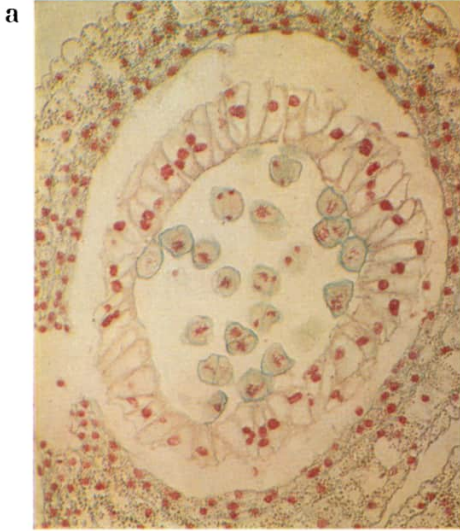
- a Larve des Teichmolchs (*Triturus vulgaris*), mitotische Kernteilung im Flossensaum des Schwanzes, Hämalaun-Eosin-Färbung (475 : 1)
- b Weißer Maulbeerbaum (*Morus alba*), Querschnitt durch einen jungen Zweig, sukzedane Doppelfärbung mit Hämalaun-Safranin (50 : 1)
- c Hauskatze (*Felis catus*), Follikel in der Rindenschicht des Ovariums, Azan-novum-Färbung nach Geidis (65 : 1)
- d Mensch (*Homo sapiens*), Querschnitt durch das Kleinhirn mit Purkinjeschen Nervenzellen, Versilberung mit Silbernitratlösung nach Cajal (90 : 1)

c



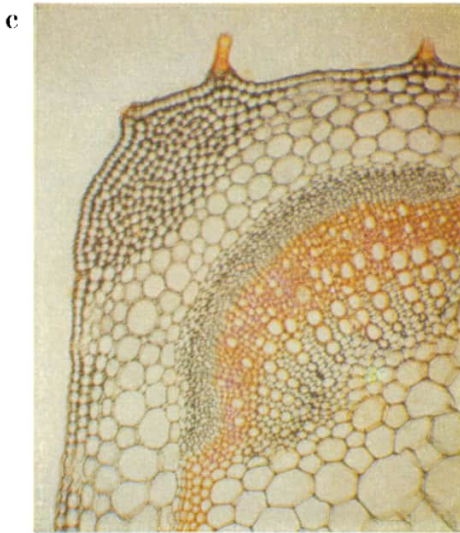
d





**Farbtafel 4**

- a *Lilium* sp.), Staubbeutel im Querschnitt, simultane Doppelfärbung mit Safranin-Lichtgrün (65 : 1)
- b Mensch (*Homo sapiens*), Blutausstrich, Färbung mit Farbfixierlösung nach Giemsa (475 : 1)
- c Weiße Taubnessel (*Lamium album*), Sproßquerschnitt, sukzedane Doppelfärbung mit Kernschwarz-Chrysoidin (50 : 1)
- d Mensch (*Homo sapiens*), quergestreifte Muskulatur der Zunge, Eisenhämatoxylinfärbung ohne Gegenfärbung (100 : 1)



Färbemittel	Färbemethode; Färbedauer	Geeignet für (Zoologisches Material = Z, botanisches Material = B)	Auswaschen; Gegenfärben	Bemerkungen
Lichtgrün	Stück- und Schnittfärbung (0,5- bis 3%ige Lösung); wenige Minuten	B Plasmafärbung, Färbung unverholzter pflanzlicher Membranen	mit Wasser; nach Kern- oder Membranfärbungen mit Hämalaun, Hämatoxylin, Boraxkarmin, Safranin	nicht lichtbeständig, Präparate dunkel aufbewahren
Kernschwarz	Total-, Stück- und Schnittfärbung; 15 bis 60 Minuten	Z, B Kernfärbung, Plasmafärbung, Färbung unverholzter pflanzlicher Membranen; 15 bis 60 Minuten	mit destilliertem Wasser; Eosin, Orange G für tierisches Material, Chrysoidin für pflanzliches Material	Überfärbungen mit HCl-Alkohol differenzieren
Chrysoidin	Stück- und Schnittfärbung; 15 bis 30 Minuten	B Färbung unverholzter Membranen	mit Wasser	Alkoholstufen schnell durchlaufen, Farbstoff zieht stark aus
Karbofuchsin	Färbung von Ausstrichen; $\frac{1}{2}$ bis 1 Minute	B Bakterien	mit Wasser oder 70%igem Äthylalkohol	Färbung sehr kräftig

## Fluorochrome

**Akridinorange NO** (= Akridinorange 2 G) dient der Vitalfluorochromierung lebenden Zellplasmas, lebender Zellkerne, Mitochondrien, Bakterien usw.

Bei einer Verdünnung von 1 : 10000 fluoresziert es grün, bei einer Verdünnung von 1 : 100 rot. Dazwischen liegen gelbe bis orange Farbtöne. Da der Dissoziationsgrad von Akridinorange pH-abhängig ist, muß der pH-Wert zwischen 5 und 7,5 liegen (Phosphatpufferlösung pH 7,7!).

Für die Fluorochromierung fixierter Präparate (Verfahren s. S. 65 ff.) stehen mehrere erprobte Fluorochrome zur Verfügung. Über die Verwendung von **Auramin**, **Rhodamin B**, **Magdalarot**, **Coriphosphin O** u. a. gibt die Fachliteratur Auskunft.

## Injektions-Farbstoffe

Als Injektionsmassen eignen sich schwarze chinesische Tusche (Perltusche), Karmin-Gelatine (s. Farbtafel 1, Abb. c), Berliner-Blau-Gelatine u. a. (s. S. 181). Selbstherstellung der Injektionsmassen lohnt nicht. Einzelheiten sind der weiterführenden Fachliteratur zu entnehmen.

### *Entwässerungs-, Zwischen- und Einbettungsmittel*

Während alle bisher erwähnten Chemikalien zur Herstellung von Frisch- und Dauerpräparaten dienen, werden die folgenden (außer Glycerin) vorwiegend zur Herstellung von Dauerpräparaten verwendet.

Da Dauerpräparate viele Jahre unverändert bleiben sollen, wird den Objekten vor dem Einschluß das Wasser vollständig entzogen. Die Entwässerung erfolgt meist durch Alkohol steigender Konzentration (sog. Alkoholstufen). Zwischenmittel entziehen den Präparaten die letzten Spuren Wasser und leiten zu den Einschlußmitteln über. Weiche Objekte, die in dünne Schnitte zerlegt werden sollen, werden in Einbettungsmittel (z. B. Paraffin) eingeschmolzen. Dadurch erhalten sie die zum Schneiden notwendige Konsistenz.

Glycerin ist eine helle, ölige, wasseranziehende Flüssigkeit, die sich in jedem Verhältnis mit Wasser und Alkoholen mischt. In der Mikrotechnik dient Glycerin als Entwässerungs-, Zwischen- und Einbettungsmittel. Es hellt die Objekte stark auf, zieht allerdings fast alle Farbstoffe völlig aus, da es schwach sauer reagiert (s. Glycerin-gelatine). An Stelle des teuren Glycerins kann für weniger diffizile Arbeiten der billigere Glycerinersatz verwendet werden.

n-Propylalkohol (Propanol, Optal) benötigt man in Lösungen von 30%, 60%, 75% und 96% sowie als absoluten Alkohol zum stufenweisen Entwässern der Objekte (Herstellen der Alkoholverdünnungen s. S. 109). Die Objekte bleiben je nach Größe wenige Minuten (dünne Schnitte, Protozoen) oder bis zu einem Tag (größere Stücke, Totalpräparate) in jeder Alkoholstufe (absoluten Alkohol einmal wechseln!). Optal ist praktisch 100%iger Alkohol. Es braucht nicht entwässert zu werden, reagiert immer neutral und zieht Färbungen sehr viel langsamer aus als Äthylalkohol. Optal dringt sehr langsam ein!

Nelkenöl <Z> ist eine farblose, nach längerer Aufbewahrung bräunliche Flüssigkeit. Sie dient als Aufhellungsmittel für Chitinpräparate sowie als Zwischenmittel. Nelkenöl greift Glas an. Darum muß man darauf achten, daß es niemals mit der Frontlinse des Objektivs in Berührung kommt. Undurchsichtige Chitinteile werden aus 96%igem Alkohol in Nelkenöl gelegt, bis sie völlig aufgehellt sind. Nelkenöl entzieht als Zwischenmittel den Präparaten die letzten Spuren Wasser und kann an Stelle von absolutem Alkohol verwendet werden. Es schädigt aber viele Färbungen; darum werden die Objekte nicht direkt aus dem Öl in das Einbettungsmittel übertragen, sondern stets vorher in Xylol gut abgespült. Nelkenöl läßt sich, zumindest zum Aufhellen von Chitinteilen, oft wiederverwenden.

Karbolxylol wird hergestellt, indem 22 g kristallisierte Karbolsäure (Phenol) in 100 cm<sup>3</sup> Xylol gelöst werden. Es wird als Zwischenmittel zur Entwässerung der Objekte verwendet, wenn kein absoluter Alkohol zur Verfügung steht. Zur Anfertigung von Chitinpräparaten eignet es sich sehr gut, Färbungen werden jedoch mehr oder

weniger geschädigt. Mit Karbolxylol behandelte Präparate müssen sorgfältig mit oft gewechseltem reinem Xylol ausgewaschen werden.

Karbolxylol ätzt stark und ist giftig. (Vorsicht beim Gebrauch!) Für Schülerübungen kommt es nicht in Betracht.

Xylol (Dimethylbenzol) wird sehr oft als Zwischen-, Lösungs-, Aufhellungs- und Reinigungsmittel benötigt. Es reagiert äußerst empfindlich auf Wasser und trübt sich bereits beim Anhauchen (milchiger Anflug). Alle Objekte, die in Xylol übertragen werden sollen, müssen deshalb völlig wasserfrei sein. Xylol mischt sich in jedem Verhältnis mit Nelkenöl, absolutem Alkohol, Benzol und Paraffin. Xylol mit Wasser oder Wasserspuren ist unbrauchbar. Da die normale Handelsware häufig sauer reagiert und Färbungen auszieht, wird nur reinstes Xylol verwendet.

**Benzol** ist als Zwischen-, Lösungs- und Reinigungsmittel im Gebrauch. Objekte, die in Benzol übertragen werden, dürfen keine Wasserreste enthalten. Benzol mischt sich mit Nelkenöl, absolutem Alkohol, Xylol und Paraffin. Es härtet die Objekte sehr stark!

**Paraffin** dient zum Einbetten. Für viele Arbeiten ist Paraffin mit einem Schmelzpunkt von etwa 56 °C (Hartparaffin) geeignet. Für harte Objekte ist Paraffin mit hohem Schmelzpunkt (54 °C bis 56 °C), für weiche dagegen Paraffin mit niedrigem Schmelzpunkt (44 °C bis 46 °C, Weichparaffin) günstiger. Für sehr dünne Schnitte ist immer hartes Paraffin erforderlich. Benutztes Paraffin wird gesammelt und wieder verwendet; es läßt sich nach mehrmaligem Gebrauch besonders gut schneiden. „Neues“ Paraffin muß vor Gebrauch mehrmals stark überhitzt und schnell abgekühlt werden. Dadurch wird das Paraffin elastisch und gut schneidbar.

Um Präparate lange Zeit aufheben zu können, schließt man sie in ein **Einschlußmittel** ein. Es hat die Aufgabe, das Objekt vor Bakterien, Wasser und Schmutz, also vor dem Verderben zu bewahren. Das Einschlußmittel soll einen hohen Brechungsindex aufweisen, glasklar durchsichtig bleiben und Färbungen nicht beeinflussen (Angaben über das Arbeiten mit Einschlußmitteln s. S. 175 ff.).

**Glyzeringelatine** ist in der Anwendung sehr einfach. Zum Einschluß in Glyzeringelatine bestimmte Präparate werden über Glyzerin-Wasser-Gemische steigender Konzentration und reines Glyzerin in das durch Erwärmen verflüssigte Einschlußmittel übergeführt. Es lohnt nicht, Glyzeringelatine selbst herzustellen.

**Kanadabalsam** ist die Lösung des Harzes der Balsamtanne (*Abies balsamea*) in Xylol, sieht bernsteingelb aus, ist glasklar durchsichtig, hat einen hohen Brechungsindex und soll sirupartige Konsistenz aufweisen. Da Balsam äußerst empfindlich auf Wasser reagiert, dürfen nur völlig entwässerte und xyloldurchtränkte Objekte eingeschlossen werden. Kanadabalsam reagiert schwach sauer, zieht also empfindliche Färbungen aus.

**Neutralbalsam** reagiert völlig neutral und ist deshalb dem Kanadabalsam, dem er sonst gleicht, vorzuziehen. In Neutralbalsam halten sich auch empfindliche Färbungen vorzüglich. Kanadabalsam und Neutralbalsam sind Einschlußmittel, die kompliziertere Arbeitsgänge voraussetzen als Glyzeringelatine. Die Präparate sind aber wesentlich länger haltbar.

**Caedax**, vollsynthetisch hergestellt, farblos und völlig neutral reagierend, hat beiden Balsamsorten gegenüber einige Vorzüge, wird aber im übrigen genau wie sie verwendet. Das gleiche gilt für das sehr häufig empfohlene synthetische **Euparal**.



## Hinweise für die Materialbeschaffung

Für die planvolle mikroskopische Arbeit ist es wichtig, das notwendige Material rechtzeitig zu beschaffen. Aus dem Lehrplan und seinem Stoffverteilungsplan ersieht der Lehrer, was er im Laufe des Schuljahres als Untersuchungsmaterial benötigt. Es empfiehlt sich, einen **Sammelkalender** zusammenzustellen.

Er muß folgende Angaben enthalten: Notwendige oder als Ersatz brauchbare Arten, Fundort, beste Sammelzeit, benötigte Teile, Konservierungsart, Termine für die Anlage von Zuchten bzw. Kulturen.

Tiere und Pflanzen, die nicht selbst beschafft werden können, erhält man möglicherweise durch Tausch von einer anderen Schule.

Häufig findet man auf Wanderungen geeignetes Untersuchungsmaterial. Der Lehrer sollte einige Fläschchen hochkonzentrierter Fixierlösungen (40%iges Formalin), ein Exkursionsbesteck (s. S. 39) und kleine Fläschchen mit 70%igem Alkohol bei sich haben, um empfindliches Material sofort abtöten und fixieren zu können. (Die Korken müssen durch Eintauchen in flüssiges Paraffin undurchlässig gemacht worden sein.) An kürzeren **Sammelexkursionen** sollen zumindest einige Mitglieder der Arbeitsgemeinschaft teilnehmen. Sie können dadurch ihre Kenntnisse über die im Unterricht behandelten Arten und ihre Lebensräume vertiefen, am Standort Skizzen und Fotos anfertigen sowie wichtige Angaben notieren (Ort, Zeit, besondere Umstände, Sammelobjekt usw.). Auch im Schulgarten kann Untersuchungsmaterial angebaut werden.

**Planktonfänge** aus stehenden oder langsam fließenden Gewässern liefern ebenfalls Untersuchungsmaterial. Sie enthalten meist zahlreiche Tier- und Pflanzenarten.

Zum Fang wird ein feinmaschiges Netz aus Seidengaze verwendet. Das Netz wird aus einem Stück Gaze hergestellt und an seiner unteren Öffnung ein leichtes, durchsichtiges Gefäß befestigt. Das Netz wird langsam durchs Wasser gezogen. Beute, die nicht sofort untersucht werden soll, kommt in ein mit Tümpelwasser gefülltes Kleinaquarium (Kleinkrebse und Hydren fernhalten!). Der Boden wird mit einer 3 cm bis 5 cm hohen Sandschicht bedeckt. Als Sauerstoffspender werden Wasserpflanzen (z. B. Wasserpest, Hornkraut, Tausendblatt) eingesetzt. Um die Entwicklung der Planktonten zu beschleunigen, gibt man ab und zu einige Tropfen rohen Fleischsafts, etwas Eigelb bzw. Milch in das Wasser oder hängt an einem Faden Fleischstückchen hinein. Die Kleinaquarien dürfen direkter Sonneneinstrahlung nicht ausgesetzt werden. Sie werden mit einer auf Reitern liegenden Glasplatte abgedeckt.

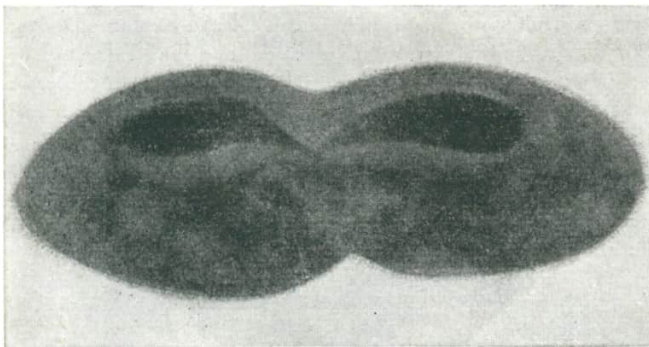


Abb. 132/1 Pantoffeltierchen (*Paramaecium caudatum*); starke Verlagerung des in Teilung befindlichen Kerns durch zu starkes Zentrifugieren

Zur Konzentration eines Planktonfanges oder sonstiger Materialproben dient die **Handzentrifuge**. Es wird mit allmählich gesteigerter Geschwindigkeit höchstens 5 min lang zentrifugiert. Zentrifuge langsam auslaufen lassen, nicht bremsen!

Bei großer Geschwindigkeit können zarte Planktonten durch die starke Fliehkraft deformiert oder sogar zerquetscht werden. Die Kerne können sich verlagern (s. Abb. 132/2) und beim Untersuchen zu Trugschlüssen führen.

Metazoen müssen meist seziiert werden, ehe sie mikroskopisch untersucht werden können. Sollen Dauerpräparate hergestellt werden, wird in physiologischer Kochsalzlösung seziiert (s. S. 105 f.). Schmutzige Flüssigkeit im Sezierbecken muß sofort ersetzt werden.

Die Organe, die verarbeitet werden sollen, werden möglichst schnell nach der Tötung herauspräpariert, in physiologischer Kochsalzlösung abgespült und in die Fixierflüssigkeit gelegt (jeder Teil in ein besonderes Schälchen, damit keine Verwechslungen entstehen). Es empfiehlt sich, Stücke des gleichen Organs in zwei verschiedenen Mitteln zu fixieren.

## Herstellung von Präparaten

### *Allgemeine Hinweise zur Herstellung von Frischpräparaten*

Nachstehend werden einige allgemeine Handgriffe beschrieben, die für die Herstellung von Frischpräparaten wichtig sind. Alle schwierigen Arbeiten (z. B. Mazerationen, Zupf-, Quetsch- und Schneidetechniken) werden auf Seite 167 ff. geschildert.

Jedes Objekt wird zuerst in einer Flüssigkeit untersucht, die es nicht angreift; Planktonproben im Tümpelwasser, Teile von Wirbeltieren in physiologischer Kochsalzlösung usw. Das Objekt bringt man auf die Mitte des Objektträgers und gibt dazu einen Tropfen der Untersuchungsflüssigkeit. Dann wird das Präparat bei schwacher Vergrößerung auf seine Verwendbarkeit überprüft und anschließend ein Deckglas aufgelegt. Dabei ist darauf zu achten, daß keine Luftblasen unter das Deckglas gelangen und das Objekt nicht beschädigt wird. Man faßt das Deckglas zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand, setzt es mit der linken Kante an den Rand des Flüssigkeitstropfens auf den Objektträger und stützt diese Kante mit dem linken Mittelfinger. Dann nimmt man in die rechte Hand eine Präpariernadel und faßt mit der Spitze unter die rechte Kante des Deckglases, läßt mit dem linken Daumen und Zeigefinger das Deckglas los und senkt es langsam mit der Präpariernadel.

Ist zu viel Flüssigkeit unter dem Deckglas, so wird sie mit einem Filtrierpapierstreifen abgesaugt, ist zu wenig Flüssigkeit darunter, dann wird mit einer Pipette etwas Flüssigkeit zugesetzt. Ist Flüssigkeit auf das Deckglas gekommen, so wird es ausgewechselt.

Damit empfindliches Untersuchungsmaterial (z. B. *Volvox*) nicht zerquetscht wird, muß das Deckglas durch untergelegte Haare, Deckglassplitter oder Kapillaren gestützt werden. Bei Planktonproben genügt es, einige Algen oder etwas Detritus mit einzudecken. Es ist vorteilhaft, Wachsfüßchen zu benutzen. Dazu wird aus einer kleinen Bienenwachskugel mit jeder Ecke des Deckglases ein Stückchen herausgestochen. Das Wachs bleibt am Glas kleben. Beim Aufsetzen des Deckglases auf den Objektträger dürfen die Wachsfüßchen nicht in die Flüssigkeit tauchen, weil sie an benetzten Stellen nicht halten. Um Objekte, die sich schnell bewegen (z. B. Rotatorien), zur besseren

Untersuchung festzuklemmen, wird mit der Präpariernadel etwas auf die Ecken des Deckglases gedrückt. Soll die Untersuchungsflüssigkeit durch eine andere Flüssigkeit (Farblösung, Mazerationsmittel) ersetzt werden, so gibt man an der einen Deckglaskante mit einer spitz ausgezogenen Pipette langsam die neue Flüssigkeit zu und saugt mit einem Filtrierpapierstreifen an der gegenüberliegenden Deckglaskante die alte Flüssigkeit ab, bis der gewünschte Effekt eingetreten ist.

Damit das Untersuchungsmaterial nicht mit ausgeschwemmt wird, wird bei der Herstellung von Planktonpräparaten gleich ein Algenfilz an die Absaugkante (meist rechts) gelegt.

Wenn eine schnell eintretende Reaktion beobachtet werden soll, läßt man die Flüssigkeit von einem Helfer durchsaugen (z. B. 0,2%ige Essigsäure bei *Hydra* als Reiz für das Ausschleudern der Nesselzellen).

Vitalfarbstoffe werden nicht durchgesaugt. Man setzt sie entweder der Untersuchungsflüssigkeit zu oder läßt auf dem Deckglas ein Tröpfchen der Farbflüssigkeit eintrocknen, das sich dann in der Untersuchungsflüssigkeit löst.

Sollen bestimmte Flüssigkeiten nur an eng begrenzten Stellen unter das Deckglas gebracht werden, so werden dazu fein ausgezogene Haarröhrchen oder Pipetten benutzt. Um beispielsweise reizphysiologische Untersuchungen bei Pantoffeltierchen durchzuführen, werden nacheinander Haarröhrchen mit Essigsäure verschiedener Konzentration unter das auf Wachsfüßchen stehende Deckglas geschoben. Wird die Essigsäure vorher mit Vitalfarbstoff gefärbt, so läßt sich die Vermischungszone an der Spitze der Kapillare gut erkennen.

Um von einem kleinen Tier Unter- und Oberseite nacheinander beliebig oft betrachten zu können, saugt man es unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrößerung in eine fein ausgezogene Pipette ein, bricht dann die haardünne Spitze der Pipette ab und legt sie mit dem Tier auf einen Objektträger unter ein Deckglas mit Wachsfüßchen. Wenn die Kapillare gedreht wird, kann das Tier von allen Seiten untersucht werden. Auch zum Herausfangen einzelner Protozoen oder anderer kleiner Lebewesen benutzt man eine feine Pipette (solche Arbeiten gelingen am besten und schnellsten unter dem Stereomikroskop).

Im **hängenden Tropfen** können isolierte Lebewesen lange Zeit leben. Entwicklungs- und Vermehrungsvorgänge lassen sich studieren, ohne daß die Organismen gestört werden. Man verwendet Objektträger mit Hohlschliff und stützt das Deckglas mit dem hängenden Tropfen durch einen Tragering aus säurefreier Vaseline (s. Abb. 135/1). Sollen zur Untersuchung (z. B. von Hefekulturen) Immersionssysteme benutzt werden, muß der hängende Tropfen sehr flach sein, damit auf alle Ebenen scharf eingestellt werden kann.

Bei Hohlschliffträgern stören die Schleifspuren. **Objektträgerkammern**, die auf normale Objektträger aufgesetzt werden, sind besser geeignet. Dazu schneidet man sich aus Filtrierpapier quadratische Stücke in der Größe der Deckgläser, stanzt mit einem Locheisen in der Mitte eine runde Öffnung aus und schichtet die Filtrierpapierstücke so hoch übereinander, bis das Deckglas in der richtigen Höhe über dem Objektträger liegt (s. Abb. 135/1). Das Filtrierpapier wird während der Untersuchung feucht gehalten. Sollte der Objektträger nach einiger Zeit beschlagen, dann wird die Kammer auf einen anderen gesetzt. Präparate, die längere Zeit erhalten bleiben sollen, werden in einer großen feuchten Kammer oder in einer geschlossenen Petrischale aufbewahrt. Auf den Boden der Kammer kommt eine Lage feuchtes Filtrierpapier; die Glocke wird mit Vaseline abgedichtet. Auf diese Weise halten sich auch normale Frischpräparate einige Zeit.

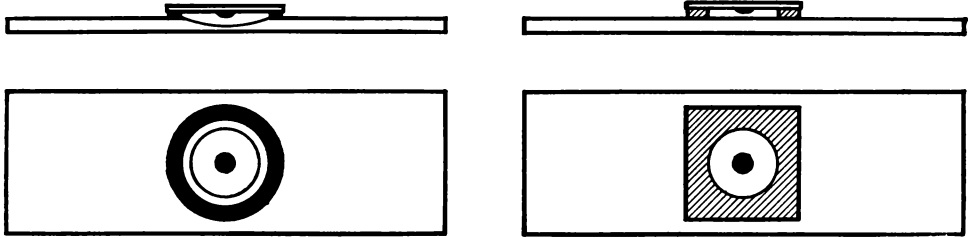


Abb. 135/1 Hängender Tropfen; links Objektträger mit Hohlsliff, rechts normaler Objektträger mit Objektträgerkammer

In einem gewöhnlichen Plankton-Frischpräparat trocknet die Flüssigkeit bald ein; die Organismen gehen zugrunde. Für langfristige Untersuchungen werden deshalb **Objektträger-Mikroaquarien** verwendet.

Auf einen normalen Objektträger bringt man eine Planktonprobe, die nur wenige Lebewesen, darunter unbedingt einige Algen, enthält. Als Nahrung wird etwas Detritus (Faulschlamm) zugesetzt. Dann wird mit einem Deckglas (20 mm × 26 mm), das mit hohen Wachsfüßen versehen ist, abgedeckt. Dabei werden einige Luftblasen mit eingefangen. Der Raum unter dem Deckglas muß, wie üblich, ausgefüllt sein. Hervorgetretenes Wasser läßt man verdunsten. Sobald die Ränder des Deckglases lufttrocken sind, wird mit säurefreier Vaseline ein luftdichter Verschuß angebracht, der die weitere Verdunstung der Flüssigkeit verhindert. Dazu wird eine angewärmte Lanzettnadel verwendet. Wenn der Verschuß dicht bleibt und das Mikroaquarium vor Sonnenbestrahlung geschützt wird, kann es sich über mehrere Tage halten und interessante Einblicke in das Leben der Organismen vermitteln.

### *Küvetten-Mikroskopie*

Die Küvetten-Mikroskopie ermöglicht – dem bisher geübten Objektträgerverfahren gegenüber – einen weitgehenden Fortschritt bei der Untersuchung lebender Kleinorganismen unter annähernd natürlichen Bedingungen in einem relativ großen Lebensraum und bei zufriedenstellender mikroskopischer Beobachtungsmöglichkeit (s. Farbtafel 2, Abb. a, b).

**Vorteile der Küvetten-Mikroskopie:**

- Die Untersuchungsobjekte können weitgehend ungestört unter naturnahen Umweltverhältnissen studiert werden.
- Bei entsprechender Betreuung der Küvetten können die Lebewesen Wochen und Monate hindurch beobachtet werden.
  - Material für Demonstrationszwecke kann über lange Zeit bereitgehalten werden.
  - Lebewesen, die beim Objektträgerverfahren fast nur flächenhaft von oben gesehen werden, können in Seiten- und Vorderansicht betrachtet werden.
- Küvetten-Frischpräparate können in horizontaler oder vertikaler Lage untersucht werden.
  - Stereoskopische Betrachtung ergibt die besten Eindrücke und ist ohne Schwierigkeiten möglich.
  - Mikrofotos können leicht hergestellt werden; allerdings setzen Lebendaufnahmen meist die Benutzung eines Elektronenblitzgerätes voraus.

– Küvetten können behelfsmäßig relativ leicht hergestellt werden.

Nachteile der Küvetten-Mikroskopie:

– Moderne Mikroskopstative ermöglichen nur die Untersuchung waagrecht liegender Küvetten. Behelfsmäßig lassen sich ältere, zum Beispiel um  $90^\circ$  kippbare Stative verwenden. Optimale Untersuchungsmöglichkeiten setzen eine eigens zusammengestellte Einrichtung zur Küvetten-Mikroskopie voraus: Horizontal-Mikroskop ohne Kondensator mit binokularem Schrägtubus auf schwerem Säulenstativ mit Höhen- und Seitenverstellung, Hilfsstativ zur Küvettenhalterung und Niedervolt-Mikroskopierleuchte zur Durchlichtbeleuchtung.

– Untersuchungen lassen sich nur mit schwachen und mittleren Vergrößerungen durchführen (Objektivvergrößerung bis maximal 30 : 1).

– Feuchtküvetten müssen regelmäßig gewartet werden.

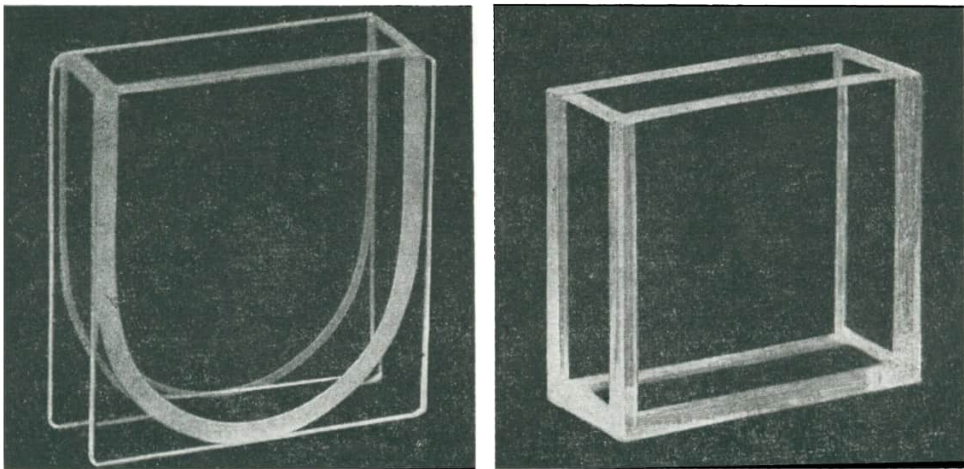
### Hinweise zur Küvetten-Mikroskopie

Die **Beobachtungsküvetten** müssen aus planparallelen Gläsern hergestellt sein. Die käuflichen Ganzglasküvetten (s. Abb. 136/1) sind optisch völlig einwandfrei, aber teuer. Die Selbsherstellung einfacher Beobachtungsküvetten ist zu empfehlen.

Als Küvettenwände dienen möglichst dünne und absolut schlierenfreie Dia-Gläser  $5\text{ cm} \times 5\text{ cm}$ , die sorgfältig gereinigt werden. Als Abstandhalter zwischen den Wänden bzw. zur seitlichen und unteren Abdichtung nimmt man Gummiringe, Gummischlauch oder gummierte Litze (roter Gummi ist weniger giftig als schwarzer!) in Dicken zwischen 1 mm und etwa 10 mm. Die notwendige Tiefe des Beobachtungsraums hängt natürlich von der vorgesehenen Verwendung ab.

Am besten werden die Küvetten gleich serienweise hergestellt. Dazu verflüssigt man Paraffin eines mittleren bis niedrigen Schmelzpunktes im Wasserbad, legt die Gummiringe einige Zeit in das geschmolzene Paraffin, wärmt die Dia-Gläser vor und legt nach Abtropfen überflüssigen Paraffins die Gummiringe so zwischen zwei Gläser, daß eine

Abb. 136/1 Beobachtungsküvetten



obere Küvettenöffnung frei bleibt. Anschließend die Küvette beschweren (Bleiklötzchen) und erkalten lassen.

Das Paraffin ist physiologisch indifferent. Da Paraffinküvetten nicht sehr haltbar sind, wurden die unterschiedlichsten anderen Kittsubstanzen erprobt. Sie erwiesen sich – einschließlich Kanadabalsam – als mehr oder weniger schädlich für die Organismen. Als Ausweg bietet sich an, unparaffinierte Gummistreifen zwischen die Gläser zu legen und das Ganze durch drei Stahlklammern zusammenzuhalten. Solche Küvetten sind unhandlicher, aber haltbarer als Paraffinküvetten.

Trockenküvetten (z. B. für Wurzeluntersuchungen, Untersuchungen an luftatmenden Kleintieren) können mittels anderer Kittsubstanzen zusammengefügt werden.

Die Küvettenbesiedlung wird mit einer Saugpipette ohne verengte Spitze vorgenommen. Für hydrobiologische Arbeiten empfiehlt es sich sehr, einige Algen (geeignet sind *Chladophora*-Arten) oder kleine Sproßstücke der Wasserpest (*Elodea canadensis* oder *E. densa*) als Sauerstofflieferanten mit einzubringen. Keinesfalls sollen zu viele Organismen in die insgesamt nur geringe Flüssigkeitsmenge gebracht werden. Der störende Algenbewuchs an den Innenwänden lange stehender Küvetten wird mit einem kleinen Spatel abgeschabt.

Die Küvettenaufbewahrung erfolgt in einem nördlich gelegenen, kühlen Doppelfenster. Die Küvetten werden stehend aufbewahrt. Direktes Sonnenlicht wird durch Pergamentpapier oder Mattglasscheiben ferngehalten. Regelmäßig – mindestens jedoch zweimal wöchentlich – wird verdunstetes Wasser durch Brunnenwasser, Regenwasser oder destilliertes Wasser ersetzt.

Das **Stereomikroskop TECHNIVAL** des VEB Carl Zeiss JENA ist für küvettenmikroskopische Untersuchungen sehr gut geeignet. Besondere Vorteile sind der große, gleichbleibende Arbeitsabstand, das einfache Wechseln der Vergrößerung durch Drehen der Schaltwalze und der plastische Effekt der Bilder. Bei einem unveränderten Arbeitsabstand von 104 mm können Vergrößerungen von 6,3- bis 100fach eingestellt werden (s. Abb. 26/1).

Als vereinfachtes Küvettenmikroskop läßt sich prinzipiell jedes Mikroskop verwenden. Bis zu einem Wandabstand von etwa 4 mm ist die Oberflächenspannung des Wassers in der gefüllten Küvette so groß, daß der Küvetteninhalt nicht ausläuft, wenn die Küvette waagrecht auf den Mikroskoptisch gelegt wird.

Für viele spezielle Beobachtungen (z. B. von Bewegungsvorgängen) ist es vorzuziehen, die senkrecht stehende oder nur leicht geneigte Küvette mit dem **Horizontalmikroskop** von der Seite zu betrachten. Da Horizontal-Binokulartuben kaum zur Verfügung stehen dürften, wird die Gesamteinrichtung so hoch aufgebaut, daß ein bequemer Horizontaleinblick ins Okular möglich ist. Selbstverständlich kann auch – bei in normaler Höhe stehendem Mikroskop – ein Prisma auf das Okular aufgesetzt werden, so daß ein senkrechter Einblick (Bild aufrecht und seitenverkehrt) möglich ist. Dabei ist jedoch nie das gesamte Gesichtsfeld zu übersehen (Schlüssellochsehen). Vorzuziehen ist eine Behelfslösung, bei der die Gesamteinrichtung leicht schräg aufgebaut ist. Das hat sowohl den Vorzug einer normalen Lichtführung einschließlich der Möglichkeit der Dunkelfeldbeleuchtung, als auch einer einigermaßen bequemen Beobachtung ohne Beschränkung des Sehfeldes. Die Küvetten werden mit einer starken Klemme am Mikroskoptisch so befestigt, daß sie zur Durchmusterung seitlich und in der Höhe verschoben werden können (Kreuztisch, vereinfachter Kreuztisch, Verschieben mit der Hand). Eine geeignete Klemme kann – unter Benutzung der Bohrungen für die Tischfedern – leicht selbst angebracht werden. Alle Beobachtungen werden mit Lupen-

vergrößerungen begonnen! Die Kondensorapertur muß der n. A. des verwendeten Objektivs angepaßt werden! Sehr instruktiv sind Dunkelfeldbeobachtungen (Zentralblenden einlegen, s. S. 50 f.). Beobachtungen im Auflichtdunkelfeld sind möglich. Für mikrofotografische Arbeiten eignet sich normale Hellfeld-Durchlicht-Beleuchtung mit Aufhellung durch einen seitlich von der Küvette angeordneten Elektronenblitz. Gleiches gilt für Aufnahmen im Auflicht-Dunkelfeld, nur daß hier der Elektronenblitz über oder unter der nur als Pilotleuchte dienenden Mikroskopierleuchte angeordnet wird.

#### Beispiele für küvettenmikroskopische Beobachtungen

Vorgänge	Beispiele für geeignete Objekte
Wachstums- vorgänge	Algen, höhere Wasserpflanzen, Wurzelwachstum bei Sproßpflanzen
Fortpflanzungs- und Entwicklungs- vorgänge	Einzeller (besonders Amöben), Knospung bei Hydren, Embryonen in den Eiern von Wasserschnecken, Lurchen und Insekten
Häutungs- vorgänge	wasserlebende Insektenlarven, Wasserasseln
Reizphysiologische Vorgänge	Planktonorganismen (Phototaxis, Geotaxis, Wirkung von Narkotika)
Verhaltensweisen	Freßgemeinschaften (z. B. von Sonnentierchen), Gehäusebau bzw. Bau von anderen Schutzhüllen (z. B. bei Köcherfliegenlarven)
Organfunktionen	Organbewegungen in frisch gehäuteten Insektenlarven (Herz, Darm), Blutströmung in Kiemen oder im Schwanzsaum von Lurchlarven, Nahrungsaufnahme, Fangbewegungen (z. B. bei Hydren)

Die Küvettenmikroskopie ist eine wertvolle Ergänzung bisher bekannter Untersuchungsverfahren. Für Demonstrationszwecke ist sie auch für den Unterricht geeignet. Über den Einsatz bei Schülerübungen konnte der Verfasser noch keine Erfahrungen sammeln.

#### *Wichtige Methoden zur Herstellung von Frisch- und Dauerpräparaten*

Im folgenden Kapitel werden 15 wichtige Methoden zur Herstellung von Frisch- und Dauerpräparaten so zusammengestellt und angeordnet, daß nach Möglichkeit mit den leichten und häufig angewendeten begonnen und mit den schwereren und weniger gebräuchlichen Methoden geschlossen wird. Bei jeder Methode ist, soweit notwendig, die Herstellung eines oder mehrerer typischer Präparate beschrieben. Dabei werden die

Frischpräparate vor den Dauerpräparaten abgehandelt. Bei den meisten Präpariermethoden werden Hinweise auf Variationsmöglichkeiten bezüglich des Untersuchungsmaterials gegeben. Wer noch keine sicheren Kenntnisse über die Präpariermethoden besitzt, sollte die beschriebenen Arbeitsgänge an jeweils mehreren Objekten sorgfältig üben. Die Schemata am Ende jeder Präpariermethode geben als Übersichten den grundsätzlichen Ablauf der Präparationen an. Der Fortgeschrittene wird sie nach seinen Erfahrungen variieren. Der Anfänger sollte sich jedoch zunächst an die Schemata halten. Einzelheiten über die Einwirkungsdauer der Chemikalien bei den verschiedenen Objekten sind dem speziellen Teil zu entnehmen.

Bei der Herstellung von Dauerpräparaten ist folgendes zu beachten:

1. Sie sollen die wichtigsten Merkmale des eingeschlossenen Objekts klar und übersichtlich zeigen.
2. Sie müssen viele Jahre unverändert haltbar sein. Farben und Färbungen dürfen nicht verbleichen.
3. Die Beobachtung darf nicht durch eingeschlossene Fremdkörper (Staubpartikel, Luftblasen) gestört werden.
4. Das Einschlußmittel soll einen auf das eingebettete Objekt abgestimmten Brechungsindex haben, glasklar durchsichtig und möglichst farblos bleiben.
5. Objektträger, Deckgläser sowie Lackringe müssen unversehrt sein.
6. Zwei Etiketten auf jedem Präparat müssen Aufschluß über das eingebettete Objekt geben.

## Methode 1: Präparate trockener Objekte

Trockene Objekte können ohne Vorbereitung mikroskopisch untersucht werden (z. B. viele Pflanzen- und Tierhaare, Vogelfedern, Schmetterlingsschuppen, Kieselalgen, Foraminiferenschalen aus Kreide, Insektenhäute und -flügel, trockene Pflanzenhäute, Pollen, Sporen). Allerdings beschränkt sich die Untersuchung solcher Objekte, die kaum durchsichtig sind, häufig auf die Beobachtung äußerer Merkmale mit geringen Vergrößerungen. Zur Betrachtung im Frischpräparat können lufttrockene Objekte ohne Deckglas auf einem Objektträger untersucht werden. Diese Objekte lassen sich leicht einschließen und ergeben gute Dauerpräparate.

Als Einschlußmedien für trockene Objekte kommen Luft, Glyzeringelatine und Harze in Frage. Sie haben den Zweck, die Objekte vor dem Verderben zu bewahren und unter möglichst günstigen optischen Bedingungen zu zeigen.

Die Einschlußmittel, mit denen es sich am leichtesten arbeitet (Luft und Glyzeringelatine), sind in bezug auf die Dauerhaftigkeit und sonstige Qualität der Präparate relativ ungünstig. Alle Einschlußharze setzen, da nur wasserfreie Objekte eingebettet werden dürfen, umfangreiche Vorbereitungsarbeiten voraus, liefern dann aber auch sehr gute Ergebnisse. Aus diesem Grunde wird der Einschluß in Harze bei jeder Methode ganz besonders berücksichtigt. Bei allen komplizierten Färbemethoden (s. S. 118 ff.) muß in neutrale Harze eingeschlossen werden.

**Pollen im Lufteinschluß.** Während der Vegetationsperiode wird Blütenstaub verschiedener Pflanzen gesammelt. Er kommt in Tablettenröhrchen, die sofort etikettiert und mit einem Wattepfropfen verschlossen werden.

Zur Herstellung eines Dauerpräparats wird ein rundes Deckglas mit Wachsfüßchen versehen. Klebriger Pollen wird auf das Deckglas gestäubt, an dem er haften bleibt.





Abb. 140/1 Lilie (*Lilium* sp.);  
Pollen (63:1/250:1)

Dabei dürfen keine Pollenhäufchen entstehen. Nichtklebender Pollen wird, eventuell mit Hilfe eines trockenen Pinsels, auf einen bereitgelegten Objektträger gestäubt. Nun wird das Deckglas aufgelegt (s. Abb. 140/1).

Beim Auflegen sollte eine Präparierplatte verwendet werden. Sehr gut eignen sich fotografische Platten des Formats 9 cm × 12 cm. von denen in heißem Wasser die Gelatineschicht entfernt worden ist. Auf ein Stück gleich großen Zeichenkartons wird der Umriß eines Objektträgers 26 mm × 76 mm mit in der Mitte aufgelegtem Deckglas eingezeichnet. Außerdem werden noch die Umrisse anderer Deckglasformen und -größen eingezeichnet. Die Zeichnung klebt man mit Klebstreifen unter die Glasplatte, auf deren Oberseite dann gearbeitet werden kann. Gute Dienste leistet eine zweite, ebenso hergestellte Präparierplatte, bei der eine Hälfte weiß, die andere schwarz ist. Dunkle Objekte werden auf der hellen, helle auf der dunklen Seite präpariert (s. Abb. 140/2).

Mit angewärmter Vaseline wird eine Kittleiste zwischen Deckglas und Objektträger gezogen. Da die Abdichtung nicht beständig genug ist, erhält sie noch einen Überzug mit Ringelack. Empfehlenswert ist eine Mischung von Asphaltlack (schwarz) und Bernsteinlack (gelb) im Verhältnis 1:1. Der Lack soll sirupartige Konsistenz haben. Auch mit dem käuflichen Ringelack läßt sich gut arbeiten. (Aufbewahren in einer Weithalsflasche!) Terpentinöl dient bei allen Lacken als Verdünnungsmittel. Ringelacke müssen

Abb. 140/2 Kombinierte Präparierplatte

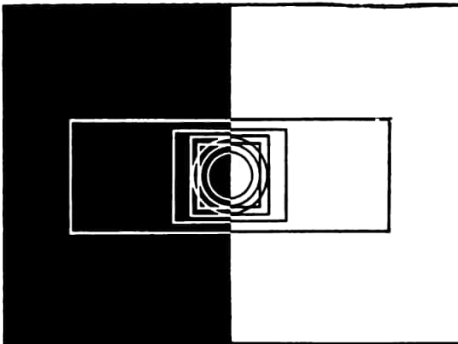
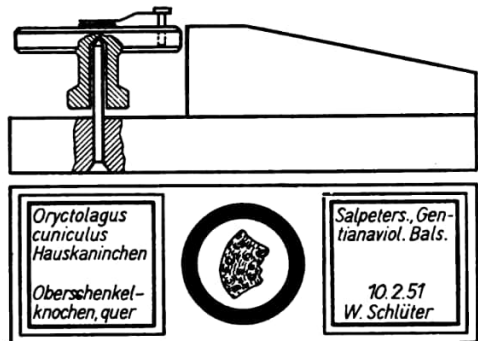


Abb. 140/3 Lackringdrehscheibe (oben)

Abb. 140/4 Vollständig beschriftetes Präparat



schnell trocknen, die trockenen Schichten dürfen keine Risse bilden und müssen benzolunlöslich sein, da sonst Präparate mit Lackring nach Immersionsuntersuchungen nicht gereinigt werden können.

Lackverschlüsse werden mit einem nur zu diesem Zweck benutzten spitzen Pinsel gezogen. Die erste Lackschicht soll nur in einem dünnen Film aufgetragen werden und auf Deckglas und Objektträger übergreifen, so daß eine völlig lückenlose Verbindung entsteht. Wenn diese erste Schicht völlig lufttrocken ist, wird eine zweite, etwas dickere Schicht aufgetragen. Lackringe müssen von Zeit zu Zeit mit einer Lupe (umgekehrtes Okular) auf eventuelle Risse kontrolliert werden. (Bei Beschädigung sofort über die alten Ringe einen neuen Ring ziehen!)

Alle Präparate mit Luft- und Glyzeringelatineeinfluß müssen eine solche Lackumrandung erhalten. Jeder Lackring soll sauber aussehen. Bei quadratischen Deckgläsern kann man den Lackabschluß mit Hilfe eines Pappstreifens aufstempeln, der etwa 2 mm länger als eine Deckglaskante sein soll. Schwierig ist es, runde Deckgläser aus freier Hand sauber zu umranden. Mit der Lackringdreh Scheibe (s. Abb. 140/3) kann die Arbeit schnell und sauber ausgeführt werden.

Das Präparat wird genau zentriert (Rillenmarken!) auf der Drehscheibe festgeklemmt. Die rechte Hand wird so auf die Handauflage gelegt, daß der Pinsel senkrecht über dem Präparat steht. Der linke Daumen dreht die Scheibe mit mäßiger Geschwindigkeit. Ruhig setzt man den Pinsel auf und zieht einen Kreis. Zu dünner Lack zerfließt, zu dicker Lack kleckst. Lackringdreh Scheiben können mit einigem Geschick selbst gebaut werden.

Der Einfluß in Luft läßt sich mit Hilfe der Lackringdreh Scheibe noch weiter vereinfachen. Auf dem Objektträger zieht man einen Lackring in der Größe des zu verwendenden Deckglases. Die Dicke des Ringes muß sich nach der des Objekts richten. Kurz bevor der Ring ganz trocken ist, wird das Untersuchungsmaterial in den Ring gestreut und das Deckglas aufgelegt, das sofort mit der Oberseite des Ringes verklebt. Man kann außerdem das Deckglas etwas andrücken oder den Rand mit einer heißen Nadel umfahren, damit er besser anklebt. Wenn der erste Lackring ganz trocken ist, zieht man noch einen zweiten Ring, der über den Deckglasrand reicht. Erst dann ist das Präparat luftdicht eingeschlossen. Dieses Verfahren läßt sich selbstverständlich auch bei quadratischen Deckgläsern durchführen, nur muß dann der Lack mit der Hand aufgetragen werden.

Jedes Präparat bekommt sofort eine Nummer; sie wird mit Tinte oder Faserschreiber aufgetragen. Unter der gleichen Nummer werden im Präpariertagebuch alle Angaben notiert. Nach der endgültigen Fertigstellung wird das Präparat mit 2 Etiketten versehen. Auf das linke Etikett kommen der lateinische und der deutsche Name der Art und Angaben zum Objekt. Auf dem rechten Etikett vermerkt man die Art der Fixierung und Färbung sowie Einflußmittel, Herstellungsdatum, Name des Präparators und Sammlungs- oder Präpariertagebuchnummern (s. Abb. 140/4).

Schale der Küchenzwiebel in Glyzeringelatine. Etwas schwieriger als der Luft einfluß ist der Einfluß in Glyzeringelatine, er hat aber verschiedene Vorteile. Gelatinepräparate halten sich wesentlich länger; die eingeschlossenen Objekte werden stark aufgehellt. Grundsätzlich sollen alle in Gelatine einzubettenden Objekte erst mit reinem Glycerin durchtränkt werden.

Etwas  $\frac{1}{2}$  cm<sup>2</sup> große quadratische Stücke der braunen äußeren Schale der Küchenzwiebel (*Allium cepa*) kommen für etwa eine Stunde zum Aufhellen in Glycerin. Da Glyzeringelatine bei normaler Temperatur erstarrt, muß sie durch Erwärmen ver-

flüssigt werden. Gelatine, die häufig erwärmt und wieder abgekühlt wurde, wird nicht mehr steif. Daher sticht man aus der Vorratsflasche nur die benötigte Menge heraus, überträgt sie in ein Reagenzglas und erwärmt im Wasserbad (Becherglas). Mit einem Glasstab bringt man dann einen Gelatinetropfen in die Mitte eines vorgewärmten Objektträgers. (Wenn man Gelatinestückchen direkt auf dem Objektträger über der Spiritusflamme schmilzt, kommen leicht Luftblasen in das Präparat.) Danach wird mit einer Lanzettnadel vorsichtig ein Stückchen Zwiebelschale in den Gelatinetropfen geschoben. Je weniger Glycerin dabei in die Gelatine kommt, desto besser gelingt das Präparat. Man läßt also die Schalenstückchen erst etwas abtropfen bzw. streicht sie ab. Das Einbetten muß sehr schnell geschehen, bevor die Gelatine erstarrt. Auftretende Luftblasen können durch Anstechen mit einer heißen Nadel entfernt werden. Das Deckglas muß erwärmt und vorsichtig aufgelegt werden; dabei eingefangene Luftblasen lassen sich nicht mehr entfernen. Der Gelatinetropfen soll so bemessen sein, daß er den Raum zwischen Deckglas und Objektträger gerade ausfüllt; nötigenfalls wird noch flüssige Gelatine zugesetzt. Nach dem Erkalten wird die unter dem Deckglas hervorgequollene Gelatine mit einem kleinen Messer oder einer Rasierklinge entfernt. Die Präparate werden einige Tage waagrecht gelagert. Bei mikroskopischer Betrachtung sieht man sehr viele Kristalle, die hell aus der braunen Haut aufleuchten; die Zellmembranen sind durch das Eintrocknen stark deformiert worden (s. Abb. 142/1).

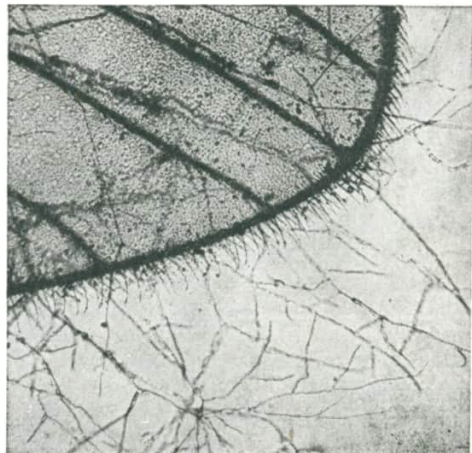
Präparate mit Glyceringelatine-Einschluß verderben schnell, wenn das Glycerin Wasser aus der Luft aufnehmen kann (s. Abb. 142/2). Deshalb werden sie mit Lackringen versehen. Das darf erst nach 1 bis 2 Monaten geschehen, weil in der ersten Zeit das Einschlußmittel noch Wasser abgibt. Man umrandet nur mit einer dünnen Lackschicht und wiederholt das noch ein- bis zweimal. Der Lackring darf nicht so dick sein, daß er das Umschwenken der Objektive behindert.

Der Einschluß in Glyceringelatine hat noch folgende Nachteile: Da Gelatine ein guter Nährboden ist, können Bakterien schlecht verschlossene Präparate leicht zerstören. Deshalb wird der Glyceringelatine Karbolsäure zugesetzt. Das hat aber zur

Abb. 142/1 Zwiebel (*Allium cepa*); Schale mit Kristallen im polarisierten Licht (35 : 1/80 : 1)



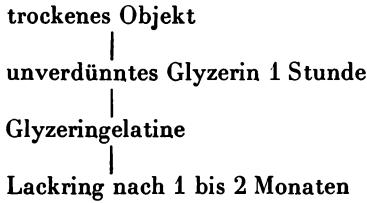
Abb. 142/2 Stechmücke (*Culex* sp.), Flügel; verdorbener Glyceringelatine-Einschluß (16 : 1/56 : 1)



Folge, daß durch die saure Reaktion des Einschlußmittels die künstlichen und natürlichen Färbungen der Objekte angegriffen und bald völlig ausgezogen werden. Einigermaßen befriedigend halten sich in Glyzeringelatine nur Karmin- und Fuchsfärbungen. Für fast alle künstlich gefärbten Objekte kommt Glyzeringelatine als Einschlußmittel nicht in Betracht. Zur Mikroprojektion sind Gelatinepräparate weniger geeignet, da die Gelatine sich durch die Erwärmung des Präparats verflüssigen kann.

---

Schema zur Einbettung trockener Objekte in Glyzeringelatine



---

**Flügel eines Schmetterlings in Neutralbalsam.** Objekte, die in Balsam eingeschlossen werden sollen, müssen völlig wasserfrei sein, da sich sonst der in Xylol gelöste Balsam trübt. Völlig trockene Objekte lassen sich leicht in Balsam einschließen.

Aus dem Flügel eines Schmetterlings werden bis zu 1 cm<sup>2</sup> große Stücke so herausgetrennt, daß der Flügelhinterrand die eine Kante bildet. Diese Flügelstücke dürfen nicht ohne weiteres in den Balsam gelegt werden, da sonst viele Luftbläschen eingefangen würden. Alle Objekte werden vorher mit Xylol durchtränkt. Das Xylol hellt die Flügelstückchen stark auf, macht sie durchsichtig und löst die ihnen anhaftenden Schmutzteilchen ab. Alle Objekte sollen für mindestens 10 bis 15 Minuten im Xylol liegenbleiben. Trübt sich das Xylol (milchiger Anflug), so enthalten die Objekte Wasser und eignen sich nicht zum Einschluß nach dieser Methode. Sind die Flügelstückchen durchtränkt, so wird mit einem Glasstab ein Tropfen Neutralbalsam, der den Raum unter dem Deckglas später gerade ausfüllt, in die Mitte des Objektträgers gesetzt. Mit der Lanzettnadel wird nun ein Flügelstück aus dem Xylol in den Balsamtropfen übertragen. Dabei soll möglichst wenig Xylol in den Balsam kommen, da es den Balsam verdünnt. Das Übertragen muß schnell geschehen, denn das Objekt darf nicht antrocknen. Xylol verdunstet sehr rasch. Beim Einschieben dürfen keine Luftblasen entstehen. Sie entweichen zwar größtenteils, wenn der Balsam erhärtet; besser ist es jedoch, sie von Anfang an zu vermeiden. Es empfiehlt sich, von einem Teil des Flügelstücks vor dem Einbetten durch Abkehren mit einem Pinsel die Schuppen zu entfernen. Dadurch wird das durchsichtige Chitin mit den Vertiefungen, in denen die Stielchen der Schuppen sitzen, gut sichtbar. Die abgekehrten Schuppen können neben das Flügelstück gelegt werden, um den Aufbau der Schuppe zu zeigen.

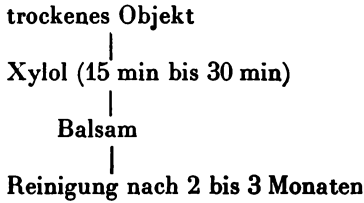
Nach dem Auflegen des Deckglases zeigt sich, ob der Balsamtropfen richtig bemessen war. Fehlt etwas Balsam, so setzt man an den Rand einen kleinen Tropfen; er zieht sich unter das Deckglas. Das fertige Präparat muß zunächst waagrecht gelagert und sehr vorsichtig behandelt werden, da sich das Deckglas noch leicht verschiebt. Erst nach 2 bis 3 Monaten ist der Balsam so weit erhärtet, daß man den Objektträger mit einer Rasierklinge von hervorgetretenem Balsam reinigen kann.

Ein solches Präparat zeigt die dachziegelartig oft in doppelter Lage übereinander

angeordneten, mit einem Stielchen in der Flügelfläche befestigten Schuppen (s. Abb. 27/1, 53/2). Recht gut eignen sich zu vergleichenden Studien die Flügelschuppen von Kohlweißling, Bläuling, Admiral und Fuchs.

---

Schema zur Einbettung trockener Objekte in Balsam



**Kieselgur in Balsam.** An diesem Beispiel wird die Ausschlämmethode erläutert. Die einzelligen Kieselalgen (*Diatomeae*) fehlen in fast keinem Gewässer. Die Panzer dieser Algen sind chemisch fast unzerstörbar und bleiben über Jahrmillionen unverändert erhalten. Wegen der feinen Wandstrukturen dienen Diatomeenschalen häufig als Testobjekte zur Prüfung starker und stärkster Mikroskopobjektive. Häufig sind diese Strukturen so fein, daß sie auch von den besten Objektiven nicht mehr aufgelöst werden und erst elektronenmikroskopische Untersuchungen die wirklichen Verhältnisse zeigen.

Die Kieselpanzer abgestorbener Diatomeen bildeten in vergangenen Erdperioden mächtige Schichten (Kieselgur, Bergmehl). Kieselgur ist in Apotheken oder Drogerien erhältlich. Da ihr fast immer gröbere Verunreinigungen beigemischt sind, wird sie vor der Herstellung von Präparaten gereinigt.

Eine Portion Kieselgur wird in einem Standzylinder mit Wasser kräftig geschüttelt. Man schlämmt so lange aus, bis die mikroskopische Prüfung zeigt, daß der Bodensatz nur aus den Panzern der Kieselalgen besteht. Bei diesem Ausschlämmen gehen bis zu 95% des Materials verloren. Der letzte Bodensatz wird noch einmal mit destilliertem Wasser ausgewaschen, an der Luft getrocknet und dann in ein Blockschälchen mit Xylol übertragen. Mit einer fein ausgezogenen Pipette wird eine kleine Menge davon in einen Balsamtropfen gespritzt.

Um Testpräparate herzustellen, werden unter dem Mikroskop möglichst unverletzte Individuen geeigneter Diatomeenarten ausgelesen und mit einer Schweinsborste nebeneinander auf ein Deckglas geklebt (s. Abb. 145/1).

**Feuerstein-Abschlag-Methode.** Im Feuerstein oder Flint sind regelmäßige Einschlüsse von Organismen enthalten, die zur Zeit der Entstehung des Feuersteins (Erdmittelalter) lebten. Diese mikropaläontologische Arbeitsmethode ist präparativ sehr einfach.

Mit einem Hammer werden von einer möglichst dunklen, glasig erscheinenden Flintknolle kleine Splitter abgeschlagen. Diese mehr oder weniger durchsichtigen Plättchen werden bei mittlerer Vergrößerung auf ihren Mikrofossilgehalt hin geprüft. Man kann auch kleinere Feuersteinstückchen im Schraubstock zersplittern.

Gute, sehr dünne Splitter werden in Balsam eingeschlossen. Bei aufmerksamer Durchmusterung solcher Präparate findet man Diatomeen, Flagellaten, Foraminiferen (s. Abb. 145/2), Radiolarien, Skeletteile von Schwämmen, Teile von Moostierchen-

Abb. 145/1 Große Diatomeen-Testplatte im Dunkelfeld; von links nach rechts: *Amphipleura lindheimeri*, *Frustulia rhomboides*, *Surirella gemma*, *Epithemia turgida*, *Nitzschia obtusa*, *N. sigma*, *Navicula kuntzei*, *Pleurosigma angulatum*, *Gyrosigma balticum*, *Navicula cuspidata*, *Nitzschia spectabilis*, *Pinnularia opulenta* (35 : 1/88 : 1)

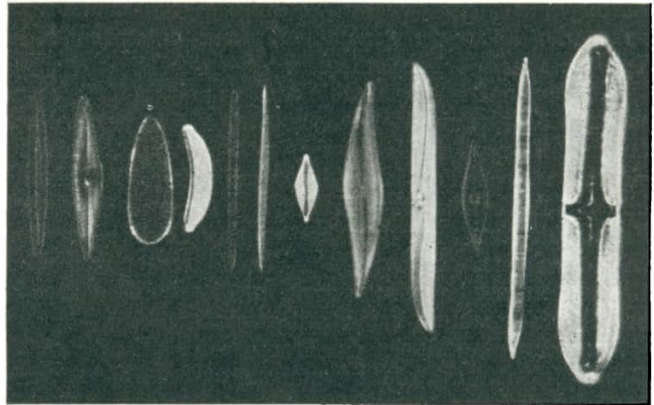
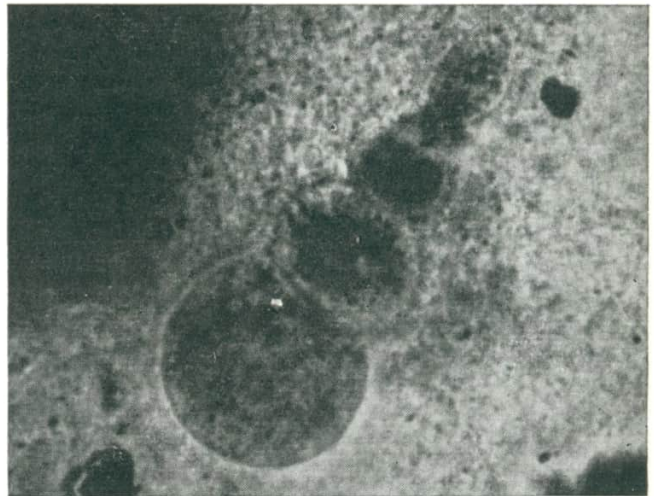


Abb. 145/2 Foraminifere in Feuerstein (35 : 1/90 : 1)



kolonien, Meereswürmern, Stachelhäutern und Fischen. Allerdings lassen sich die Fossilien oft nur schwer deuten.

Diese Präparate können von Schülern selbst hergestellt werden. Sie sind überzeugende Beweisstücke auf einem Gebiet der Paläontologie, das sonst in der Schule kaum veranschaulicht werden könnte.

### Methode 2: Kristallpräparate

Es folgen drei Methoden zur Herstellung von Kristallpräparaten, die auch für den Biologen praktische Bedeutung haben.

**Kochsalzkristalle in Luft.** Am leichtesten lassen sich Kristallpräparate herstellen, wenn man Salze in Wasser auflöst und dann das Wasser verdunsten läßt. Durch Versuchsreihen werden das beste Lösungsmittel, die geeignetste Konzentration und die günstigste Art der Verdunstung ausprobiert. Im allgemeinen liefern ganz schwache

Lösungen bei langsamer Verdunstung die größten und regelmäßigsten Kristalle. Werden zu starke Lösungen genommen, dann entstehen Kristallanhäufungen, die nichts Typisches mehr erkennen lassen.

Man fügt auf mehreren Objektträgern einem Tröpfchen Aqua destillata etwas Kochsalz zu. Es löst sich sofort. Dann läßt man einige langsam bei Zimmertemperatur, andere auf dem Heizkörper und weitere schnell über der Flamme eines Spiritusbrenners Eintrocknen. Eine zweite Reihe kann in etwa 50%igem Alkohol angesetzt werden. Oft bilden sich Randkrusten, die einen mittleren Lösungstropfen umschließen. In diesem Falle schleudert man den Tropfen ab und läßt den Rest in Ruhe auskristallisieren. (Kein Deckglas auflegen!) Unter dem Mikroskop kann die Kristallisation mit schwachen Objektiven gut beobachtet werden. (Starke Objektive mit geringem Arbeitsabstand beschlagen durch die Verdunstungsfeuchtigkeit.)

Besonders gut läßt sich das Wachsen der Kristalle an Kaliumpermanganat verfolgen. Dazu wird eine schwache Lösung auf dem Objektträger über der Spiritusflamme so erwärmt, daß das Lösungsmittel rasch verdunstet. Dann beobachtet man die Bildung der Kristalle unter dem Mikroskop.

Gut gelungene, völlig lufttrockene Kristallpräparate werden in Luft (s. Methode 1) eingeschlossen. Hier sei noch eine Methode des Einschlusses in Luft erwähnt, die sich bei Kristallpräparaten besonders gut anwenden läßt. Man schneidet aus dünnem Karton quadratische Rahmen mit etwa 2 mm Randbreite mit den Außenmaßen des zu verwendenden Deckglases. Die Rahmen werden beiderseits gleichmäßig mit Balsam bestrichen und auf den Objektträger mit den Kristallen geklebt. Dann wird das Deckglas aufgelegt. Ober- und Unterseite werden auf helle Stellen im Verschuß (Luftblasen) kontrolliert (Luftblasen durch leichtes Andrücken entfernen!). Später wird das Präparat mit einem Lackring versehen (Luftabschluß!).

Zur Herstellung von Kristallpräparaten nach der oben beschriebenen Methode eignen sich alle wasserlöslichen Salze. Interessante Kristallbildungen von Harnsäure, Kalziumoxalat, Tyrosin u. a. ergibt ein auf dem Objektträger verdunsteter Harn tropfen, eisblumenartige Salzkristalle eine aufgefangene Träne.

Zum Nachweis der Nährsalze läßt man Bodenfiltrat verschiedener Böden kristallisieren (Vergleich mit Bachwasser und destilliertem Wasser vornehmen!).

Die klarsten Bilder ergeben Frischpräparate. Man untersucht Kristallpräparate mit schiefer Beleuchtung, im Dunkelfeld oder im polarisierten Licht.

**Raphiden der Ampelpflanze in Caedax.** Die Ampelpflanze (*Zebrina pendula*) bildet in ihren Sprossen große Mengen nadelförmiger Kristalle (Raphiden). Zu ihrer Gewinnung wird ein Stengelstück im Internodium durchgeschnitten und der Zellsaft mit kräftigem Druck ausgepreßt. Man setzt einen Zellsafttropfen auf die Mitte eines Objektträgers, streicht ihn etwas aus und läßt das Präparat an der Luft trocknen. Darauf wird es in ein erstarrendes Einschlußmittel eingeschlossen. Die besten Ergebnisse erhält man mit Caedax. Auch Neutralbalsam kann als Einschlußmittel dienen. Glyceringelatine eignet sich wegen ihres Säure- und Wassergehalts nicht für Kristalleinschlüsse. Bei mikroskopischer Betrachtung sieht man zahlreiche Kristallnadeln aus Kalziumoxalat. Kleine diskusförmige Gebilde lassen unter gekreuzten Polarisationsfiltern ein typisches Stärkekrenz erkennen (Speicherstärke). Ähnliche Präparate kann man von vielen Hyazinthenarten gewinnen.

**Gewinnung von Koffeinkristallen durch Sublimation.** Als Beispiel für die Abscheidung von Stoffen aus Pflanzengewebe wird die Gewinnung von Koffeinkristallen aus Kaffeebohnen beschrieben. Ein Objektträger wird mit einer dünnen Schicht fein-

gemahlenem Kaffee bestreut. Auf die Seiten des Objektträgers legt man einige Glasplättchen und darauf einen Objektträger zum Auffangen des Koffeins. Er soll möglichst kalt sein und vom unteren Träger einen freien Abstand von 0,5 mm bis 1 mm haben. Dann wird von unten langsam erwärmt, bis die Sublimation einsetzt. Je geringer die Erwärmung, je langsamer also die Verdampfung, desto schönere, feingegliederte Niederschläge entstehen auf dem oberen Objektträger. Dünne Beläge ergeben die klarsten Bilder (lange, nadelförmige Koffeinkristalle).

In gleicher Weise läßt sich Koffein aus fein zerriebenen Teeblättern, Theobromin aus Kakao oder Vanillin aus Vanilleschoten gewinnen. Tee enthält wesentlich mehr Koffein als die gleiche Menge Kaffee. Das Verhältnis liegt etwa bei 1,7 : 1.

Eingetrocknetes Menschenblut oder Menschenharn geben typische Sublimationsbilder, die für die gerichtliche Analyse Bedeutung gewonnen haben. Das Sublimationsverfahren kann im Unterricht der Oberstufe vor allem bei der Behandlung von Nahrungs- und Genußmitteln herangezogen werden.

### Methode 3: Verkohlungs- und Veraschungspräparate

Durch Verkohlen oder Veraschen pflanzlichen Materials erhält man sehr oft aufschlußreiche Präparate. Die Methode eignet sich für Schüler- und Anfängerübungen besonders gut. Kohlebilder (Anthrakogramme) und Aschenbilder (Spodogramme) eignen sich auf Grund ihrer großen Kontraste hervorragend für erste mikrofotografische Übungen. Beide Techniken werden an je einem Beispiel beschrieben.

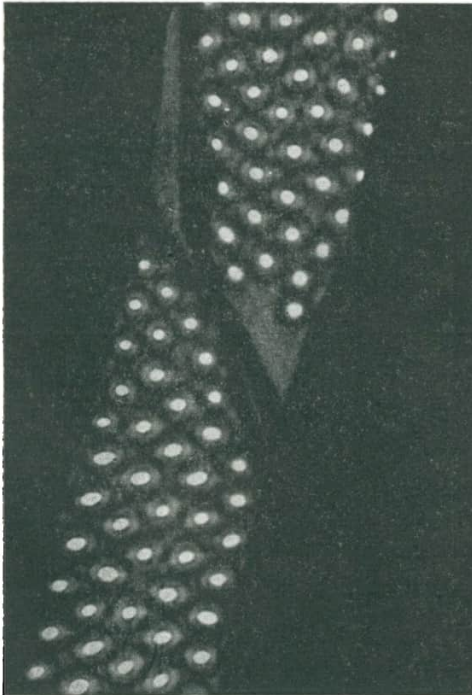
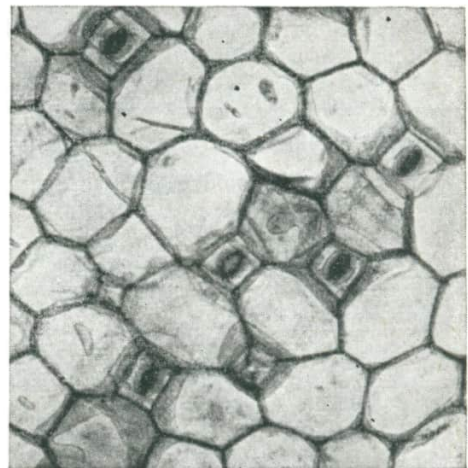


Abb. 147/1 Verkohlungspräparat; getüpfelte Tracheiden in einem verkohlten Streichholzsplinter (140 : 1/490 : 1)

Abb. 147/2 Veraschungspräparat; Oberhaut der Ampelpflanze (*Zebrina pendula*; 35 : 1/88 : 1)



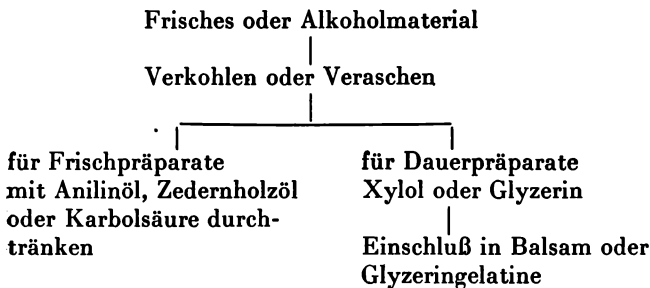


**Verkohlung eines Streichholzspänchens.** Von einem Streichholz (meist Pappelholz) werden in Längsrichtung einige möglichst dünne Spänchen abgeschnitten. Diese werden trocken in einen Tropfen destillierten Wassers oder 70%igen Alkohols auf einen Objektträger gelegt und mit einem Deckglas abgedeckt. Dann erhitzt man den mit einem Reagenzglashalter gefaßten Objektträger vorsichtig und bewegt ihn dabei ständig über der Flamme des Spiritus- oder Bunsenbrenners hin und her. Zunächst verdunstet die Einschlußflüssigkeit, dann fangen die Schnitte an zu rösten, nehmen eine rötliche, rotbraune und schließlich schwarzbraune Färbung an. Bei jedem Präparat muß ausprobiert werden, ob das Übertragen in Luft, Wasser oder Alkohol zu besseren Ergebnissen führt. Nach dem Abkühlen wird das Deckglas, das meist starke Niederschläge zeigt, entfernt und ein guter Schnitt mit einer Lanzettnadel auf einen sauberen Objektträger übergeführt. Frischpräparate werden mit Anilinöl, Zedernholzöl oder Karbolsäure durchtränkt. Um Dauerpräparate zu erhalten, befeuchtet man die Schnitte mit Xylol und legt ein mit einem Balsamtropfen versehenes Deckglas auf (s. Abb. 147/1). Ließe man einen Balsamtropfen auf die im verkohlten Zustand sehr spröden Schnitte fallen, so würden sie auseinanderschwimmen. Oft sind wohlgelungene, besonders dünne Schnitte so empfindlich, daß sie nicht auf einen sauberen Objektträger übertragen werden können. Man sollte dann nur das Deckglas wechseln. Die Methode eignet sich für alle pflanzlichen Schnitte.

**Veraschen eines Blattstückes.** Einige Blattstücke werden in einem offenen Porzellantiegel geglüht, bis nur noch weißliche Aschenreste übrigbleiben. Diese überträgt man vorsichtig auf einen Objektträger und legt, je nachdem ob Frisch- oder Dauerpräparate entstehen sollen, mit Zedernholzöl, Anilinöl oder sehr dünnflüssigem Balsam benetzte Deckgläser auf. Bei einiger Geschicklichkeit erhält man sehr anschauliche Präparate, die selbstverständlich nur die groben morphologischen Eigenschaften zeigen. Sehr geeignet ist die Veraschungsmethode zur Darstellung von Kristalleinschlüssen in Geweben. Obwohl beim Glühen das Kalziumoxalat in Kalziumkarbonat und schließlich in Kalziumoxid übergeht, behalten die Kristalle ihre spezifische Form. Gute Präparate liefern Blattstücke der Ampelpflanze (*Zebrina pendula*, s. Abb. 147/2), der Schwertlilie (*Iris*), der Zaunrebe (*Parthenocissus*), des Seifenkrauts (*Saponaria officinalis*) und des Sauerklees (*Oxalis*), Stengelquer- und -längsschnitte von Begonie (*Begonia*) und Blattstiele der Roßkastanie (*Aesculus*) sowie Seggenblätter (*Carex*) und Stengeloberhaut der Schachtelhalme (*Equisetum*). Sehr zarte Objekte können auch auf Objektträgern verascht werden. Die besten Bilder erhält man mit schiefer Beleuchtung.

---

Schema zur Herstellung von Verkohlungs- und Veraschungspräparaten



#### Methode 4: Kutikulapräparate

Die Kutikula der Insekten und sonstigen Arthropoden besteht hauptsächlich aus Chitin. Sie ist auch vom Anfänger leicht zu präparieren, weil es dabei nicht auf die Erhaltung von Weichteilen, sondern auf die Darstellung der äußeren Form ankommt. Materialmangel besteht zu keiner Jahreszeit. Es werden Dauerpräparate hergestellt. Glyzeringelatine eignet sich als Einschlußmittel. Harzeinschlüsse sind jedoch auch hier vorzuziehen, da die Einschlußharze mit ihrer hohen Brechungszahl besser durchsichtig machen.

**Stigma eines Käfers, Einschluß in Glyzeringelatine.** Größere Blatthornkäfer, Mai- oder Nashornkäfer (*Melolontha* oder *Oryctes nasicornis*) sind zur Präparation der Atemöffnungen sehr geeignet. Beim Maikäfer liegen sie etwa in der Höhe der weißen Dreiecke am Hinterleib.

Einem frisch getöteten oder in Alkohol bzw. Formalin konservierten Käfer wird der Hinterleib abgetrennt. Dann schneidet man mit der Schere die Flankenhäute heraus. Da nicht jedes Präparat gelingt, werden gleich mehrere Flankenhäute bearbeitet. Der Verbrauch an Chemikalien erhöht sich dadurch nicht, die Arbeitszeit kaum. Die Wahrscheinlichkeit, ein gutes Präparat zu bekommen, ist jedoch größer.

Mikroskopische Präparate sollen durchsichtig sein. Die Kutikula ist aber oft undurchsichtig; viele Teile erscheinen sogar schwarz. Außerdem verringern die vom Außenskelett umschlossenen Weichteile die Durchsichtigkeit der Objekte beträchtlich. Deshalb müssen die Weichteile entfernt und die Kutikula aufgehellert werden. Beides geschieht durch Kalilauge. Chitin ist in 20- bis 30%iger Kalilauge praktisch unlöslich, die Weichteile werden durch 5- bis 15%ige Lauge sehr schnell mazeriert.

Die Flankenhäute kommen zur Mazeration in ein Reagenzglas mit Kalilauge. Hierin müssen sie mehrere Tage bleiben, bis die Kutikula aufgehellert ist. Bei sehr dunklen Objekten (z. B. Fliegenbeine) muß die Lauge mehrmals gewechselt werden. Durch 10 Minuten langes Kochen läßt sich die Behandlung mit Kalilauge stark abkürzen. Auch hierbei wird die Lauge einmal gewechselt. (Vorsicht!) Ein Streichholz ohne Kuppe mitkochen, damit die Lauge nicht stößt! Die Öffnung des Reagenzglases soll stets vom Körper wegzeigen.

Auch nach dem Kochen kann es noch Tage dauern, bis stark sklerotisierte Teile aufgehellert sind. Man kann die mazerierten Objekte auch sehr gut in Diaphanol entfärben (s. S. 116). Danach wird die Lauge abgegossen und das Objekt mit Leitungswasser gründlich ausgewaschen. Dem ersten Waschwasser setzt man Salzsäure zu, damit die Lauge sofort neutralisiert wird und sich die fast stets vorhandenen Niederschläge von Kalziumkarbonat lösen (s. Abb. 150/1). Nach 10 Minuten wird die Säure durch mehrfachen Wasserwechsel entfernt. Da Glyzeringelatine bei diesem Beispiel als Einschlußmittel dienen soll, brauchen die Objekte nicht entwässert zu werden.

Die Flankenhäute kommen in reines Glycerin oder in Glycerinersatz, bleiben dort etwa 20 Minuten und werden dann in der schon beschriebenen Weise in Gelatine eingebettet. Man stellt mehrere Präparate her, deckt in einem Präparat zwei Häute ein, eine mit der Außenseite, die andere mit der Innenseite nach oben, und wählt die geeignetsten für die Sammlung aus (s. Abb. 150/2). Die Deckgläser werden mit Lackringen umrandet.

**Stechapparat der Honigbiene, Einschluß in Balsam.** Einer Honigbiene (*Apis mellifica*) wird der Hinterleib abgetrennt und 10 Minuten in Kalilauge gekocht. Dann erst wird präpariert, am besten unter dem Präpariermikroskop oder mit der Kopfbandlupe. Man



Abb. 150/1 Niederschläge von Kalziumkarbonat am Fuß einer Hausspinne; Dunkelfeld (28 : 1/60 : 1)

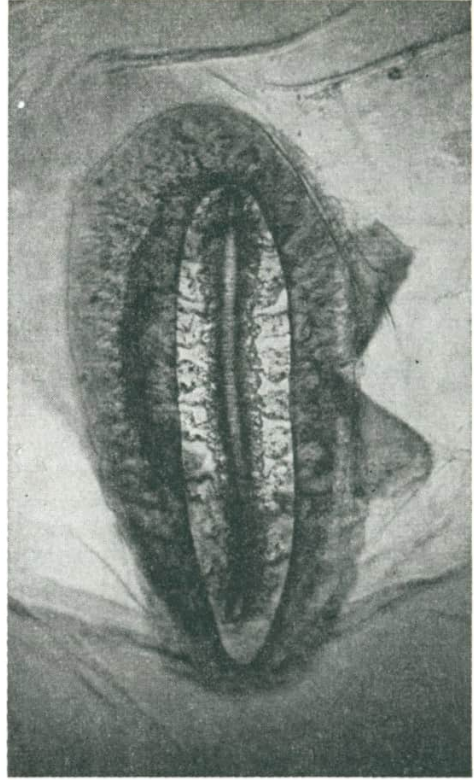


Abb. 150/2 Nashornkäfer (*Oryctes nasicornis*); Atemöffnung (28 : 1/70 : 1)

trennt mit einem Schnitt den Hinterleib auf der Unterseite der Länge nach auf und klappt beide Hälften auseinander. In den mazerierten Weichteilen sind die einzelnen Teile des Stechapparats gut zu erkennen. Mit zwei Präpariernadeln werden sie vorsichtig herausgenommen, eventuell auch nach hinten aus dem Hinterleib herausgeschoben. Zur endgültigen Mazeration kommen mehrere Stechapparate noch einmal in heiße Kalilauge, werden aber nicht gekocht, damit die Teile nicht beschädigt werden. Starkes Aufhellen erübrigt sich bei diesen Objekten. Das Auswaschen erfolgt wie auf Seite 149 beschrieben, jedoch vorläufig ohne Zusatz von Salzsäure.

Nun muß den Objekten mit Alkohol das Wasser restlos entzogen werden. Dazu werden Alkoholstufen mit größeren Konzentrationsunterschieden verwendet. Zum Entwässern benutzt man Blockschälchen und beginnt mit 30%igem Alkohol. Dann nimmt man 70%igen Alkohol mit Zusatz von Salzsäure (HCl-Alkohol, auf 100 ml 70%igen Alkohol 0,5 ml reine Salzsäure), um Kalkniederschläge zu beseitigen. Anschließend wird mit 70%igem Alkohol ausgewaschen (zweimal wechseln). Danach überführt man in 96%igen und absoluten Alkohol (absoluten Alkohol einmal wechseln, um auch die letzten Wasserspuren zu entfernen), dann in ein Alkohol-Xylol-Gemisch

(Verhältnis 1 : 1) und schließlich in reines Xylol. An Stelle von absolutem Alkohol kann auch Nelkenöl oder Karbolxylol verwendet werden. Beide Medien ziehen die letzten Wasserspuren aus den Objekten und wirken stark aufhellend. Das Übertragen in Xylol und Einschließen erfolgt wie üblich. In jeder Stufe sollen die Objekte je nach Größe und Beschaffenheit 5 bis 20 Minuten bleiben. Meist genügen je 10 Minuten.

Zum Entwässern läßt man die Objekte in einem Blockschälchen und wechselt die Flüssigkeit mit Hilfe von Pipetten (Wasser-, Alkohol- und Xylolpipetten nicht wechseln!). Blockschälchen oder sonstige Behälter werden immer verschlossen gehalten! Bei sehr empfindlichen Objekten wechselt man die Flüssigkeiten nicht im ganzen, sondern setzt die höher konzentrierte Flüssigkeit tropfenweise zu; zuvor wird etwas von der geringer konzentrierten Flüssigkeit abgesaugt. Für Kutikulapräparate kommt dies kaum jemals in Betracht. Chitinierte Teile dürfen nicht zu lange in Xylol liegen, weil sie dort mit der Zeit hart und spröde werden. Nachdem sie mit Xylol durchtränkt sind, werden sie in Balsam eingeschlossen. Vorher werden die Hüllschuppen der Stachelscheide zur Seite geklappt und Giftblase und Drüenschläuche übersichtlich angeordnet (s. Abb. 151/1). Außer einem vollständigen Stechapparat bettet man einige abgeschnittene Stechborsten in verschiedenen Lagen ein; dann ist die Sicherheit größer, daß an einer die Widerhaken gut zu erkennen sind (Vergleichspräparate von Wespen und Hornissen anfertigen!).

**Präparat eines ganzen Insekts, Einschluß in Balsam.** Zum Totaleinschluß in Balsam eignen sich besonders kleinere, nicht zu stark sklerotisierte Insekten (z. B. Mücken, Fruchtfliegen, Wanzen). Daß sich auch größere Arten verarbeiten lassen, sei am Beispiel eines Weichkäfers geschildert.

Damit die zarten Verbindungshäutchen zwischen den einzelnen Segmenten erhalten bleiben, werden ganze Tiere möglichst nicht gekocht; sie kommen für längere Zeit in Kalilauge, die häufig gewechselt wird. Ab und zu preßt man durch leichten Druck auf die Unterseite des Tieres mazerierte Weichteile durch die Körperöffnungen aus. Ein kleiner Einschnitt in die Unterseite des Abdomens erleichtert dies. Die Mazeration dauert nur einige Tage, das Aufhellen unter Umständen mehrere Wochen. Auch hier leistet Diaphanol als Aufhellungs- und Entfärbungsmittel gute Dienste. Nach Beendigung der Kalilaugebehandlung wird das ganze Tier unter Wasser nochmals sorgfältig ausgepreßt. Die weitere Behandlung erfolgt wie schon beschrieben. Da die einzelnen Flüssigkeiten in das große Objekt nur langsam eindringen, bleibt es in jeder mindestens eine halbe Stunde. Durch häufiges Ausdrücken werden das Entfernen der Weichteile und das Entwässern beschleunigt. Man bettet am besten unter der Präparierlupe ein, die einzelnen Teile werden ihrer natürlichen Lage entsprechend an-

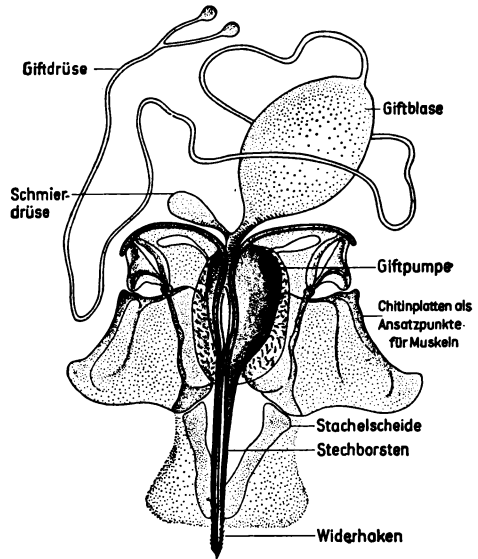
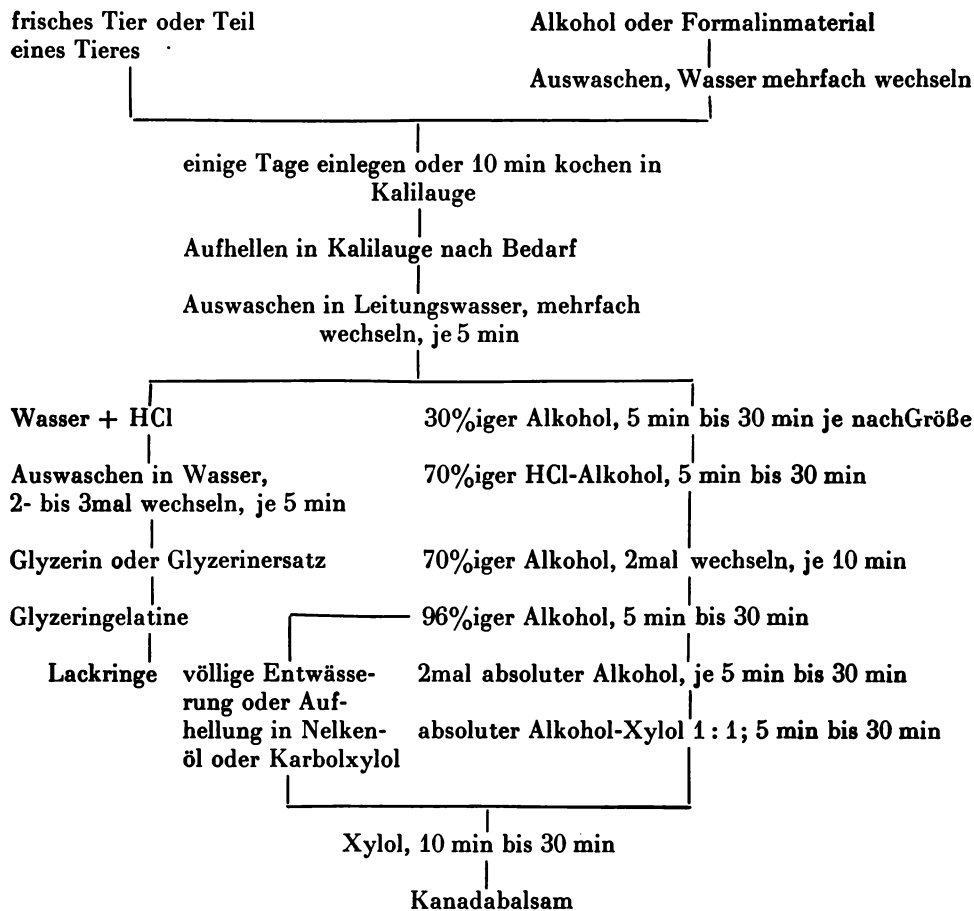


Abb. 151/1 Honigbiene (*Apis mellifica*); Stechapparat

---

**Schema zur Herstellung von Kutikulapräparaten**




---

geordnet. Das Deckglas ist mit hohen Wachsfüßchen zu versehen. Auf Präparaten dicker Chitinteile oder ganzer Tiere liegt das Deckglas sonst schief. Das stört später beim Untersuchen. Bei ganz dicken Objekten kann man auch Korkfüßchen untersetzen. Sperrige, sehr harte Teile heben oft die Deckgläser an. In solchen Fällen werden die Deckgläser mit Bleiklötzchen beschwert, bis der Balsam erhärtet ist. Die Klötzchen müssen kleiner sein als die Deckgläser, sonst kleben sie am hervorquellenden Balsam fest.

Der Anfänger stellt zunächst viele derartige Chitinpräparate her, um sich vor allem in der Entwässerungstechnik zu üben.

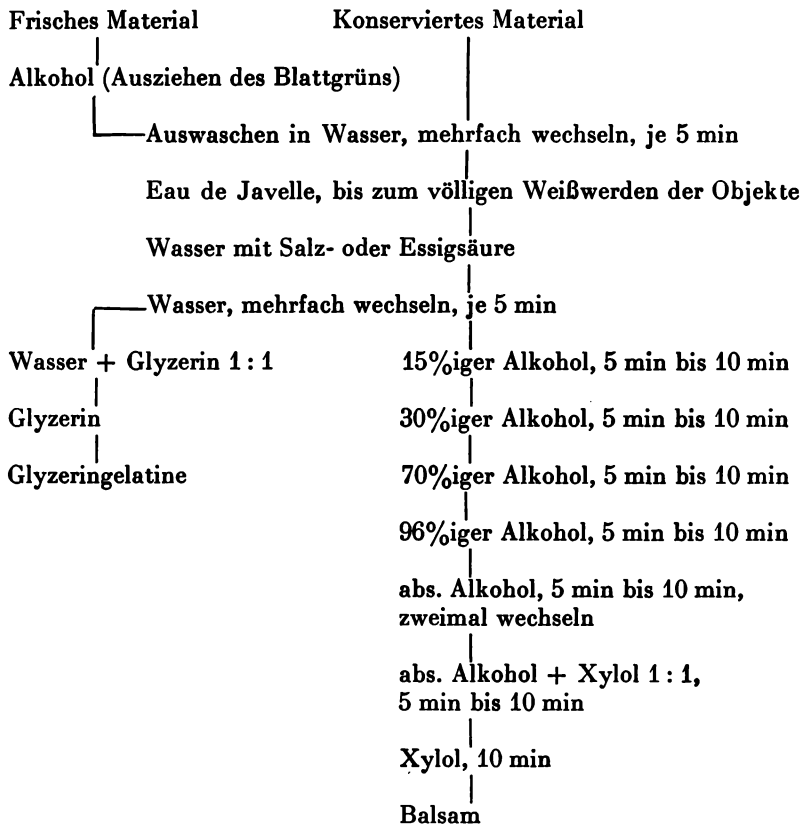
## Method 5: Aufhellungspräparate ganzer Pflanzenteile

Wenn man an Blättern nur morphologische Beobachtungen anstellen, also Zell- und Gewebeformen untersuchen will, so genügt es, ganze Blättchen, Blattstückchen oder auch zu dick ausgefallene Schnitte aufzuhellen. Als Aufhellmittel dient Eau de Javelle, das alle Zellbestandteile und Zelleinschlüsse (außer Stärke) zerstört. Dadurch werden auch dickere Zellschichten völlig durchsichtig. Bei sehr dicken Objekten kann man mit Hilfe des Feintriebs am Mikroskop die Gewebe von je einer Seite bis zur Mitte durchmustern. Die Präparationstechnik wird an einem speziellen Beispiel beschrieben.

**Aufgehelltes Blättchen der Wasserpest.** Frische Blättchen legt man bis zum völligen Entzug des Blattgrüns (Entfärbung) in Äthylalkohol, wäscht sie in Wasser gründlich aus und überträgt in ein Blockschälchen mit Eau de Javelle (frische Lösung verwenden!). Alkohol- oder Formalinmaterial kommt ebenfalls nach gründlichem Aus-

---

### Schema zur Herstellung von Präparaten aufgehellter Pflanzenteile



waschen in das Bleichmittel. Sind die Pflanzenteile durch und durch weißlich, so ist das Aufhellen beendet. Während des Aufhellens soll das Blockschälchen gut verschlossen bleiben, da das Kohlendioxid der Luft mit dem Bleichwasser Kalkabscheidungen bildet. Nach der Entfernung der Inhaltsstoffe sind die Pflanzenteile sehr weich und empfindlich, so daß sie möglichst im gleichen Blockschälchen weiterbehandelt werden sollen. Eau de Javelle wird abpipettiert, dann wird mit Salz- oder Essigsäure schwach angesäuertes Wasser zugesetzt, um eventuell vorhandene Kalkniederschläge zu beseitigen. Das Präparat wird mehrfach in Wasser ausgewaschen, die Alkoholstufen hinaufgeführt und über Xylol in Balsam eingeschlossen. Glyzeringelatineeinschluß ist vorzuziehen, da der Balsam wegen seines hohen Brechungsindex die stark aufgehellten Teile nur schwer erkennen läßt. Diese zarten Objekte soll man nicht gleich aus dem Wasser in reines Glycerin übertragen, sondern zunächst in ein Glycerin-Wasser-Gemisch 1 : 1, dann in Glycerin und schließlich in Glyzeringelatine (Vorsicht beim Einschluß, damit die Objekte nicht zerreißen!). Am besten werden jeweils zwei Blättchen im selben Präparat eingeschlossen, das eine mit der Unterseite, das andere mit der Oberseite nach oben.

#### Methode 6: Ungefärbte Totalpräparate fixierter Objekte

Während bei allen bisherigen Präpariermethoden das Protoplasma und die Zell- und Gewebeeinschlüsse entfernt wurden bzw. schon im Ausgangsmaterial in den betreffenden Objekten nicht mehr vorhanden waren, soll bei den folgenden Präpariermethoden das Hauptziel sein, diese Inhaltsstoffe möglichst naturgetreu zu erhalten und darzustellen. **Damit betreten wir erst das eigentliche Gebiet der biologischen Mikrotechnik.**

Um lebende Gewebe möglichst natürlich zu erhalten, müssen sie fixiert werden (s. S. 108). Es gibt viele tierische und pflanzliche Objekte, bei denen die natürliche Färbung trotz der Einwirkung verschiedener Fixiermittel und anderer Chemikalien erhalten bleibt. So kann man von kleineren Tieren, vor allem von kleinen Gliederfüßern mit dünnen Chitinskeletten, ungefärbte Totalpräparate herstellen, die nicht nur morphologische, sondern bei guter Fixierung der inneren Organe auch anatomisch-histologische Einzelheiten zeigen. Solche Präparate sind im Unterricht gut zu verwenden. Die Präparation ist einfach, muß aber sorgfältig ausgeführt werden. Außerdem muß man schnell eindringende Fixiermittel wählen.

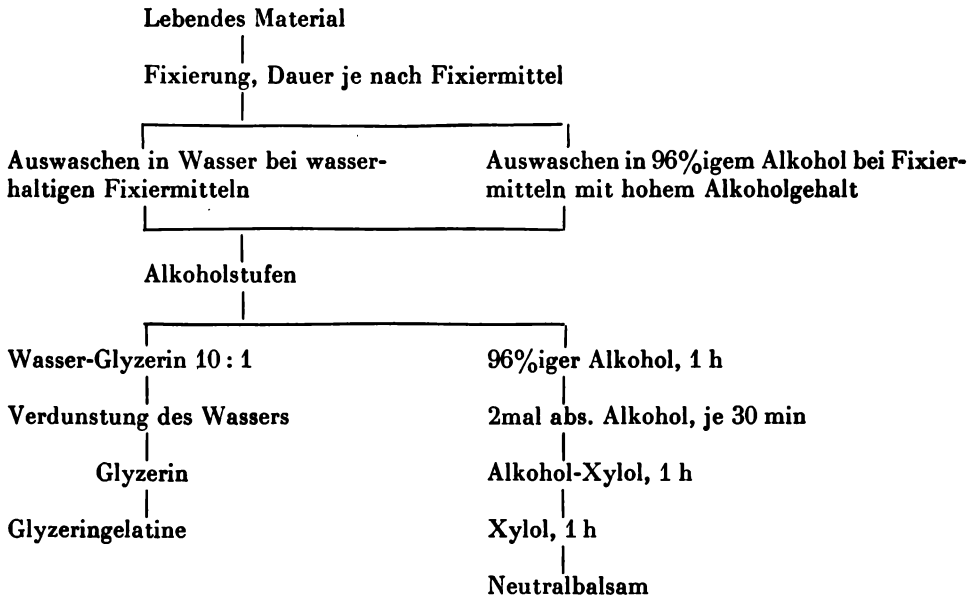
**Totalpräparation von Süßwasserpolyphen, Einschluß in Glyzeringelatine.** Ein mittelgroßer Süßwasserpolyph (*Hydra*), möglichst mit einer oder mehreren Knospen, wird mit einer Pipette von der Wand des Aquariums abgestoßen, dann eingesaugt und in ein Blockschälchen übertragen. Am besten eignen sich Tiere, die nicht mit Nahrung vollgepfropft sind. Zum Fixieren muß ein stark und schnell wirkendes Mittel genommen werden, damit sich die *Hydra* nicht kontrahiert. Man füllt eine Pipette mit 40%igem Formalin und spritzt es plötzlich so auf das völlig ausgestreckte Tier, daß das Hinterende mit der Fußscheibe zuerst getroffen wird. Dies ist notwendig, weil sich der Polyp zum Fuß hin kontrahiert. Der Polyp darf nur in sehr wenig Wasser liegen, damit das Fixiermittel nicht zu sehr verdünnt wird. Die lediglich zur schnellen Abtötung dienende konzentrierte Formalinlösung wird sofort wieder abgesaugt und durch etwa 2- bis 4%ige Formalinlösung ersetzt. Darin bleibt das Tier ungefähr 24 Stunden (Blockschälchen verschlossen halten!). Dann wird mit destilliertem Wasser (mehrfach wechseln!) ausgewaschen. Das Objekt kann ohne vorherige Färbung in Glyzeringelatine eingeschlossen

werden. Es ist unbedingt zu beachten, daß fixierte Objekte, die noch alle Feinheiten der inneren Struktur zeigen, nicht sofort aus dem Wasser in reines Glycerin übergeführt werden dürfen, da sie sonst durch den plötzlichen Medienwechsel geschädigt werden. Sie kommen zunächst in ein Wasser-Glycerin-Gemisch 10 : 1. In ihm bleiben sie, bis das Wasser restlos verdunstet ist, so daß sie in reinem Glycerin liegen. Das Gefäß muß in dieser Zeit (bis zu einer Woche) staubgeschützt, am besten unter einem großen Glassturz, stehen. Damit fallen allerdings die hauptsächlichlichen Vorteile der Glycerin-Gelatine-Methode fort: Einfachheit und Schnelligkeit der Präparation. (Einbettung wie üblich, normale Objektträger verwenden, Deckglas durch Füßchen stützen.)

**Larve der gemeinen Stechmücke, Einschluß in Balsam.** Mückenlarven fängt man am besten im Mai und Juni am Rande stehender Gewässer mit einem Gazenetz. (Entwicklung im Mikroaquarium oder in Küvetten verfolgen! Lebendbetrachtung bei Lupenvergrößerung!)

Die Larven werden in Carnoy (Fix. 10) fixiert, da es die Kutikula gut durchdringt. Sie bleiben etwa 2 Stunden in der Fixierflüssigkeit und werden dann in 96%igem Alkohol (mehrmals wechseln!) ausgewaschen, bis der stechende Geruch der Essigsäure verschwunden ist (etwa 24 Stunden). Zur Fixierung eignen sich auch absoluter Alkohol (Fix. 1) oder Formalin 1 : 6 (Fix. 2). Die Mittel müssen viel länger als im Normalfall einwirken, da sie große Objekte zu durchdringen haben. Darum läßt man auch den absoluten Alkohol mindestens eine Stunde einwirken und wechselt ihn in dieser Zeit einmal. Über die Mischungsstufe kommen die Larven in reines Xylol, bis sie durch die aufhellende Wirkung des Xylols völlig durchsichtig geworden sind (die Objekte sehen

**Schema für die Herstellung ungefärbter Totalpräparate**





„gläsern“ aus; Zeit etwa eine Stunde). Zum Einschluß kommen mittelgroße Larven, die durch die Präparation nicht beschädigt wurden und möglichst gerade gestreckt liegen. Die Deckgläschen sind mit Wachsfüßchen zu versehen. Das Präparat zeigt viele Einzelheiten. Am Kopf treten Strudel- und Kauapparat, Augen sowie mit dem Oberschlundganglion verbundene Nervenstränge deutlich hervor. Weiterhin kann man an diesem Objekt Tracheensystem und Verdauungstrakt gut demonstrieren. Zur Übung werden Totalpräparate von anderen kleinen Insekten angefertigt (Flöhe, Mücken, Fliegen, Blattläuse, Blasenfüße).

### Methode 7: Opalblau-Präparate

Nach dem folgenden Verfahren lassen sich ohne Mühe tadellos fixierte und gefärbte Präparate von Ziliaten gewinnen, die die Strukturverhältnisse der Oberfläche, Nahrungsvakuolen und pulsierende Vakuolen einwandfrei zeigen.

**Pantoffeltierchen, Einschluß in Balsam.** Auf den Objektträger bringt man mit einer fein ausgezogenen Pipette einen kleinen Tropfen aus einer Pantoffeltierchenkultur (s. S. 199) mit möglichst vielen lebenden Tieren. Daneben setzt man einen gleich großen Tropfen 10%ige Opalblaulösung (Färb. 15), verrührt beide Tropfen miteinander und streicht sie vorsichtig etwa in Deckglasgröße aus.

Die Dicke des Ausstrichs muß im richtigen Verhältnis zur Größe der Tiere stehen. In einem zu dicken Ausstrich werden die Pantoffeltierchen von einer Farbstoffschicht überlagert, so daß die Untersuchung stark behindert ist. Bei einem zu dünnen Ausstrich können die Lebewesen platzen, bevor die Lösung gelatinisiert ist. Die Gelatinierung muß allmählich eintreten.

Diesen Vorgang kann man gut unter dem Mikroskop beobachten. Zunächst schwimmen die Tiere in der blauen Farblösung lebhaft hin und her. Dabei nehmen fast immer Zellmund und Zellschlund blauen Farbstoff auf, oft werden auch die Vakuolen blau. Mit fortschreitender Verdunstung des Wassers verlangsamen die Tiere ihre Bewegungen und liegen schließlich still. Nur die Wimpern schlagen noch lebhaft. In diesem Stadium schleudern die Pantoffeltierchen fast regelmäßig ihre Trichozyten aus, die dann die Tiere wie lange, nadelförmige Gebilde strahlenförmig umgeben. Danach sterben die Pantoffeltierchen. Der Farbstoff setzt sich auf der Oberfläche der Tiere ab. Auf den lufttrockenen Ausstrich gibt man einen Tropfen Balsam und legt ein Deckglas auf.

Sehr gute Ergebnisse ergibt die folgende Veränderung des Verfahrens. Die in einer möglichst reinen Kultur gezüchteten Pantoffeltierchen werden in eine sehr schwache Lösung von Neutralrot (Färb. 1) gebracht, die, gegen eine weiße Fläche gehalten, gerade noch eine leichte Rotfärbung erkennen läßt. In dieser Flüssigkeit bleiben die Tiere, möglichst im Dunkeln, 10 bis 15 Minuten. Die Nahrungsvakuolen färben sich leuchtend rot. Erst dann wird der Opalblauausstrich hergestellt (s. Farbtafel 2, Abb. c).

Diese Methode eignet sich gut zur Veranschaulichung von Lebensvorgängen, die seltener beobachtet werden können (Teilung und Konjugation, s. Abb. 23/1 u. 157/1). Sonst sind Frischpräparate gerade bei Protozoen den Dauerpräparaten vorzuziehen.

Durch Zusatz von 4 bis 6 Tropfen einer 6,5%igen Lösung von Phloxinrhodamin zu 1 cm<sup>3</sup> 10%iger Opalblaulösung färben sich Protoplasma sowie Groß- und Kleinkern bisweilen abgestuft rosa bis rot. Um bessere Kernfärbung zu erhalten, läßt man die Ziliaten 10 bis 15 Minuten in der Farbstofflösung schwimmen oder legt den fertigen Ausstrich in eine feuchte Kammer, damit die Flüssigkeit langsam verdunstet.

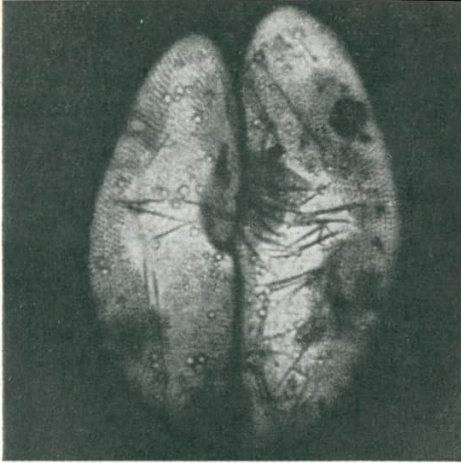


Abb. 157/1 Pantoffeltierchen in Konjugation  
(140 : 1/430 : 1)

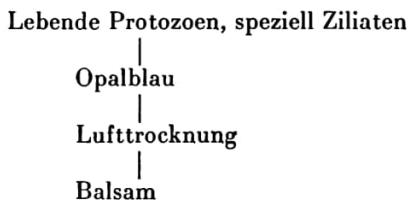


Abb. 157/2 Bakterien aus einem Heuaufluß  
(300 : 1/1000 : 1)

Die Methode ist für Ziliaten anwendbar mit Ausnahme der kontraktile Formen (Trompetentierchen, Glockentierchen). Auch andere Protozoen können auf diese Weise präpariert werden. Oft lassen sich durch schnelles Trocknen der Ausstriche (Fön, Kaltluft!) brauchbare Ergebnisse erzielen.

Ferner eignet sich das Verfahren dazu, Negativpräparate von Aufguß- und Zahnschleimbakterien herzustellen. Bei sehr dünnem Ausstrich erscheinen die ungefärbten Bakterien scharf umrissen auf dunkelblauem Grund (s. Abb. 157/2). Die Färbungen halten sich gut und geben bei der Mikroprojektion sehr klare Bilder.

#### Schema für Opalblau-Präparate



#### Methode 8: Ausstrichpräparate

Von Körperflüssigkeiten, Bakterien und einzelligen Lebewesen werden Ausstriche hergestellt. Man unterscheidet trockene und feuchte Ausstriche. Letztere bringen bessere Ergebnisse. Die säurehaltige Glyzerinelatine scheidet als Einschlußmittel aus.

**Ausstrich von Zahnschleimbakterien des Menschen (trockener Ausstrich), Einschluß in Balsam.** Kein Lehrer sollte versäumen, seinen Schülern bei der Behandlung der entsprechenden Lehrplanabschnitte die Bakterien der Mundhöhle im Frischpräparat zu zeigen. Im Dunkelfeld, das hierbei möglichst verwendet werden sollte, sieht man auch die kleinsten Bakterien (z. B. Vibrionen) in lebhafter Bewegung. Mit schiefer Beleuchtung lassen sich die einzelnen Formen besser erkennen. Die Herstellung eines gefärbten Dauerpräparats lohnt sich, weil im Frischpräparat wohl die Bewegungen, nicht aber die Formen zarter Arten (Spirillen, Spirochaeten) gut hervortreten.

Mit einem zugespitzten Holzstäbchen nimmt man etwas weißen Belag von schlecht gereinigten Zähnen ab, am besten vom Zahnhals. Dieser Belag wird auf einem Objektträger in einem Tröpfchen Wasser gut verrührt. Größere Einschlüsse (Speisereste) werden mit der Pinzette entfernt. Dann überträgt man ein Tröpfchen dieser Flüssigkeit mit der Pipette auf ein gut entfettetes Deckglas (Alkohol! Mit fettigen Objektträgern oder Deckgläsern gelingen keine Ausstriche!). Auf diesen Tropfen legt man ein zweites sauberes Deckglas, zieht beide Gläschen ruckartig auseinander und hat nun zwei saubere Ausstriche (s. Abb. 158/1). Diese müssen staubgeschützt an der Luft eintrocknen. Dann zieht man das mit einer Pinzette gefaßte Deckglas dreimal mit der Schichtseite nach oben langsam durch eine Flamme. Auf diese Weise werden die Bakterien fixiert und festgeklebt, damit sie bei der späteren Behandlung mit Flüssigkeiten haftenbleiben. (Nach zu schwacher Fixierung lösen sie sich ab, zu starke Fixierung setzt die Färbbarkeit herab!)

Der Ausstrich wird mit einigen Tropfen Karbolfuchsin gefärbt, das nur etwa 5 Minuten einwirken soll, oder man läßt die Deckgläser auf der Farblösung, die sich in einem Uhrgläschen befindet, schwimmen. Danach werden die Deckgläser mit Aqua destillata abgespült (Spritzflasche). Auch Karbolgentianaviolett, gesättigte wäßrige Lösungen von Fuchsin, Gentianaviolett oder Methylenblau sind geeignete Färbemittel. Ist die überschüssige Farbe ausgewaschen, so müssen die Ausstriche wieder an der Luft trocknen. Dann wird auf die trockene Schichtseite ein Tropfen Neutralbalsam gegeben und das Präparat auf einen Objektträger gelegt.

Dieses Präparat wird in der Schule zur ersten allgemeinen Demonstration verwendet, wenn mit der Behandlung der Bakterien begonnen wird. Es enthält Kokken, Bazillen,

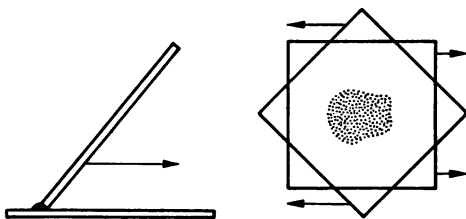


Abb. 158/1 Ausstrichtechniken; links Objektträgersausstrich, rechts Deckgläusausstrich

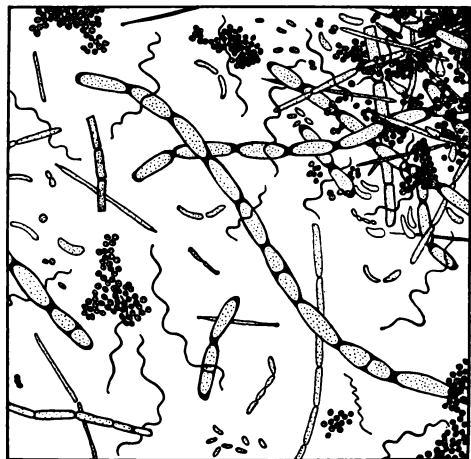
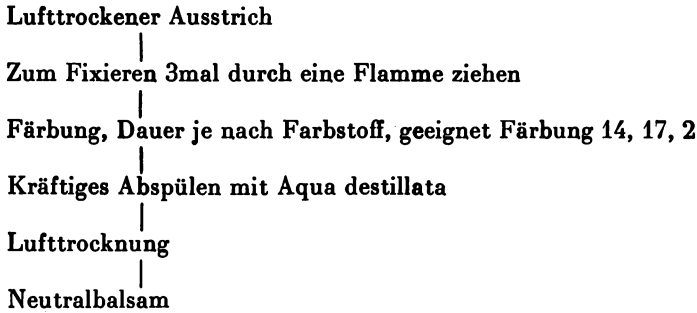


Abb. 158/2 Zahnschleimbakterien aus dem Zahnbelag des Menschen

Vibrionen, Spirochaeten, Spirillen und zeigt somit in einem Bildfeld fast die gesamte Formenfülle der Bakterien (s. Abb. 158/2). Genaue Untersuchungen dieser Präparate setzen jedoch mindestens 400fache Vergrößerung voraus.

---

Schema für Bakterienausstriche (trocken)



**Blutausstrich (trockener Ausstrich), Einschluß in Neutralbalsam.** Wir stellen zunächst ein Präparat von menschlichem Blut her. Dazu legt man einige sorgfältig gereinigte, fettfreie Objektträger bereit. Die Fingerkuppe des linken Mittel- oder Ringfingers wird mit absolutem Alkohol gereinigt und dann mit einer kleinen, spitzen, vorher in einer nicht rußenden Flamme sterilisierten Nähnadel seitlich angestochen. Der Einstich muß flach laufen, niemals in Richtung auf den Knochen (Vorsicht, Infektionsgefahr! Blutentnahme nicht bei Schülern!). Der erste auftretende Tropfen ist unbrauchbar, der zweite wird mit einem der bereitliegenden Objektträger aufgefangen. Nach Auflegen eines Deckglases kann das frische Blut untersucht werden. Allerdings muß man einen sehr kleinen Tropfen einschließen (1 mm<sup>3</sup> Blut enthält 5 000 000 rote Blutkörperchen!), da sich sonst die Blutkörperchen mit ihren Breitseiten aneinanderlegen und die bekannten Geldrollenformen bilden.

Am besten ist Blut ohne Zusatz zu untersuchen. Wird durch ein Frischpräparat Leitungswasser gesaugt, so geht der Blutfarbstoff (Hämoglobin) in das Wasser über, die Blutkörperchen platzen schließlich (Hämolyse). In 5- bis 10%iger Kochsalzlösung nehmen die Erythrozyten unter Schrumpfungerscheinungen eine Stechapfelform an. Wasser wirkt also hypotonisch, starke Salzlösung hypertonisch. In physiologischer Kochsalzlösung (0,75% NaCl) bleiben die Blutzellen unbeschädigt und lebend (Isotonie zwischen Körperflüssigkeit und physiologischer Kochsalzlösung). Bereits geringe Schwankungen der Salzkonzentration schädigen die Blutkörperchen. Für den Unterricht ist es sehr lehrreich, artfremdes Blut oder Blutserum einem Frischpräparat menschlichen Blutes zuzusetzen. Die roten Blutkörperchen ballen sich zunächst zusammen und lösen sich dann unter Hämoglobinaustritt völlig auf (Präzipitinreaktion).

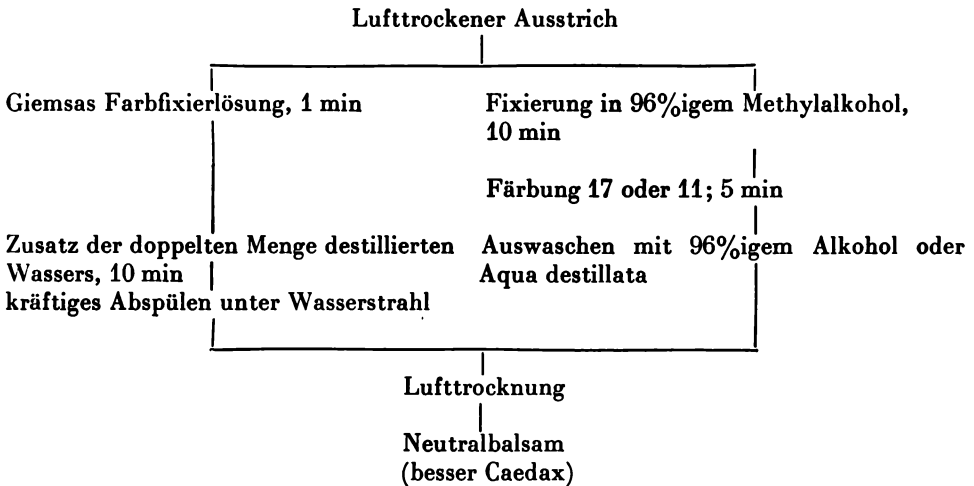
Die amöboiden Bewegungen der farblosen weißen Blutkörperchen, die vereinzelt zwischen den gelblichen Scheibchen der Erythrozyten liegen (6000 bis 8000 in 1 mm<sup>3</sup>), lassen sich im Blut des Menschen nur bei Verwendung spezieller Hilfsmittel (beheizter Objektisch) nachweisen; bei Abkühlung stellen sie ihre Bewegungen ein.

In Blutausstrichen poikilothermer Wirbeltiere (Fische, Amphibien, Reptilien) können die Bewegungen der weißen Blutkörperchen sehr gut gezeigt werden. Besonders eignen sich Schwanzlurche, weil ihre Blutzellen sehr groß sind. Man trennt mit der Schere die zuvor abgetrocknete Schwanzspitze eines Teichmolches oder ein schmales Schwanzstück eines Fisches ab und setzt ein Tröpfchen des austretenden Blutes auf einen Objektträger. Dann wird ein Deckglas aufgelegt. (Mit Ausnahme der Säugetiere haben bei allen Wirbeltieren auch die roten Blutkörperchen einen länglichen, ovalen, relativ großen Kern.) Da sich die weißen Blutzellen nur langsam bewegen, werden Umrißzeichnungen einer Zelle in Zeitabständen von einigen Minuten angefertigt. Durch Vergleich der Zeichnungen gewinnt man eine gute Vorstellung von der Bewegung.

Soll ein Dauerpräparat hergestellt werden, das die Kerne gut zeigt, so tupft man einen kleinen Blutstropfen etwas seitlich auf einen bereitgelegten Objektträger und streicht schnell möglichst dünn mit der Schmalseite eines zweiten Objektträgers aus (s. Abb. 158/1). Dabei zieht der ausstreichende Träger den Blutstropfen hinter sich her! Der fertige Ausstrich wird an der Luft getrocknet. Dann kommt er zur Fixierung für 10 Minuten in ein Gefäß mit 96%igem Methylalkohol. Flammenfixierung wie bei Bakterienausstrichen darf nicht verwendet werden. Die fertig fixierten Präparate werden gefärbt. Dazu wird auf die feuchten Präparate eine gesättigte Lösung von Gentianaviolett (Färb. 17) aufgetropft. Die Einwirkungszeit beträgt etwa 5 Minuten. Darauf spült man mit 96%igem Alkohol, läßt an der Luft trocknen und schließt in Balsam ein. Auch Eosin (Färb. 11) liefert gute Ergebnisse (Abspülen mit destilliertem Wasser).

Bei Anwendung der Farbfixierlösung nach Giemsa (Färb. 21) werden die verschiedenen Zellen spezifisch gefärbt. Den lufttrockenen Ausstrich legt man in ein flaches Glasgefäß (Petrischale) und träufelt etwa 10 bis 12 Tropfen der Farbfixierlösung auf. Nach 1 Minute werden etwa 20 bis 25 Tropfen frisch abgekochtes destilliertes Wasser zugesetzt. Saure Reaktion des Wassers würde die Färbung des Chromatins verhindern.

Schema für Blutausstriche



Durch Abkochen wird gelöstes Kohlendioxid aus dem destillierten Wasser entfernt. Schwach basisches Wasser gibt die besten Ergebnisse (für genaue Untersuchungen werden dem destillierten Wasser Puffersalzgemische zugesetzt;  $pH = 7,2$ ).

Die Mischung schüttelt man gut, läßt sie bis zu 10 Minuten einwirken, spritzt das Präparat mit einem kräftigen Wasserstrahl ab und läßt es an der Luft trocknen. (Wird der richtige Augenblick für das Zusetzen des destillierten Wassers verpaßt, so entstehen bei der Vorfärbung mit der unverdünnten Lösung oft starke Farbniederschläge, die sich nicht mehr entfernen lassen.) Der lufttrockene Ausstrich wird in Balsam, besser noch in Caedax eingebettet (s. Farbtafel 4, Abb. b).

Zur Übung wird ein Präparat von abgestoßenen Plattenepithelzellen der Mundschleimhaut angefertigt. Dazu wird mit einem Spatel die Innenseite der Wangen abgeschabt und die weißliche Masse auf einen Objektträger ausgestrichen. Das wie ein Blutausstrich weiterbehandelte Präparat zeigt rotgefärbte Epithelzellen, deren Kerne in leuchtendem Blau hervortreten. Viele Bakterien, die den abgestoßenen Zellen anhaften, sind gut sichtbar (s. Abb. 161/1). Mit dieser Methode können auch gute Präparate von sehr empfindlichen Blutparasiten (Plasmodien, Trypanosomen, s. Abb. 80/3) hergestellt werden.

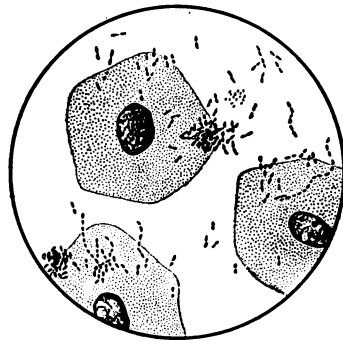


Abb. 161/1 Isolierte Plattenepithelzellen aus der Mundhöhle des Menschen mit starkem Bakterienbesatz; Ausstrichpräparat

**Protozoen aus dem Enddarm der Froschlurche (feuchter Ausstrich).** Durch die Präparation von Protozoen aus dem Enddarm eines Frosches wollen wir eine Methode kennenlernen, bei der das Präparat vom Ausstrich bis zum Einschluß nicht austrocknen darf. Es eignen sich dazu Darminhalt, Schleimhautausscheidungen, Hautsekrete von Fischen und Amphibien, Stuhl usw., also eiweißreiche Flüssigkeiten, die beim Fixieren am Objektträger klebenbleiben.

Ein Frosch wird an den Hinterbeinen erfaßt und mit der Schädeldecke kräftig auf eine Tischkante geschlagen. Dann führt man ein Blatt einer Schere ins Maul, schneidet den oberen Schädelteil ab und zerstört mit einer heißen Stricknadel das Rückenmark. Dem geöffneten Tier entnimmt man den Enddarm, streift seinen Inhalt in ein Uhrgläschen und verdünnt eventuell mit ein paar Tropfen physiologischer Kochsalzlösung. Dann wird ein Frischpräparat hergestellt. Es enthält 500  $\mu m$  bis 1000  $\mu m$  große, völlig bewimperte Einzeller mit vielen blasenförmigen Kernen; Mundöffnung, After und pulsierende Vakuolen fehlen. Diese Einzeller sind Verwandte der Ziliaten (*Opalina ranarum*). Außerdem findet man in fast jedem Ausstrich *Balantidium entozoon* (60  $\mu m$  bis 100  $\mu m$ ), ein typisch zweikerniges, heterotriches Ziliat. Das Rhizopod *Entamoeba ranarum*, die Flagellaten *Trichomonas batrachorum*, *Octomitus intestinalis* sowie das Ziliat *Nyctotherus cordiformis* kommen seltener mit den erstgenannten Formen vergesellschaftet vor.

Um ein Dauerpräparat herzustellen, wird der schleimige Darminhalt unverdünnt

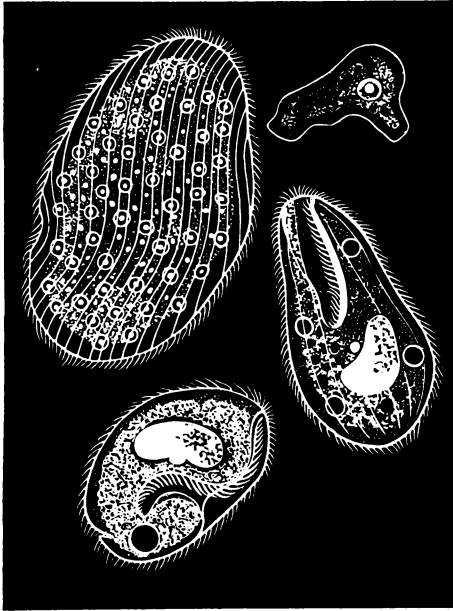


Abb. 162/1 Kommensalische Protozoen aus dem Enddarm des Wasserfrosches (*Rana esculenta*). Oben links *Opalina ranarum*, oben rechts *Entamoeba ranarum*, Mitte rechts *Balantidium entozoon*, unten links *Nyctotherus cordiformis*

ausgestrichen. Mit einer feinen Pipette wird ein Tropfen der Darmflüssigkeit aufgesaugt und zum Ausstrich auf ein Deckglas übertragen. Nach Entfernung grober Teile läßt man dann den Ausstrich so weit trocknen, daß die Oberfläche noch feucht ist. Die Fixierung erfolgt in Schaudinns Gemisch (Fix. 12). Dazu läßt man das Deckglas mit der Schichtseite auf die heiße Fixierflüssigkeit in einem Uhrgläschen fallen, so daß es zunächst auf der Lösung eine Weile schwimmt und dann erst untertaucht. Um bei der weiteren Bearbeitung (Auswaschen mit 70%igem Alkohol, Jodieren, Hinaufführen in der Alkoholreihe) Flüssigkeit zu sparen, legt man das Deckglas in ein kleines Schälchen und tropft mit der Pipette die Lösungen nacheinander auf. Die Einwirkungszeit beträgt jeweils nur wenige Minuten. Da vor allem die Kerne interessieren, kann Hämalau (Färb. 6) oder Kernechtrot (Färb. 31) zur Färbung dienen. Die Gegenfärbung erfolgt mit Eosin oder Erythrosin (Färb. 11). Anschließend wird mit der Pipette der Farbstoff abgespült, entwässert (aufsteigende Alkoholreihe), Xylol aufgebracht und in Neutralbalsam eingeschlossen.

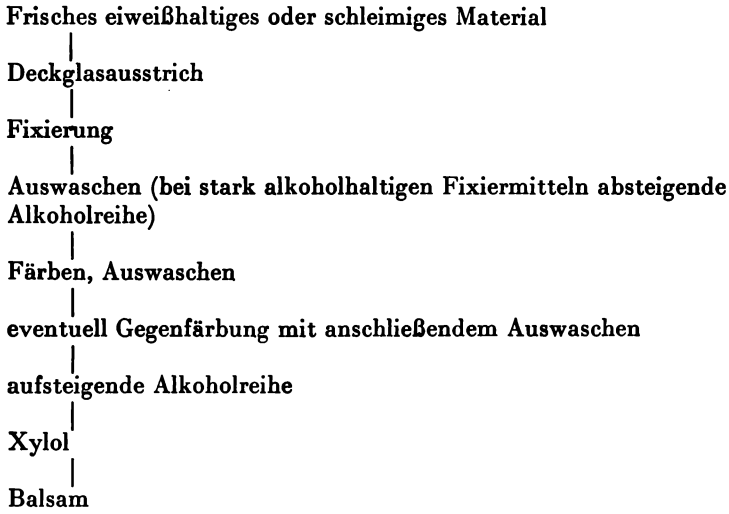
Die recht umständliche Arbeit wird durch Benutzung eines Färbesatzes sehr vereinfacht (s. Abb. 178/1). Dann behandelt man den fixierten Ausstrich wie einen aufgeklebten Mikrotomschnitt, allerdings ohne die Entparaffinierungs-Xylol-Stufe (s. S. 178f.). Durch diese Präparation entstehen sehr saubere und wirklichkeitsgetreue Präparate (s. Abb. 162/1).

Auf folgende Weise erhält man sehr schnell Präparate, die allerdings bei weitem nicht so gut sind: Der noch feuchte Deckglasausstrich wird einige Male mit der Schichtseite nach oben durch eine kleine Flamme gezogen, so daß die Protozoen durch schnelles Eintrocknen der Schicht (trockener Ausstrich!) hinreichend fixiert werden. Die Färbung erfolgt wie oben beschrieben. Danach läßt man wieder trocknen und schließt in Balsam ein. Viele Infusorien platzen, fast alle zeigen starke Deformierungen des Körpers, die

Kerne treten jedoch klar gefärbt hervor. Diese nur der allgemeinen Information (grobe Kernstudien) dienende Schnellmethode kann bei fast allen Protozoen angewendet werden.

---

#### Schema für feuchte Ausstriche



---

#### Methode 9: Präparate, die Fixierung und Färbung, aber keine Herstellung von Schnitten erfordern

**Epidermis eines Blattes, Abzugspräparat.** Pflanzliche Häute kann man häufig einfach abziehen. Ein frisches, nicht angewelltes Blatt der Tulpe wird so um den Zeigefinger der linken Hand gelegt, daß die Unterseite mit den Spaltöffnungen nach außen zeigt. Mit einem Skalpell zieht man einen feinen, quer zur Längsachse des Blattes verlaufenden flachen Schnitt, setzt die Schneide des Skalpells in diesen Ritz ein, übt mit dem Daumen einen leichten Gegendruck in Richtung auf die Schneide aus und zieht langsam und vorsichtig ein Stück Epidermis ab. Abgezogene pflanzliche Häute rollen sich beim Fixieren häufig so stark, daß sie sich zur Weiterverarbeitung nicht eignen. Deshalb verbleibt an jedem abgezogenen Häutchen ein Stück des Blattes, damit das Einrollen verhindert wird. Das Häutchen muß sofort in die bereitgestellte Fixierflüssigkeit, am besten Formalin 1 : 8 bis 1 : 9, gelegt werden. Es werden gleich mehrere Häute präpariert. Nach etwa einem Tag wird kurz aber gründlich mit fließendem Wasser ausgewaschen.

Auf die Technik des Färbens wird ausführlicher eingegangen, da die hier mitgeteilten Regeln für alle nachfolgenden Methoden gelten. Färbungen unfixierter Objekte fallen meist nicht einwandfrei aus und sind nicht haltbar. Dauerpräparate sollen klare, deutliche Färbungen zeigen, die sich jahrelang halten. Das gelingt nur, wenn die ein-



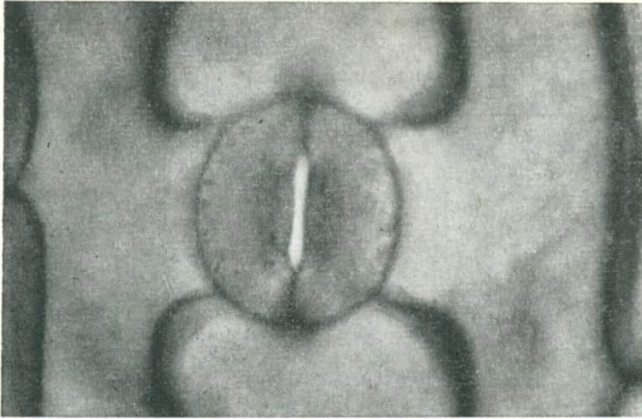


Abb. 164/1 Gartentulpe (*Tulipa gesneriana*); Spaltöffnung in der Epidermis (140 : 1/360 : 1)

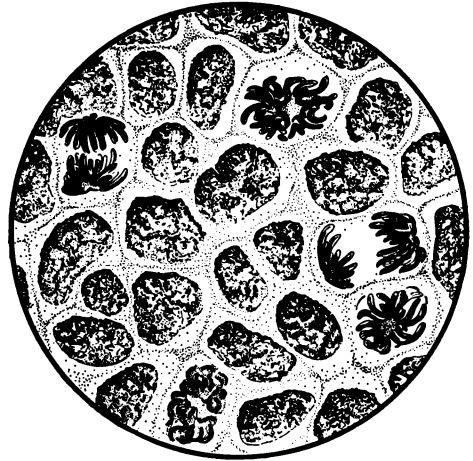
zuschließenden Objekte fixiert werden und wenn die Fixiermittel vor dem Färbvorgang sorgfältig ausgewaschen werden. Fixierte Objekte, die nicht gleich gefärbt werden sollen, werden in 80%igen Alkohol übergeführt.

Färbt man später in alkoholhaltigen Farblösungen, so werden die konservierten Teile direkt aus dem Konservierungsalkohol oder, bei sofortiger Verarbeitung, aus dem Auswaschalkohol übertragen. Sollen wäßrige Farblösungen verwendet werden, so müssen die Objekte vorher die absteigende Alkoholreihe passieren. Als letzte Stufe wird destilliertes Wasser benutzt. Relativ kleine Objekte behandelt man in einem Blockschälchen und setzt die Lösungen mit Pipetten zu. Zum Hineinbringen und Herausnehmen der Objekte dienen Spatel, Schnittfänger oder Lanzettadeln. Die Blockschälchen werden während der Einwirkungszeit der Flüssigkeiten mit einer Glasplatte zugedeckt. (Färbung kleinster Lebewesen und aufgeklebter Schnitte s. S. 162 und 179.)

Zur Einfärbung der Blatthäutchen kann u. a. Gentianaviolett als Kernfarbstoff verwendet werden. Da Gentianaviolett sich schneller auswäscht, als es in die Plasmastruktur eindringt, wird die regressive Färbemethode angewandt. Nach starker Überfärbung erscheinen die Häutchen dunkelviolett. Es wird gründlich, aber sehr schnell in 96%igem Alkohol ausgewaschen. Dadurch wird überflüssiger Farbstoff entfernt und zugleich verhindert, daß der an den Kernen haftende Farbstoff zu stark auszieht (Weiterbehandlung wie beschrieben). Das fertige Präparat zeigt in starken Kontrasten Form und Anordnung der Hautzellen, Verteilung und Bau der Spaltöffnungen sowie der Schließzellen (s. Abb. 164/1). Ähnliche Präparate ergeben die Epidermis von der Konkavseite der Blätter der Küchenzwiebel, die Oberhäute der Lilien, der Tradescantien, des Porrees (sehr geeignet!) und des Alpenveilchens.

**Hornhaut einer Teichmolchlarve.** Das Hornhautpräparat einer Teichmolchlarve (*Triturus vulgaris*) zeigt verschiedene Stadien der mitotischen Kernteilung. Die Larven müssen bereits Mitte Juni gefangen werden. Am besten gelingt das mit einem Gaze-netz, wenn sie zum Luftschnappen an die Oberfläche kommen. 1,5 cm bis 2,5 cm lange Tiere werden unzerteilt 24 Stunden in Bouins Gemisch (Fix. 11) fixiert. Auch Formalin (Fix. 2), Alkohol-Formalin (Fix. 9) und Susa (Fix. 14) sind geeignet. Die Zahl der Zellteilungen kann erhöht werden, wenn die frisch gefangenen Larven einige Tage in einem kleinen Aquarium gut belichtet, sehr reichlich gefüttert und erst dann fixiert

Abb. 165/1 Teichmolch (*Triturus vulgaris*);  
mitotische Kernteilungen in der Hornhaut der  
Larve



werden. Nach dem Auswaschen mit 70%igem Alkohol behalten die Larven bei Fixierung in Bouins Gemisch eine schwache gelbliche Färbung. Das schadet nicht. Die Hornhaut wird unter dem Präpariermikroskop oder auf der Präparierplatte herauspräpariert. Dazu faßt man die Larve hinter dem Kopf mit einer Pinzette und schneidet das gesamte Auge sowie die umgebende Haut mit einer feinen Präparierschere oder Lanzett-nadel heraus. Das Objekt darf nicht austrocknen. Die weitere Präparation erfolgt in 70%igem Alkohol

im Blockschälchen. Mit Schere, Lanzett- und Präpariernadeln werden von der Hinterseite des Auges alle Teile vorsichtig abgetragen, bis die Hornhaut völlig frei liegt. Die anschließende Haut bleibt am Präparat, da es sonst wegen seiner geringen Größe nur mühsam in die verschiedenen Flüssigkeiten übergeführt werden kann. Sowohl die Doppelfärbung mit Hämalaun-Eosin als auch reine Kernfärbungen mit Kernschwarz, Kernechtrot oder Eisenhämatoxylin geben gute Ergebnisse. Die Präparate werden in Blockschälchen gefärbt. Es empfiehlt sich, mehrere Hornhäute gleichzeitig zu be-

---

Schema für Präparate, die Fixierung und Färbung, aber kein Schneiden erfordern

Abziehen pflanzlicher Häute

Isolieren tierischer Teile

Fixierung

Auswaschen

Färben

Alkoholstufen (evtl. differenzieren)

abs. Alkohol

Alkohol-Xylol

Xylol

Balsam

---

arbeiten, eine 10, eine andere 15 und eine dritte 20 Minuten in Hämalaun (sonst entsprechend in ähnlicher Staffelung) zu färben. Da Eosin in Alkohol stark auszieht (überfärben), werden die Alkoholstufen möglichst schnell durchlaufen.

Zum Einschluß wird die gewölbte Seite der Hornhaut nach oben gelegt. Die Untersuchung des Präparats erfolgt mit etwa 400facher Vergrößerung. Vorwiegend an den Rändern der Hornhaut treten Teilungsstadien aller Phasen auf (Salamandermitosetyp, s. Abb. 165/1).

Auch in der Bauchhaut einer jungen Teichmolch- oder Salamanderlarve sowie ganz besonders in der Haut des Mundhöhlenbodens treten viele Mitosen auf. Nach der Fixierung werden Hautstücke vorsichtig abgezogen, mit einem kleinen Skalpell oder einer Lanzettadel beiderseits ganz leicht abgeschabt und wie oben angegeben weiterbehandelt. Die Häute dürfen nicht austrocknen! Die Flossensäume des Schwanzes ergeben ebenfalls sehr gute Präparate (s. Farbtafel 3, Abb. a).

**Diatomeen, Zentrifugier- oder Absetzmethode.** Die Bearbeitung mikroskopisch kleiner Tiere und Pflanzen bereitet Schwierigkeiten. Nur wenige Arten können als Ausstrich präpariert werden. Da es unmöglich ist, sie einzeln in die Fixier-, Farb- und Entwässerungsflüssigkeiten zu übertragen, wird die Zentrifugier- oder Absetzmethode benutzt.

In jedem Gewässer sind Kieselalgen vertreten; besonders im Frühjahr, kurz nach der Schneeschmelze, sowie im Herbst steigen sie in großen Mengen an die Oberfläche stehender Gewässer und bilden dort braune, schleimige, stark mit Luftblasen durchsetzte Massen. Dieser „Frühlingsauftrieb“ wird vom Ufer aus mit einem Schöpfer eingesammelt. Er enthält regelmäßig neben Diatomeen viele andere einzellige Algen und Protozoen (s. Abb. 166/1). Zunächst werden Frischpräparate hergestellt.

Zur Herstellung eines Dauerpräparats eignen sich Formalin (Fix. 2), Sublimat-Alkohol nach Schaudinn (heiß, Fix. 12), Susa (Fix. 14) sowie Nawaschins Gemisch (Fix. 15) als Fixiermittel. Für dieses Beispiel wird Schaudinns Gemisch gewählt. Als Fixiergefäß dient ein Zentrifugengläschen. Wenn keine Zentrifuge zur Verfügung steht, wird in einem kurzen Reagenzglas gearbeitet. Allerdings verlangsamt sich der Arbeitsablauf dann stark. Das Zentrifugengläschen wird mit heißem Fixiergemisch gefüllt.

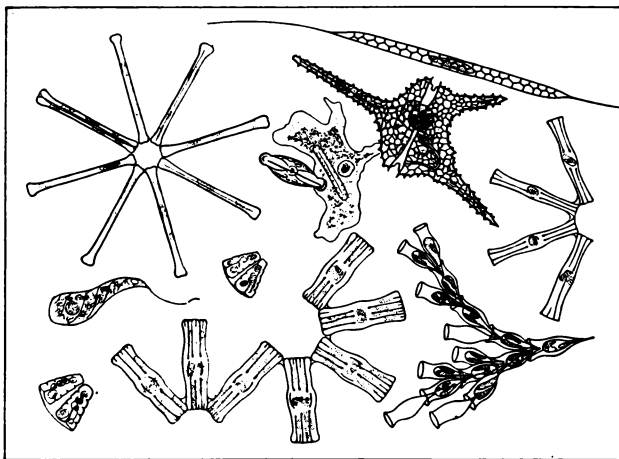


Abb. 166/1 Zarte Planktonformen. Oben (von links nach rechts) Diatomee *Asterionella gracillima* (Kolonie), Amöbe, Dinoflagellat *Ceratium hirundinella*, Diatomee *Rhizosolenia longiseta*; Mitte Flagellat *Euglena* sp., Diatomee *Tabellaria fenestrata* var. *asterionelloides*; unten Diatomee *Gomphonema* sp., *Tabellaria fenestrata* (Kolonie), Flagellat *Dinobryon sertularia*

Man spritzt dann mit einer Pipette eine möglichst stark konzentrierte Materialprobe in das Fixiermittel, ohne die Spitze der Pipette einzutauchen. Dies wird wiederholt, bis sich eine 1 cm bis 1,5 cm dicke Schicht am Boden des Gläschens befindet. (Eine versehentlich mit Fixierlösung verschmutzte Pipette wird sofort ausgewechselt.) Man fixiert viel mehr Material, als benötigt wird, da beim Flüssigkeitswechsel unvermeidliche Verluste eintreten.

Während der 12- bis 24stündigen Fixierung wird häufig geschüttelt. Vor dem Auswaschen des Fällungsmittels zentrifugiert man kurz, damit sich der Bodensatz etwas fester zusammenlegt, und gießt bzw. pipettiert das Fixiergemisch ab. Bei Verwendung eines Reagenzglases muß man sich mit vorsichtigem Abpipettieren begnügen. Durch Zugabe des 70%igen Auswaschalkohols wirbelt der Bodensatz wieder auf, er kann eventuell mit der Pipette aufgewirbelt werden.

Vor den folgenden Arbeitsgängen (Jodieren, Herabführen durch die Alkoholstufen, Färben, Auswaschen, Durchlaufen der aufsteigenden Alkoholreihe und Durchtränken mit Xylol) wird ebenfalls kurz zentrifugiert, damit die Materialverluste niedrig bleiben.

Die Objekte werden mit Boraxkarmin oder Alizarinviridin gefärbt. Die Farblösung muß vorsichtig entfernt werden, damit dabei nicht zuviel Material verlorenggeht. Dem letzten Xylol wird etwas Balsam zugesetzt, um die sehr zarten Einzeller bei der Übertragung in den reinen Balsam zu schonen. Zum Einschluß wird ein Tropfen des Materials mit einer Pipette in einen Balsamtropfen eingespritzt.

Dieses Verfahren eignet sich gut zur Präparation von tierischen und pflanzlichen Einzellern. Dabei gilt das für die Präparation der Hornhaut der Teichmolchlarve angegebene Schema.

## Methode 10: Zupf-, Quetsch- und Mazerationspräparate

Auch für die folgenden Präparationen braucht das Material nicht geschnitten zu werden. Man erhält vorwiegend Frisch-, aber auch Dauerpräparate, die oft gute Einblicke in den Aufbau tierischer und pflanzlicher Organismen vermitteln. Das Verfahren wird an drei Beispielen dargestellt.

**Zupfpräparate der Muskelfasern eines Frosches.** Von dem enthäuteten Oberschenkel eines Frosches werden in Faserrichtung verlaufende, möglichst flache Muskelscheibchen abgeschnitten, in ein Uhrgläschen mit physiologischer Kochsalzlösung gelegt und mit zwei Präpariernadeln zerzupft. Das Zerzupfen in halbtrockenem Zustand führt zu noch besseren Ergebnissen, setzt aber viel Übung voraus. Dann überträgt man kleinere Teile auf einen Objektträger und zerfasert sie (möglichst unter dem binokularen Präpariermikroskop), bis feinste Bündel und Fibrillen übrigbleiben. Größere Teile werden entfernt. Je feiner die Fasern zerteilt sind, desto besser zeigt das Präparat nach Auflegen eines Deckglases den Aufbau der quergestreiften Muskeln. Im polarisierten Licht (s. S. 59) ist besonders gut zu erkennen, daß anisotrope, dunkle Scheiben mit hellen, isotropen Scheiben abwechseln. Dem entspricht die Färbbarkeit der einzelnen Scheiben. Die spindelförmigen Kerne der im Gegensatz zu glatten Muskelfasern vielkernigen, quergestreiften Fasern liegen meist randständig am Sarkolemma, der dünnen, strukturlosen, die Muskelfasern umgebenden Haut. Wird Leitungswasser durch ein Frischpräparat gesaugt, so hebt sich das Sarkolemma nach kurzer Zeit blasenförmig ab. Saugt man 1%ige Essigsäure durch, so treten die Kerne klarer hervor. Noch besser wirkt Karminessigsäure oder Methylgrün-Essigsäure.

Zur Herstellung eines Dauerpräparats werden frische, kleine Muskelscheiben in Bouins Gemisch fixiert (Fix. 11). Auch absoluter Alkohol oder Formalin (Fix. 1, 2) geben brauchbare Resultate. Danach wird zerzupft und die weitere Arbeit im Uhrgläschen fortgesetzt: Auswaschen und Überführen in Wasser, dann Färben mit Hämalaun, Kernschwarz oder Eisenhämatoxylin (Färb. 6, 16, 20). Aus Xylol wird in Balsam übertragen und das Präparat in feinste Teile zerfasert. Besonders an den Enden der einzelnen Muskelfasern treten viele sehr feine Fibrillen hervor. Bei exakter Färbung muß die Querstreifung gut sichtbar sein. (Schema wie bei Methode 9.) Man übt die gleiche Präparation mit einem Stück des Nervus ischiadicus aus dem Oberschenkel eines Frosches.

**Quetschpräparat eines Strudelwurms.** Man bringt eine Planarie in einem Wassertropfen auf einen Objektträger, wartet, bis sie sich ausgestreckt hat, legt dann schnell einen zweiten Objektträger auf und drückt mäßig zusammen. Darauf werden die Objektträger zwischen Blechstreifen oder Federklammern eingeklemmt, oder mit einem Faden umwickelt. Vorher werden Deckglassplitter zwischen die Objektträger gelegt, damit das Objekt nicht zerquetscht wird. Nachdem die Klammern angelegt wurden, kommt das „Kompressarium“ in die Fixierflüssigkeit. Im vorliegenden Fall eignen sich Formalin (Fix. 2), heißes Sublimat (Fix. 5) und Susa (Fix. 14) besonders gut. Wenn die Hälfte der zum Fixieren notwendigen Zeit verstrichen ist, kann das „Kompressarium“ geöffnet und die Fixierung in bekannter Weise zu Ende geführt werden. (Weiterbehandlung nach Methode 6 oder 9). Durch das Quetschen treten die inneren Organisationsmerkmale gut hervor. Nach dieser Methode können auch Leberegel, trichinöses Fleisch und Glieder von Bandwürmern präpariert werden.

**Mazerations- oder Aufweichpräparate.** Während Zupfpräparate noch Zellverbände zeigen, werden in Mazerationspräparaten auch Zellen vereinzelt. Mit Hilfe bestimmter Flüssigkeiten lockert man die Zellverbände und zertrennt sie weiter mit der Präpariernadel. Kleine Gewebestücke kommen in die Mazerationsflüssigkeit und bleiben dort so lange, bis sie sich durch Schütteln, Berühren oder leichtes Zupfen in ihre Zellen auflösen lassen. Bei der Mazeration werden die Zellen mehr oder weniger beschädigt.

Viele pflanzliche Gewebe mazeriert schon 8 bis 14 Tage langes Faulen in Wasser. Aus Gurken- oder Schilfrohrstückchen zum Beispiel können mit der Präpariernadel die nach dem Faulen noch relativ festen, langen Teile der Leitbündel isoliert werden (Frischpräparate anfertigen!). Bei der Gurke zeigen sich dann vor allem Ring- und Spiralgefäße. Treppengefäße werden in gleicher Weise aus verfaulten Wurzelstückchen des Adlerfarns (*Pteridium aquilinum*), Netzgefäße aus mazerierten Knollen der Dahlien (z. B. *Dahlia variabilis*) isoliert. Der Einschluß erfolgt über Glycerin in Glyzeringelatine oder nach Methode 6. Soll die Mazeration sehr schnell vor sich gehen, so kocht man die Pflanzenteile in Wasser und setzt eventuell Kalilauge oder Ammoniakwasser zu.

Verholzte Gewebe werden durch das Schulzesche Mazerationsgemisch in ihre Elemente zerlegt. Einige kleine Stückchen Kaliumchlorat übergießt man in einem möglichst weiten Reagenzglas mit etwa 2 cm<sup>3</sup> konzentrierter Salpetersäure, gibt höchstens streichholzdicke Längsschnitte von Stengeln oder Zweigen dazu und erwärmt das Ganze sehr vorsichtig über kleiner Flamme, bis lebhaft Gasentwicklung eintritt. Die Objekte bleiben dann so lange in der Flüssigkeit, bis sie völlig weiß aussehen. Weil aggressive Gase entweichen, muß unter einem Abzug oder im Freien gearbeitet werden; auf keinen Fall in dem Raum, in dem die Instrumente liegen. Die Holzteilchen werden in Wasser abgespült und auf dem Objektträger in einem Tropfen Wasser zerfasert. Die Holz- und Bastfasern, Holzparenchymzellen, Tracheiden und Tracheenbruchstücke

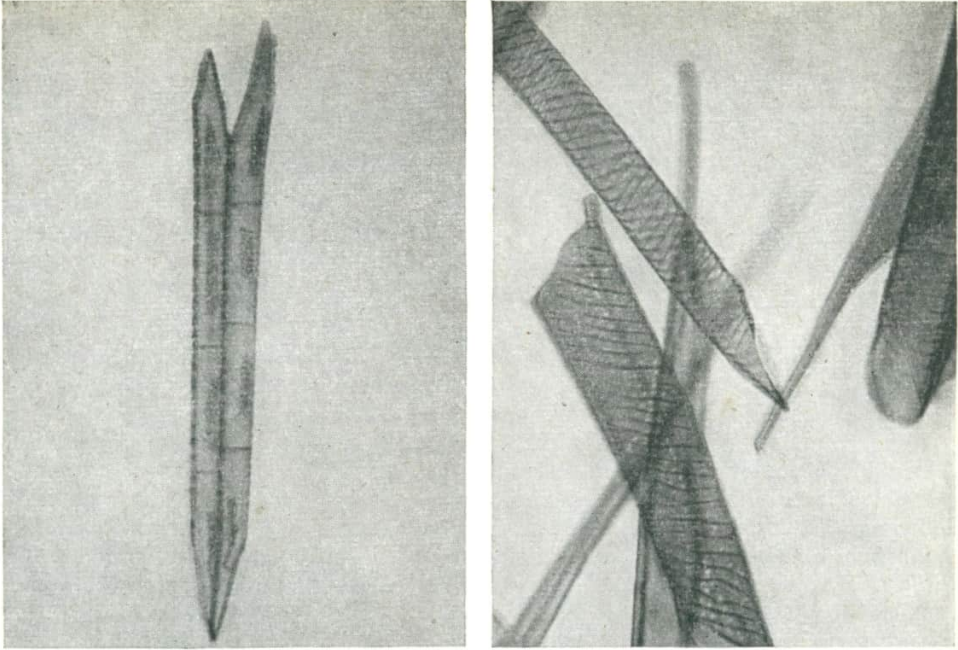


Abb. 169/1 Linde (*Tilia* sp.), isolierte Zellen aus dem Holz; links zwei Holzparenchymfäden, die aus mehreren mit Inhaltsstoffen gefüllten Zellen bestehen; rechts Glieder von Tracheen, eine Tracheide und Libriformfasern (84 : 1/210 : 1)

bleiben verhältnismäßig gut erhalten, das Lignin ist entfernt. Nach gründlichem Wässern kann man mit Safranin (Färb. 10) färben, entwässern und in Balsam einschließen (s. Abb. 169/1). Auch harte Frucht- und Samenschalen werden so behandelt.

Die Mittellamellen zwischen den einzelnen Zellen nicht verholzter Gewebe werden durch Salzsäure-Alkohol gelockert. Ein Gemisch von Salzsäure und 70%igem Alkohol im Volumenverhältnis 1 : 5 soll 24 Stunden einwirken. Nach Auswaschen in Wasser kommen die Pflanzenteile in 10%iges Ammoniakwasser. Sie sind schon nach kurzer Zeit leicht durch Druck zu zerteilen.

Zur Mazeration tierischer Gewebe dient sogenannter Drittelalkohol (33 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol auf 67 cm<sup>3</sup> destilliertes Wasser). Als Beispiel soll die Präparation der Dünndarmschleimhaut eines Frosches dienen. Ein Stück Darm wird aufgetrennt, kurz, aber gründlich in physiologischer Kochsalzlösung abgespült und für 12 bis 24 Stunden in Drittelalkohol gelegt (Gefäß verschließen!). Leichtes Erwärmen fördert die Mazeration. Auf einem Objektträger wird das Präparat zerzupft. Die isolierten Zylinderepithelzellen sind gut zu erkennen. (Durchsaugen von Karminessigsäure.) Muskelzellen können ganz ähnlich mit 35%iger Kalilauge, Drüsenkanälchen der Niere zum Beispiel mit reiner Salzsäure isoliert werden. Die Wirkung dieser Isolationsverfahren beruht darauf, daß nicht alle Zellen eines Gewebes gleich schnell zerstört, andererseits aber alle Elemente stark angegriffen werden. Nur wenn die Mazeration rechtzeitig unterbrochen wird, können brauchbare Ergebnisse erzielt werden.

Ein sehr instruktives Verfahren sei noch beschrieben. Durch ein Frischpräparat von *Hydra* wird 0,2- bis 0,02%ige Essigsäure gesaugt. Dabei kann man das Ausschleudern der Nesselzellen beobachten (s. S. 224). Die Säure löst die Stützlamelle sowie die Kittfugen zwischen den Zellen auf. Wenn man nach 1 bis 2 Minuten auf das Deckglas klopf, zerfällt die *Hydra* in ihre einzelnen Zellen. (Essigsäure höherer Konzentration bewirkt das Gegenteil, sie festigt die Kittsubstanz!) Im Frischpräparat sieht man bei mindestens 400facher Vergrößerung deutlich die einzelnen Zelltypen. Zur Kernfärbung wird Karminessigsäure durchgesaugt.

#### Methode 11: Hand- und Handmikrotomschnitte

Bei den bisher geschilderten Präparationen wurden die Präparate nicht geschnitten. Große Objekte können aber vielfach nur dann genauer untersucht werden, wenn sie in dünne Schnitte zerlegt werden. Man schneidet aus freier Hand mit dem Rasiermesser, mit dem Handmikrotom oder mit einem großen Mikrotom. Der Anfänger übt zunächst die Herstellung von Schnitten aus freier Hand.

Gute Schnitte sollen gleichmäßig dünn sein und durch das ganze Objekt führen, ohne daß sie zerrissen oder gezerrt werden. Normale Handschnitte sind etwa 50  $\mu\text{m}$  dick. Wenn man sehr geschickt ist, werden sie nur 30  $\mu\text{m}$ , im besten Fall 20  $\mu\text{m}$  dick. Mit guten Handmikrotomen können Schnitte bis zu 10  $\mu\text{m}$  (Randzone keilförmiger Schnitte!) erzielt werden. In beiden Fällen besteht keine Möglichkeit, die Schnittdicke genau zu ermitteln. Wenn beim fertigen Präparat erst auf die obere und dann auf die untere Schnittfläche scharf eingestellt wird, kann aus der Umdrehung des Feintriebes mit Hilfe der Indextrommel auf die ungefähre Dicke geschlossen werden. Mit Minotoder Schlittenmikrotomen lassen sich mit großer Genauigkeit Schnitte von 50  $\mu\text{m}$  bis zu 1  $\mu\text{m}$  Dicke und darunter herstellen.

Je dünner ein Schnitt ausfallen soll, desto schwieriger wird das Schneiden. Weiche Objekte und Objekte mit großen inneren Hohlräumen setzen dem Messer weniger Widerstand entgegen als härtere, die gut vor dem Messer stehen. Daher ist es einfacher, Schnitte von pflanzlichen Objekten zu gewinnen als von tierischen, die meist viel zu weich sind und deshalb dem Messer ausweichen. Außerdem dürfen Pflanzenschnitte dicker sein. So werden botanische Objekte fast ausschließlich mit der Hand oder mit dem Handmikrotom geschnitten.

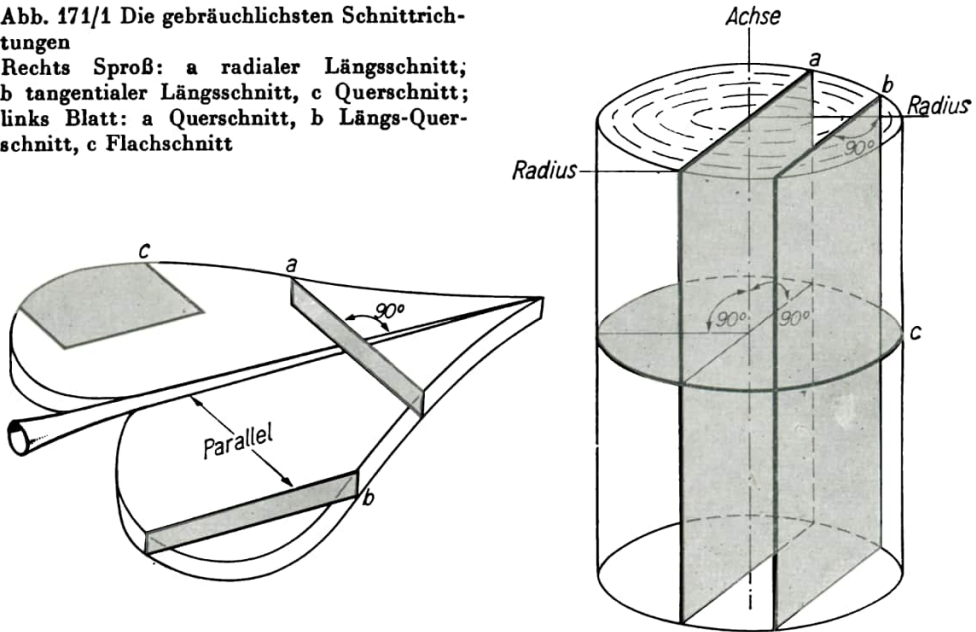
Frische Pflanzenteile lassen sich im allgemeinen schlecht schneiden. Darum werden sie zuvor fixiert und dann oft wochenlang in hochprozentigem Alkohol gehärtet. Sehr harte Objekte (z. B. verholzte Stengel, Zweige, Samenschalen) werden dagegen vor dem Schneiden durch geeignete Flüssigkeiten erweicht. Feste Objekte werden aus der freien Hand geschnitten, weiche Objekte (z. B. Blätter) oder Teile mit vielen Hohlräumen (z. B. Binsenstengel) klemmt man in ein Mittel ein, das sich gut schneiden läßt (Holundermark, Sonnenblumenmark, Seife).

Die Schnittrichtung und ihre Bezeichnungen sind aus Abbildung 171/1 zu ersehen. Radialer und tangentialer Längsschnitt ergeben unterschiedliche Bilder. Querschnitte des gleichen Organs unterscheiden sich weniger voneinander und sind deshalb im Unterricht leichter auszuwerten. Aufschluß über den räumlichen Bau eines Organs kann man sich nur durch Vergleich aller drei Schnitte verschaffen. Für die Untersuchung flächiger Organe gilt das gleiche (s. Abb. 171/1).

Vor dem Schneiden wird mit Skalpell oder Rasierklinge eine glatte Anschnittfläche

Abb. 171/1 Die gebräuchlichsten Schnittrichtungen

Rechts Sproß: a radialer Längsschnitt; b tangentialer Längsschnitt, c Querschnitt; links Blatt: a Querschnitt, b Längs-Querschnitt, c Flachschnitt



hergestellt. Dann führt man die ersten Schnitte mit dem Rasiermesser durch das ganze Objekt. Diese Schnitte vermitteln die Gesamtübersicht. Histologische Einzelheiten werden an Keilschnitten untersucht. Man legt das Messer auf das Objekt und hebt einen möglichst feinen, keilförmigen Schnitt ab. In ein gutes Präparat gehört neben einem Übersichtsschnitt ein gelungener Keilschnitt. Die Schnitttechnik wird an drei Beispielen gezeigt.

**Handschnitt-Technik.** Relativ häufig findet man die an Hopfen, Nesseln, Hanf, Weiden usw. schmarotzende Europäische Seide (*Cuscuta europaea*). Ihre rötlichgelben, chlorophyll- und wurzellosen Stengel legen sich in engen Windungen um die Wirtspflanze und senden verzweigte Saugfortsätze (Haustorien) in deren Gefäßbündel.

Die Haustorien sind mit bloßem Auge als kleine Warzen gut erkennbar.

Die Sproßteile befallener Pflanzen werden im Juli gesammelt. Das Material wird mit Alkohol, Formalin, Formalinalkohol oder Nawaschins Gemisch fixiert (Fix. 1, 2, 9, 15). Als Beispiel soll hier die Formalinfixierung dienen. Nach der Fixierung werden die Objekte (Sproßteile bis höchstens 2 cm Länge) ausgewaschen und zum Härten für 10 bis 14 Tage über die aufsteigende Alkoholreihe in 70- bis 96%igen Alkohol übergeführt. Der Alkohol entzieht zugleich das Chlorophyll. Danach können die Objekte geschnitten werden. Die Klinge muß am *Cuscuta*-Stengel ansetzen, da sonst die Haustorien aus den Geweben der Wirtspflanze herausgerissen werden. (Zum Schneiden werden die Objekte immer so gehalten, daß die härteren Teile zum Körper zeigen.)

Daumen, Zeige- und Mittelfinger der linken Hand halten ein Stengelstück so, daß es im ersten Gelenk (zwischen 1. und 2. Glied) des Zeigefingers liegt. Das 2. Fingerglied soll sich in gleicher Höhe mit der oberen Kante des Stengels befinden und möglichst parallel dazu liegen. Beim Schneiden gleitet der Messerrücken auf diesem Fingerglied und erhält so eine festere Führung. Der Daumen übt den Gegendruck aus und muß



einige Millimeter unter der Oberkante des Stengels liegen. Die rechte Hand faßt das Rasiermesser dicht am Gelenk so an, daß das Heft in der hohlen Hand, der Daumen in der Kehle der Klinge und der Zeigefinger ihm gegenüber auf dem Messerrücken liegt. Das Messer wird fest, aber nicht krampfhaft gehalten. Die Messerklinge wird mit derselben Flüssigkeit befeuchtet, mit der das Objekt durchtränkt ist. Dadurch schieben sich die Schnitte leicht auf die Klinge bzw. schwimmen auf ihr. Außerdem kann beim Schneiden keine Luft in die Gewebe eindringen. Luft läßt sich nur umständlich wieder entfernen (darum Stengelstückchen stets feucht halten!). Beim Schneiden wird die Messerklinge von rechts nach links auf den Körper zu in ihrer ganzen Länge waagrecht durch den Schnitt gezogen. Dadurch werden die Vorteile einer langen Schnittpur bei geringer Steigung ausgenutzt (s: Abb. 172/1).

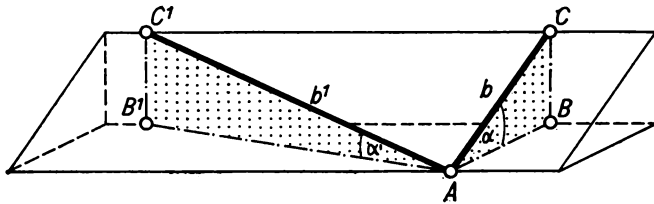


Abb. 172/1 Steigung und Schnittpur beim Rasiermesser

Auf keinen Fall darf man die Klinge durch das Objekt drücken; feine Gewebe zerreißen unweigerlich. Der erste abgehobene Schnitt wird weggeworfen, der nächste gelungene wird mit einem feinen, alkoholfuchten Haarpinsel von der Klinge genommen und in ein Uhrgläschen oder Blockschälchen mit 70%igem Alkohol übertragen. Objekt und Messer werden erneut befeuchtet, dann folgt der zweite Schnitt usw. Man fertigt mehrere Schnitte an und scheidet mißlungene gleich aus.

Weniger widerstandsfähige Objekte werden vor dem Schneiden zwischen Holundermark eingeklemmt, um sie vor Druck zu schützen. Holundermark gewinnt man aus abgestorbenen, mittelstarken Sprossen sowie jungen Schößlingen von Holunderbüschen (*Sambucus nigra*). Beste Sammelzeiten sind Januar und Februar. Die harte Rinde läßt sich meist gut entfernen, andernfalls wird sie leicht mit einem Hammer beklopft. Man legt sich einen Vorrat von ausgetrockneten Markteilen an. Für sehr zarte Objekte eignet sich das noch weichere Sonnenblumenmark. Zum Einklemmen von flächigen Teilen (z. B. Blattspreiten) wird ein Markstück entsprechender Länge halbiert. Blätter mit Rippen, Sproß- oder Wurzelteile werden zwischen zwei Markhälften gelegt, die so weit ausgehöhlt sind, daß sie die Objekte, die geschnitten werden sollen, eng umschließen. Mit einer feinen Schnur wird das Mark zusammengehalten. Beim Schnitt zieht das Messer zuerst durch das Mark, dann durch das Objekt und zuletzt wieder durch das Mark. Die Holundermarkschnitte dürfen nicht mit in das Sammelgefäß kommen. Mit dieser Methode werden fast immer bessere Ergebnisse erzielt als mit dem Schneiden aus freier Hand. Das Mark setzt dem Messer einen gewissen Widerstand entgegen, dadurch kann man die gewünschte Schnittdicke besser einhalten.

Holundermark hat auch Nachteile. Es enthält feste Einschlüsse, die die Klinge des Messers abstumpfen. Trockenes Holundermark entzieht den Objekten Feuchtigkeit und läßt sie dadurch schrumpfen. Durch Aufnahme von Feuchtigkeit wird es selbst weich und elastisch und läßt sich schlechter schneiden. Längs zu schneidende Objekte, runde Samen usw. lassen sich schlecht einklemmen.

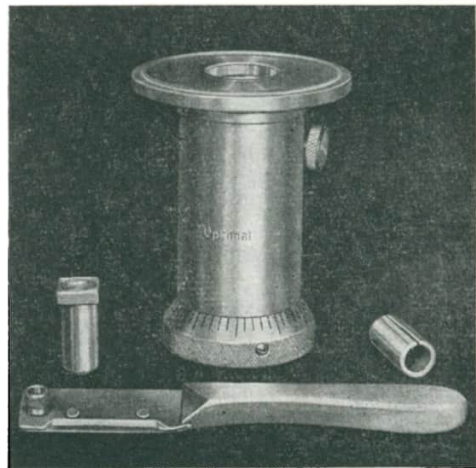
Vielfach wird mit Erfolg Seife als Einklemmmittel verwendet. Geeignet sind alle mittelharten Gebrauchsseifen ohne harte Füllstoffe (Sand oder Bleichton). Glycerinseife ist relativ durchsichtig und eignet sich daher am besten. Alkoholische oder wasserlösliche Zusätze (Duftstoffe) schaden nicht. Da Seife nicht elastisch ist, muß man die Stücke so aushöhlen, daß die Vertiefungen der Form der zu schneidenden Teile möglichst genau entsprechen. Zwischen die zugeklappten Hälften werden einige Tropfen Wasser oder Alkohol gegeben. Dadurch löst sich etwas Seife und verklebt nicht nur die beiden Einschlußhälften fest miteinander, sondern füllt auch die Hohlräume zwischen Objekt und Seifenblock aus. Nach längstens 30 Minuten läßt sich der Seifenblock wie ein Paraffinblock (s. S. 177) zuschneiden. Durch Seifeneinbettung können sehr dünne Handschnitte gewonnen werden. Man sammelt sie in destilliertem Wasser; kalkhaltiges Leitungswasser bildet schwerlösliche Niederschläge mit der Seife. Dann wird mehrmals ausgewaschen und wie üblich weiterbehandelt.

Um von den Schnitten reine Membranpräparate herzustellen, die nur die Zellwände zeigen, bringt man sie entweder über die absteigende Alkoholreihe oder direkt aus Wasser in Eau de Javelle. Nach der Aufhellung werden sie nochmals gewässert und können dann gefärbt werden. Sollen unverholzte und verholzte Membranen in einer zweizeitigen Doppelfärbung differenziert eingefärbt werden, so wählt man zunächst die Hämalan-Safranin-Färbung (s. S. 125). Aus destilliertem Wasser wird in Hämalan übertragen, 10 Minuten gefärbt, 20 Minuten in Leitungswasser gebläut, dann für 30 Minuten in Safranin übertragen (Überfärbung!) und anschließend so lange in 96%igem Alkohol differenziert, bis keine starken Farbwolken mehr abgehen, die blauroten Farbkomponenten aber mit bloßem Auge noch gut zu erkennen sind. Man entwässert und schließt wie üblich ein. Wenn das Blockschälchen auf dem weißen Teil einer Präparierplatte oder auf weißem Papier steht, können die dünnsten und gleichmäßigsten Schnitte im Xylol leicht herausgefunden werden. Trotzdem fertigt man mehrere Präparate an und sucht unter dem Mikroskop die geeignetsten heraus, da nur

Abb. 173/1 Europäische Seide (*Cuscuta europaea*) auf Schafgarbe; Schnitt durch ein Haustorium (28 : 1/56 : 1)



Abb. 173/2 Handmikrotom Optimat

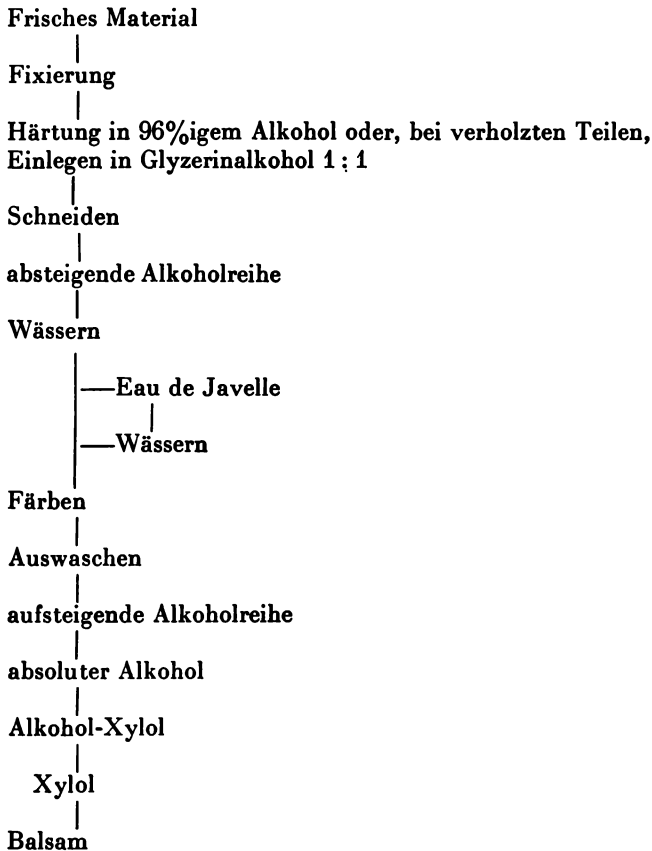


wenige Schnitte wirklich median durch ein Haustorium führen und somit gute Übersichtsbilder ergeben (s. Abb. 173/1).

**Handmikrotomschnitt-Technik.** Einen Querschnitt durch einen bleistiftdicken Zweig der Maulbeere (*Morus alba*) stellt man am besten mit dem Handmikrotom (s. Abb. 173/2) her. Ein Stück des Stengels wird in 2 cm bis 3 cm lange Abschnitte zerlegt und 48 Stunden in absolutem Alkohol fixiert. Stark verholzte Pflanzenteile müssen vor dem Schneiden erweichen. Man legt sie nach dem Fixieren einige Tage (auch wochenlange Einwirkung schadet nicht!) in ein Gemisch aus absolutem Alkohol und reinem Glycerin im Verhältnis 1:1. Diese Aufweichmethode geht dem Schneiden aller verholzten pflanzlichen Teile voraus, nur so lassen sich unter optimaler Schonung der Klinge dünne, gleichmäßige Schnitte gewinnen. Der Objekhalter mit dem durch Holundermark oder beigeschobene Holzspäne festgelegten Stengelstück wird so in das Handmikrotom

---

#### Schema für Hand- und Handmikrotomschnitte pflanzlichen Materials



eingesetzt, daß die Oberkante des Stengels mit der Tischebene abschneidet. Der Stengel wird so weit gehoben, daß mit einem Skalpell gerade angeschnitten werden kann. Dann wird die Mikrometerschraube um einen Teilstrich weitergedreht und so der Stengel um 10 µm gehoben. Der erste Schnitt kann abgehoben werden. Beim Schneiden drückt der Daumen der rechten Hand nicht in die Messerkehle, sondern auf die Klinge, um sie fest auf den Tisch zu pressen. Klinge und Objekt müssen ständig feucht sein. Auf diese Weise entstehen in relativ kurzer Zeit viele gleichmäßige, gut gelungene Schnitte. Weiterverarbeitet wird, wie bei der Hopfenseide angegeben, nur soll das Glycerin gut ausgewaschen werden, da es sonst die Färbung nachteilig beeinflusst. An diesem Objekt können nacheinander die Doppelfärbungen 22 bis 27 und 31 ausprobiert werden (s. Farbtafel 3, Abb. b).

**Querschnitt durch einen entkalkten Knochen.** Fast alle tierischen Gewebe sind zum Hand- oder Handmikrotomschnitt zu weich. Eine Ausnahme bilden Knorpel und entkalkte Knochen. Man sägt dünnere Röhrenknochen kleinerer Säuger (Katze, Kaninchen) in 2 cm bis 3 cm lange Stücke und fixiert sie einige Wochen in 10- bis 15%iger Formalinlösung. Dann werden sie kurz in destilliertem Wasser abgespült, für 3 bis 4 Stunden in 96%igen Alkohol und darauf für 6 bis 10 Stunden in fließendes Wasser gebracht (s. S. 110). Im allgemeinen genügt es auch, die Objekte längere Zeit zu wässern. Als Entkalkungsmittel dient verdünnte Salpetersäure (7,5 cm<sup>3</sup> konzentrierte Salpetersäure auf 100 cm<sup>3</sup> Aqua destillata). Knochenstücke an Fäden in die Salpetersäure (öfter wechseln) einhängen! Nach 24 Stunden sind die Knochen meist entkalkt und weich geworden. (Durch Einstiche mit einer Nadel prüfen!) Dann werden sie in 5%ige Alaunlösung (mehrfach wechseln!) übergeführt, damit die Gewebe beim dann folgenden Auswässern nicht quellen. In viel destilliertem Wasser wird 1 bis 2 Tage lang ausgewaschen. Das letzte Waschwasser darf blaues Lackmuspapier nicht mehr röten. Auf diese Weise werden alle Knochen enthaltenden Gewebe entkalkt (z. B. inneres Ohr). Man kann auch Pikrinsäure, pikrinsäurehaltige Fixiergemische oder Trichloressigsäure verwenden. Diese Mittel entkalken jedoch nur dünne Knochenteile.

Mit der Hand oder dem Handmikrotom stellt man möglichst dünne Quer- und Längsschnitte her, wässert kurz, färbt mit Gentianaviolett (Färb. 17) oder Boraxkarmin (Färb. 8) und schließt in Glyzeringelatine oder Balsam ein. Die fertigen Präparate zeigen die von Grundsubstanz (Interzellulärsubstanz) umgebenen und durch verzweigte Fortsätze miteinander in Verbindung stehenden Knochenzellen. Sie liegen größtenteils auf den sogenannten Haversschen Lamellen (s. Abb. 182/1).

## Methode 12: Paraffineinbettung und Mikrotomschnitt

Zur Herstellung histologischer Präparate von zoologischen und sehr zarten botanischen Objekten schmilzt man die Objekte in Paraffin ein und fertigt Mikrotomschnitte mit dem Schlitten- oder dem Minotmikrotom an. Obwohl nicht in allen Schulen die Voraussetzungen zur Herstellung von Paraffinschnitten (Thermostat, Mikrotom) vorhanden sein dürften, wird der Arbeitsgang an einem Beispiel erläutert. Über die Einbettung in Zelloidin oder Zelloidin-Paraffin gibt die Fachliteratur Auskunft.

**Tastkörperchen in der Wachshaut des Entenschnabels.** In der Haut der Vögel liegen viele zusammengesetzte Tastzellen (Herbstsche Körper). Besonders zahlreich sind sie in der Kutis von Schnabel und Zunge bei Entenvögeln, Spechtartigen usw.

Einer frisch getöteten, möglichst noch warmen Ente zieht man die Schnabelwachs-  
haut ab und fixiert kleine Stücke davon in Susa. Nach dem Fixieren werden die Haut-  
stückchen ausgewaschen, die Alkoholstufen (geringe Konzentrationssteigerung von  
Stufe zu Stufe!) hinaufgeführt und schließlich für mindestens 2 Stunden in absolutem  
Alkohol (mehrfach wechseln!) gelegt. Da die Haut in Paraffin eingeschmolzen werden  
soll, der absolute Alkohol sich aber mit Paraffin nicht mischt (auch Optal mischt sich  
nicht ausreichend), wird er langsam durch eine Flüssigkeit ersetzt, die sich mit Paraffin  
in jedem Verhältnis mischt und leicht flüchtig ist. Man verwendet als Zwischenmittel  
reinstes Benzol. Da der Übergang von Alkohol in Benzol nicht plötzlich geschehen darf,  
entnimmt man von Zeit zu Zeit einige Tropfen Alkohol mit der Pipette und gibt die  
gleiche Menge Benzol zu, bis die Häute in reinem Benzol liegen (Dauer 5 bis 6 Stunden).  
Im Benzol dürfen sie höchstens 1 Stunde bleiben. Sie erscheinen dann gläsern durch-  
sichtig. (Zeigen sich weiße Schlieren, so ist nicht genügend entwässert worden! Die  
Objekte müssen noch einmal in den absoluten Alkohol zurück.)

Die folgende Methode schont die Objekte, die durch langes Liegen in Benzol stark  
gehärtet werden, wesentlich mehr. Dabei wird der Alkohol durch reines Methylbenzoat  
verdrängt. Werden die Präparate aus absolutem Alkohol in Methylbenzoat über-  
geführt, so schwimmen sie zunächst oben und sinken erst nach 1 bis 4 Stunden, mit  
zunehmender Verdrängung des Alkohols, zu Boden. Noch zweimal in frisches Methyl-  
benzoat übertragen! Die gesamte Durchtränkung dauert etwa 24 Stunden. Methyl-  
benzoat verdrängt den Alkohol restlos aus den Objekten, Benzol nicht immer. Danach  
kommen die Objekte für 30 Minuten (nicht länger!) in Benzol (einmal wechseln!)  
und können nun in Paraffin eingebettet werden.

In der nächsten Stufe kommen die Häute in Benzol-Paraffin. Bei Zimmertemperatur  
wird möglichst viel geschabtes Paraffin mit niedrigem Schmelzpunkt in Benzol gelöst.

Abb. 176/1 Wärmeschrank für die Paraffin-  
einbettung

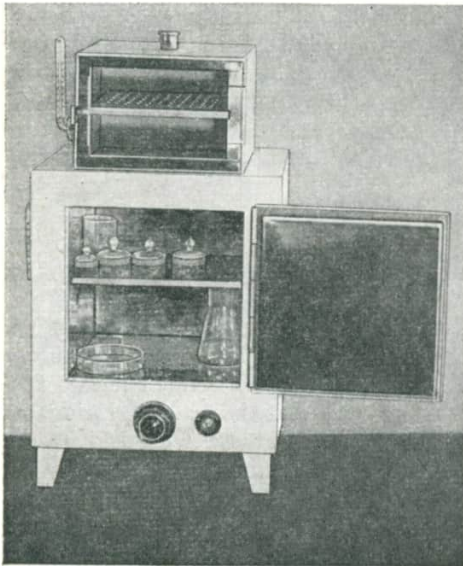
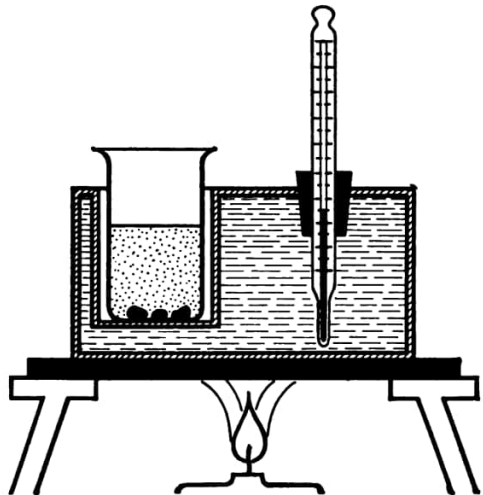


Abb. 176/2 Vorrichtung zur behelfsmäßigen  
Paraffineinbettung



In diesem Benzol-Paraffin liegend, kommen die Häute auf einen Paraffineinbettungsapparat oder in den Thermostataufsatz (s. Abb. 176/1). Steht kein Wärmeschrank zur Verfügung, so hilft eine behelfsmäßige Vorrichtung (s. Abb. 176/2). Die gewünschte Temperatur wird an einem Kontaktthermometer eingestellt.

Das Kontaktthermometer wird zum Einschmelzen der Objekte in Paraffin so eingestellt, daß im Apparat ständig eine Temperatur herrscht, die etwa 5 °C über dem Schmelzpunkt des verwendeten Paraffins liegt, hier also auf 58 °C bis 60 °C. Infolge der erhöhten Temperatur verdunstet das Zwischenmittel (Benzol) rasch. Man achtet darauf, daß die Objekte immer von Flüssigkeit bedeckt bleiben! Dann werden die Objekte mit erwärmtem Spatel in ein Gefäß mit flüssigem Paraffin übergeführt, das nun langsam die Gewebe durchtränkt (Paraffin ein- bis zweimal wechseln!). Zuletzt liegen die Häute in reinem, geschmolzenem Paraffin, in dem sie zur völligen Durchtränkung – je nach Größe – 1 bis 2 Stunden verbleiben. Nun kommen sie in geschmolzenes Paraffin mit einem Schmelzpunkt von 55 °C. Es ist nach der Abkühlung härter als das zuerst verwendete; man kann deshalb dünnere Schnitte herstellen. In dieser zweiten Paraffinstufe bleiben die Schnabelhäute noch einmal 1 bis 2 Stunden; größere Objekte benötigen 5 bis 6 Stunden zur völligen Durchtränkung. Daß die lang anhaltende Hitze die so behandelten Gewebe etwas schädigt, sie vor allem um 8% bis 20% schrumpfen läßt, muß in Kauf genommen werden.

Sind die Häute völlig durchtränkt, so streicht man ein Blockschälchen dünn mit Glycerin aus oder benetzt es mit Wasser und gießt dann eine dünne Schicht heißes Paraffin ein. Bevor es erkalte und sich mit einem Häutchen bedeckt, wird ein Stück der Schnabelwachshaut so eingelegt, daß die vorgesehene Schnitttrichtung parallel zu einer der Kanten des Schälchens liegt. Das ist wichtig, weil das eingeschmolzene Objekt im erkalteten Paraffin kaum noch zu erkennen ist. Häufig wird empfohlen, ein Haar zum Bezeichnen der Schnitttrichtung mit einzuschmelzen. Auf dem dünnen Oberflächenhäutchen, das sich beim Erkalten bildet, markiert man mit einer Nadel die parallel zu einer Kante des Nöpfchens verlaufende Schnitttrichtung. Dann kühlt man das Ganze durch Aufsetzen auf kaltes Wasser und taucht, sobald sich ein festes Oberflächenhäutchen gebildet hat, schnell unter. Schnelles Erstarren gibt bessere Ergebnisse als langsames Abkühlen. Nach dem Erkalten läßt sich der nun diskusförmige Paraffinblock leicht aus dem Blockschälchen lösen, da das eingestrichene Glycerin verhindert, daß das Einbettungsmittel am Glas anklebt.

Später wird dann dieser Rohling durch Beschneiden mit einem scharfen Messer oder Skalpell so geformt, daß ein sich nach oben verjüngender Paraffinblock entsteht, der das eingeschlossene Teil allseitig 2 mm

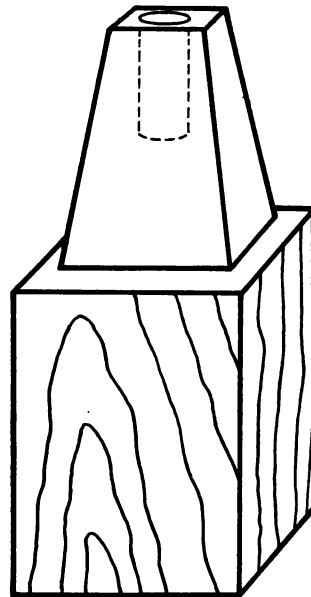


Abb. 177/1 Aufgeschmolzener Paraffinblock

bis 3 mm dick umgibt. Der fertige Block wird auf ein Holzklötzchen oder auf die Kittplatte des Minot-Mikrotoms aufgeschmolzen (s. Abb. 177/1).

Das **Minot-Mikrotom** führt das Objekt am feststehenden Messer vorbei und schiebt es nach jedem Schnitt wieder automatisch um eine vorher eingestellte Schnittstärke nach vorn. Vorschub sowie Heben und Senken des aufgekitteten Blockes besorgt ein Handrad. Das Minot-Mikrotom ist besonders für Schulen, Institute und Liebhaber geeignet. Nachteilig ist, daß sich die Paraffinblöcke nicht beliebig in ihrer Stellung zum Messer einstellen lassen. Die gewünschte Schnittebene muß also bereits beim Aufschmelzen des Blockes (Aufblocken) möglichst präzise eingerichtet werden.

Paraffinblöcke werden mit quergestelltem Messer geschnitten. Die Einzelschnitte nimmt man nach jedem Schnitt mit einem feinen Pinsel vom Messer ab. Bleibt der erste Einzelschnitt jedoch auf dem Messer, so verbindet sich der nachfolgende durch Verkleben der Ränder mit ihm, der zweite mit dem dritten usw. Es entstehen sogenannte Schnittbänder, die jeder neu hinzukommende Schnitt eine Strecke weiterschiebt. In dieser Weise können ganze Organe und Tiere in lückenlos aufeinanderfolgende Schnittbänder zerlegt werden, die bei histologischen Untersuchungen genauen Aufschluß über die räumlichen Verhältnisse der Gewebe und Organe geben. Gute Bänder entstehen allerdings nur dann, wenn beide Blockkanten parallel zur Messerschneide stehen.

Viele Faktoren, auf die in diesem Überblick nicht eingegangen werden kann, wirken auf die Schnitttechnik ein und erschweren die Arbeit häufig sehr stark. Bei **Schlittenmikrotomen**, die wesentlich teurer sind, dafür aber meist auch präziser arbeiten als Minot-Mikrotome, läuft ein Messerschlitten auf einer waagerechten Bahn, während das Objekt durch Verschieben des Objektschlittens auf einer schiefen Ebene oder mit einer senkrechten Schraubenspinde gehoben wird.

Um zu verhindern, daß die Schnitte beim Weiterverarbeiten leiden, werden sie auf sorgfältig gereinigte Objektträger geklebt. Eine hauchdünn mit dem kleinen Finger auf dem Objektträger verriebene filtrierte Mischung von Glycerin und Eiklar im Verhältnis von 1 : 1 dient dabei als Klebemittel. Auf diese Klebeschicht kommt ein großer Tropfen destilliertes Wasser, auf dem die Schnitte mit ihrer blanken Schnittseite nach unten schwimmen sollen. Da die Schnitte oft leicht gerollt oder zusammengeschoben vom Messer kommen, werden sie durch Erwärmen des Objektträgers über der Flamme eines Spiritusbrenners gestreckt. Das Paraffin darf dabei keinesfalls schmelzen. Nun kommen die Objektträger zum Verdunsten des Wassers in den auf etwa 35 °C eingestellten Wärmeschrank. Das Wasser verdunstet, die gestreckten Schnitte kleben am Eiweiß fest. Sicherheitshalber können die getrockneten Objektträger noch einmal bis zum Anschmelzen des Paraffins über der Flamme erwärmt werden. Dabei entweichen alle Luftbläschen, das Eiweiß gerinnt und klebt die Schnitte ganz fest an.

Die angeklebten Schnitte werden in einem Satz sogenannter Färbegläser weiterbearbeitet, die in einer absteigenden und einer aufsteigenden Reihe angeordnet sind (s. Abb. 178/1). Vor dem Färben muß zunächst das Paraffin aus den Schnitten entfernt

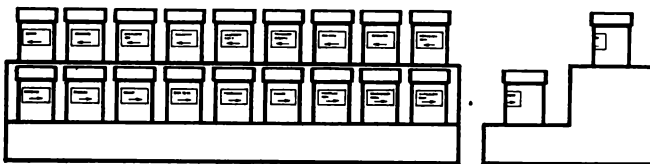


Abb. 178/1 Doppelter Färbesatz; vorn die absteigende, hinten die aufsteigende Reihe (rechts in Seitenansicht)

werden. Man bringt zu diesem Zweck den Objektträger für 10 Minuten in das Xylol-Gläschen der absteigenden Alkoholreihe. Dann durchlaufen die Schnitte die absteigende Alkoholreihe (jede Stufe 5 bis 10 Minuten!). Aus destilliertem Wasser kommen sie zur Kernfärbung für 10 Minuten in Hämalaun, nach dem Bläuen in Leitungswasser für einige Minuten zur Gegenfärbung des Plasmas in Eosin oder Erythrosin, passieren dann die aufsteigende Alkoholreihe und werden über Xylol in Neutralbalsam eingeschlossen.

Diese kurze Übersicht zeigt, wieviel Mühe und Zeit und welchen technischen Aufwand die Herstellung der Mikrotomschnitte erfordert. Andererseits lohnen gut gelungene Schnitte den Arbeitsaufwand (s. Abb. 179/1).

### Methode 13: Behandlung mit Silberlösungen

Die Möglichkeit, mit Hilfe von Edelmetallsalzen Niederschläge in den Zellen oder Geweben zu erzeugen, wird vor allem bei der Untersuchung des Nervensystems der Wirbeltiere ausgenutzt, weil sich die Niederschläge vorwiegend in den Nervenzellen und -geweben bilden. Außerdem macht dieses Verfahren Zellgrenzen in Darmaufhängebändern, Muskeln, Lungen- und Milzgewebe sehr deutlich sichtbar und läßt sich dazu verwenden, die sogenannten Silberliniensysteme bei Einzellern darzustellen. Obwohl die Präparationen oft mißlingen, soll das Verfahren an zwei Beispielen erläutert werden, die wenig Aufwand voraussetzen und sehr anschauliche Präparate ergeben können.

**Das Silberliniensystem der Ziliaten.** Bei Ziliaten verläuft dicht unter der Oberhaut (Pellikula) ein Netz plasmatischer Fibrillen. Dieses Fasernetz heißt Silberliniensystem, da es durch Silberniederschläge imprägniert wird. Es übt nervöse Funktionen aus (s. Abb. 180/1).

Aus einer konzentrierten Kultur von Pantoffeltierchen (*Paramecium*) bringt man mit der Pipette einen Tropfen auf einen Objektträger, streicht den Tropfen dünn aus und entfernt alle größeren Verunreinigungen. (Keine Metallinstrumente dazu benutzen!) Der Ausstrich soll bei Zimmertemperatur im Schatten trocknen. Unter dem Mikroskop wird geprüft, ob noch genug guterhaltene Tiere im Ausstrich vorhanden sind. Unter Umständen liefert ein neuer Ausstrich durch langsames oder schnelleres Trocknen bessere Ergebnisse. Der beste Ausstrich wird bei stark gedämpftem Tageslicht, möglichst sogar im Dunkeln, mit einer 2%igen Silbernitratlösung etwa 1 mm hoch überschichtet (Einwirkungszeit etwa 8 Minuten). Die Pantoffeltierchen sehen danach ganz weiß aus. Die Silbernitratlösung wird mit destilliertem Wasser abgespült.

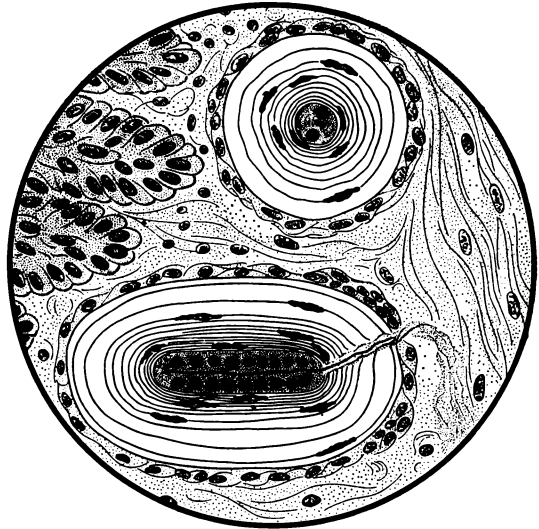
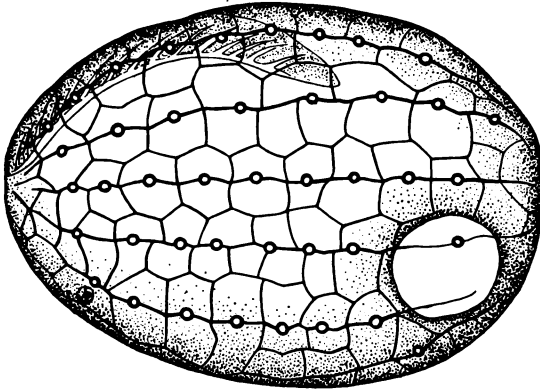


Abb. 179/1 Hausente (*Anas domestica*); Herbstsche Lamellen-Tastkörperchen aus der Wachshaut des Schnabels. Unteres Körperchen im Längs-, oberes im Querschnitt; im Zentralzylinder befinden sich die Sinneszellen



Abb. 180/1 Wimpertierchen *Euplotes charon*; Silberliniensystem



Dann setzt man den mit destilliertem Wasser überschichteten Ausstrich zur Reduktion des niedergeschlagenen Silbers auf einer weißen Unterlage der Sonnenbestrahlung oder dem hellen Tageslicht so lange aus, bis er braunschwarz geworden ist (eine Stunde und länger). Dabei darf der Ausstrich nicht eintrocknen. Bei zu kurzer Belichtung wird das Silber nicht vollständig reduziert, die Präparate verblassen dann innerhalb weniger Tage. Nach beendeter Belichtung wird der Ausstrich mit Leitungswasser kräftig abgespült, bei Zimmertemperatur getrocknet und anschließend in Neutralbalsam eingebettet.

**Darstellung Purkinjescher Nervenzellen.** Um Nervenzellen der Säugetiere mit ihren Fortsätzen zu zeigen, wird ein Versilberungs- oder Vergoldungsverfahren angewendet. Die Silberimprägation nach Golgi ist verhältnismäßig einfach durchzuführen. Sie gelingt allerdings nur an ganz frischen Stücken des Zentralnervensystems (am besten von neugeborenen Katzen) einigermaßen sicher.

Einer frisch getöteten (unbetäubten!) jungen Katze wird das Kleinhirn entnommen und in Stücke von 3 mm bis 5 mm Seitenlänge zerlegt. Selbstverständlich können gleichzeitig auch Teile des Großhirns und des Rückenmarks in getrennten Gefäßen bearbeitet werden. Die zurechtgeschnittenen Gehirnteile kommen möglichst rasch in ein Fixiergemisch von 80 cm<sup>3</sup> 3,5%iger Kaliumbichromatlösung und 20 cm<sup>3</sup> 40%igem Formalin. Dieses Gemisch muß möglichst im Dunkeln 3 bis 6 Tage einwirken. Die günstigste Einwirkungsdauer des Fixiergemisches läßt sich nicht im voraus bestimmen. Darum nimmt man vom dritten Tag an täglich ein Gehirnstückchen aus dem Fixiermittel, trocknet es mit nichtfaserndem Filtrierpapier ab und gibt es dann in eine frisch zubereitete 0,75%ige wäßrige Silbernitratlösung (keine Metallinstrumente verwenden!). Dort überziehen sich die Gehirnstücke bald mit einem rostbraunen Niederschlag. Die Silbernitratlösung trübt sich und muß daher mehrfach gewechselt werden; sie soll 24 Stunden einwirken. Dann werden die Stücke in 50%igem Alkohol (mehrfach wechseln!) ausgewaschen und für mehrere Tage zum Härten in 96%igen Alkohol übertragen. Da die Schnitte dick sein dürfen, damit die Fortsätze der Nervenzellen deutlich erkennbar sind, fällt die sonst bei solchen Objekten übliche Paraffineinbettung weg. Es werden Freihandschnitte zwischen Holundermark oder Handmikrotomschnitte angefertigt. Das Ergebnis der Silberimprägation kann nicht vorausgesagt werden. Schnitte gut imprägnierter Hirnstücke werden in 96%igem Alkohol gründlich ausgewaschen und in Neutralbalsam eingebettet. Längere Einwirkung von Xylol (Lösungs-

mittel des Balsams!) schädigt die Silberniederschläge. Damit die Präparate schnell trocknen, verwendet man sehr kleine Deckgläser, am besten aber gar keine. Auf hellgelblich-rötlichem Grund sind die braunschwarzen bis schwarzen Nervenzellen deutlich zu sehen (s. Farbtafel 3, Abb. d). Blutgefäße färben sich häufig mit. Am Rand des Schnittes auftretende Silberniederschläge stören nicht.

#### Methode 14: Injektionspräparate

Um Gefäße oder Hohlräume in ganzen Tieren oder Organen kenntlich zu machen, spritzt man farbige, erstarrungsfähige Massen in sie ein. Zur Injektion der Gefäße der Bauchhaut eines Frosches dient zum Beispiel Karmingelatine, ein häufig benutzter Injektionsstoff (verflüssigen im Wasserbad). Ein frisch getöteter Frosch wird durch einen Schnitt (rechts der Medianlinie) unter physiologischer Kochsalzlösung geöffnet. In die Hautarterie (Arteria cutanea) wird eine mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllte Glasspritze eingeführt (schwierig, da beim toten Tier blutleer) und deren Kanüle in dem Gefäß festgebunden. Dabei darf die Spritze keine Luft mehr enthalten. Um das Blut aus den Gefäßen spülen zu können, wird durch Öffnen der großen Hautvene (Vena cutanea magna) eine Austrittsmöglichkeit geschaffen. Die Gefäße werden langsam mit mäßigem Druck ausgespült. Tritt aus der geöffneten Vene farblose Flüssigkeit aus, so kann das Einspritzen der warmen Injektionsmasse beginnen. Langsames, gleichmäßiges Füllen garantiert die besten Ergebnisse. Das Austreten der Injektionsmasse aus der Vene läßt sich oft nicht beobachten, da sie leicht schon vorher erstarrt. Das Tier oder Organ muß deshalb in erwärmter physiologischer Kochsalzlösung präpariert werden. Nach beendeter Injektion trennt man möglichst dünne Hautstücke heraus und kühlt sie 12 bis 24 Stunden, am besten mit Eis. Erst dann kommen sie zur Fixierung auf 24 bis 48 Stunden in 25%iges bis 30%iges Formalin (Fix. 2). Die Weiterbehandlung erfolgt nach Methode 6. Gelungene Injektionen zeigen auch feinste Haargefäße sehr deutlich (s. Farbtafel 1, Abb. c).

#### Methode 15: Dünnschliffe

Mit der Dünnschliffmethode werden feine Schliffe von Objekten hergestellt, die zum Schneiden zu hart sind und deren Hartteile nicht beseitigt werden sollen oder können. Der Biologe kann so Erkenntnisse über den Bau von Hartgebilden aus Zoologie und Botanik sowie Aufschlüsse über den inneren Aufbau von Versteinerungen gewinnen.

Als Beispiel wird die Herstellung eines Knochenquerschliffs geschildert. Dazu eignen sich am besten alte Knochen, deren organische Bestandteile durch langes Liegen im Freien zerstört worden sind. Mit der Laubsäge werden von Röhrenknochen möglichst dünne Querschnitte hergestellt. Zunächst wird das Objekt auf einer Seite geschliffen. Als Schleifunterlage eignet sich eine gußeiserne Ofenplatte oder eine dicke Glasscheibe; als Schleifmittel dient Karborund in zunächst grober, dann immer feinerer Körnung. Zuletzt bekommt der Schliff durch kreisförmiges Schleifen auf feinstem Schmirgel, eventuell noch durch Polieren mit Englischrot (Polierrot, Eisenoxid) auf einem weichen Leder (Wildleder), die letzte Glättung. Man kann auch auf einem guten Sandstein schleifen. Dabei erübrigt sich jedes andere Schleifmittel.

Die quer geschliffene Fläche muß völlig plan liegen. Bei jedem Wechsel des Schleif-



Abb. 182/1 Knochenschliff im polarisierten Licht (40 : 1/140 : 1)

mittels spült man den Schliff gründlich ab, damit nicht durch zurückbleibende grobe Körnchen die immer glatter werdende Oberfläche wieder zerkratzt wird. Das einseitig fertig geschliffene Knochenstück wird nun nach sorgfältigem Abwaschen und Trocknen mit der geschliffenen Seite durch erhitztes Kolophonium auf einen Objektträger gekittet. Nach völligem Erstarren wird nun die noch raue Seite des aufgekitteten Knochenstücks geschliffen, bis es durchsichtig wird und Newtonsche Farbringe auftreten. Nach dem Polieren (nicht unbedingt notwendig) wird der Schliff sorgfältig abgewaschen. Wenn er gut getrocknet ist, wird der Objektträger in ein Gläschen mit Xylol gestellt. Der Schliff löst sich bald vom Träger und sinkt zu Boden. Er muß dann wieder an der Luft trocknen, damit sich die Knochenhöhlen, in denen die Knochenzellen gelegen haben, sowie die Haversschen Kanäle mit Luft füllen. Die Luft wird mit in das Präparat eingeschlossen, damit ein kontrastreiches Bild entsteht. Dazu taucht man den Schliff in etwas mit Azeton verdünntes Kohäsan und läßt frei an der Luft trocknen. Der trockene Schliff wird in einen Tropfen Balsam eingelegt und mit einem Deckglas abgedeckt. Das Präparat zeigt, besonders im polarisierten Licht, die konzentrisch angeordneten Lamellensysteme. Die Knochenhöhlen und -kanäle treten auf Grund der Luftfüllung scharf umrissen hervor (s. Abb. 182/1).

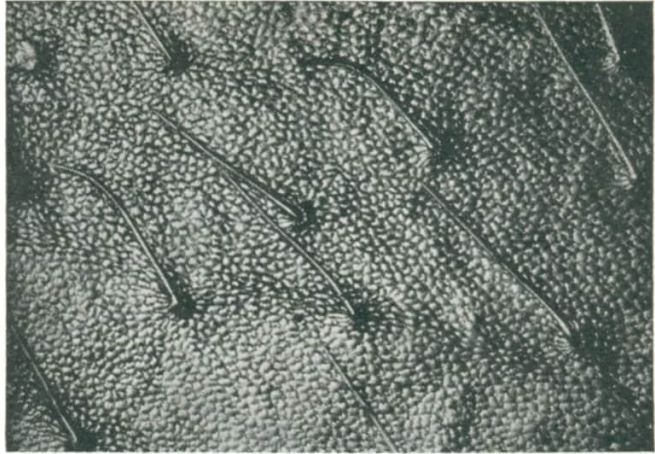
Ganz ähnlich werden Dünnschliffe von Foraminiferenkalk, Nummulitenkalk und ähnlichen Petrefakten, auch von Muschelschalen (s. Abb. 49/2) hergestellt.

## Methode 16: Oberflächenabdruck-Verfahren

Abdruckmethoden sind in der Mikroskopie seit langer Zeit bekannt. Abdruckpräparate sind leicht herzustellen, zeigen große Flächen völlig formtreu im Negativbild und ermöglichen es, Oberflächen zu prüfen, ohne die entsprechenden Objekte zerstören zu müssen. Abdrücke von Pflanzenteilen lassen sich auch in der freien Natur herstellen.

Die Durchführung der Abdruck-Technik ist leicht zu erlernen. Als Bettungsmittel wird einer der farblosen handelsüblichen Zellulose-Klebstoffe wie Mökol oder Duosan-Rapid verwendet. Zur Herstellung eines Abdrucks wird Klebstoff aus der Tube auf

Abb. 183/1 Rot-Klee (*Trifolium pratense*), Epidermis der Blattunterseite im Oberflächenabdruckverfahren; schiefe Beleuchtung (11: 1/25: 1)



einen gesäuberten Objektträger – etwas außerhalb der Mitte – gedrückt und der Klebstofftropfen rasch mit einem zweiten Objektträger möglichst flach und gleichmäßig ausstrichen. Die Schichthöhe des Ausstrichs spielt eine entscheidende Rolle: zu dünne Ausstriche trocknen zu schnell bis in die Tiefe durch und nehmen dann keine

Abb. 183/2 Ölweide (*Elaeagnus* sp.), Sternhaare der Blattunterseite im Oberflächenabdruckverfahren; links normales, rechts mit schwarzer Tusche kontrastiertes Präparat



Abdrücke mehr auf; zu dicke Ausstriche trocknen zu langsam und zu ungleichmäßig.

Auf dem Ausstrich bildet sich durch Verdunsten des Lösungsmittels eine Haut, während tiefer gelegene Schichten noch plastisch sind. Durch Betasten mit dem Zeigefinger (seitlich!) versucht man, den richtigen Zeitpunkt zu erfassen. Das ist eine Sache der Erfahrung und Übung. Nach dem richtigen Auftrocknen des Ausstrichs legt man das abzudrückende Objekt glatt auf den Ausstrich und drückt es gleichmäßig in die Schicht. Nach dem Andrücken wird das Objekt schnell von der Schicht gezogen – so, wie man ein Pflaster abreißt. Beim Abziehen zeigt sich, ob der Ausstrich die richtige Dicke hatte und ob der richtige Moment zum Abdruck gewählt wurde. Bei zu starker Auftrocknung ist das Material zu hart, um noch Abdrücke aufzunehmen. Bei zu großer Schichthöhe bzw. nicht genügender Auftrocknung bleibt die Abdruckmasse am Objekt kleben, reißt von unten her auf und zeigt dann verlaufende Konturen.

Gelungene Abdrücke werden mit schwachen bis mittleren Vergrößerungen untersucht (s. Abb. 183/1). Zur Erhöhung der Kontraste (Licht- und Schattenwirkung) wird mit schiefer Beleuchtung, Reliefbeleuchtung oder im Dunkelfeld untersucht. Bei Objektiven bis zu 10facher Eigenvergrößerung kann ohne Deckglas gearbeitet werden, bei stärker vergrößernden Objektiven wird das Deckglas nur auf den Abdruck gelegt (Einschluß gelungener Abdrücke nach Methode 1).

Zur weiteren Kontraststeigerung kann das Abdruck-Relief mit schwarzer Tusche überzogen werden. Ein entsprechend großer Tropfen Perltusche wird neben den völlig durchgetrockneten Abdruck gesetzt, und mit einer flach aufgelegten Präpariernadel langsam über den Abdruck gezogen. Die Tuschemenge soll so bemessen sein, daß sich die Vertiefungen des Abdrucks mit Tusche füllen, die Erhöhungen aber frei bleiben. Es ergeben sich bei gelungener Kontrastierung sehr brauchbare Bilder (s. Abb. 183/2).

# Spezielle Anweisungen zur Herstellung zoologischer Präparate

## Tierische Zellen

Den Aufbau tierischer Zellen kann man an isolierten Plattenepithelzellen des Mundes (s. S. 161) oder an isolierten Leberzellen eines frisch getöteten Amphibiums zeigen. Die Leber wird herausgenommen, ein Stück abgeschnitten und mit der Schnittfläche unter mäßigem Druck über einen Objektträger gestrichen. Man kann auch die Schnittfläche leicht abschaben und die abgeschabte Substanz auf einem Objektträger ausstreichen. Weiter wird nach Methode 8 (s. S. 157) gearbeitet. Auch Leberschnitte von Amphibien zeigen den Bau der Zellen sehr gut.

Der Zellkern kann erst nach Fixierung und Färbung genauer studiert werden. Mit Hilfe der Phasenkontrastmikroskopie lassen sich allerdings auch an lebenden Kernen die Strukturen mit etwa gleicher Deutlichkeit, aber weitaus größerer Objektivität sichtbar machen.

Zellkerne sind meist rundlich bis oval, können aber auch stabartig, langgestreckt (Muskeln) oder unregelmäßig geformt sein. Der ruhende, nicht in Teilung befindliche Kern ist stets von einer Kernmembran umgeben, die man ab 400facher Vergrößerung sieht, wenn auf den optischen Querschnitt eines Kerns eingestellt wird (Randzone scharf, Mittelebene verschwommen). Den Innenraum füllt eine homogene Flüssigkeit aus (Kernsaft). Der Kernraum wird von einem Gerüst einer kaum färbaren Substanz, dem Achromatin oder Linin, durchzogen. Diesem Gerüst ist das stark färbare Chromatin an- und eingelagert. Aus diesen beiden Elementen bilden sich im Teilungskern die Chromosomen (Kernschleifen).

In vielen Zellkernen liegen ein oder mehrere gut färbare Kernkörperchen (Nukleolen), die auch in lebenden Zellen als stark lichtbrechende Körper erkennbar sind. Vor allem Nerven- und Drüsenzellen (s. Abb. 185/1), aber auch Eizellen (s. Farbtafel 3, Abb. c) haben große Nukleolen. Bei Einzellern heißen die oft zentral im Kern gelegenen Nukleolen Karyosome oder Binnenkörper.

Der Eierstock der Flußmuschel (*Unio*) wird in Zenker (Fix. 13) oder Carnoy (Fix. 10) fixiert und mit Hämalaun-Eosin (Färb. 29) gefärbt. Für die Demonstration der Nukleolen werden entsprechende Gewebeschnitte ausgesetzt.

Bei vielzelligen Organismen stimmt der Bau der Kerne weitgehend überein.

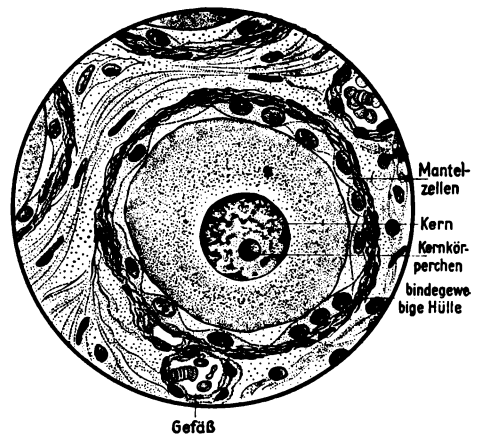


Abb. 185/1 Ganglienzelle aus dem Spinalganglion des Menschen

Während der Zellteilung spielt bei vielen Einzellern und höheren Vielzellern das Zentrosom (Zytozentrum, Zentralkörperchen) eine besondere Rolle (in den Zellen höherer Pflanzen bisher nicht nachgewiesen). Es liegt oft in einem Hof helleren Plasmas, meist dicht am Kern. Zentrosomen lassen sich besonders gut an Teilungsfiguren des Eies von *Parascaris equorum* (Pferdespulwurm, s. S. 230f.) demonstrieren. Sie kommen jedoch auch in ruhenden Zellen, wie zum Beispiel Muskel-, Drüsen- und Epithelzellen, vor. Man stellt entsprechende Schnitte, vor allem Schnitte durch die Randzone der Leber von Molchen, her und färbt sie mit Eisenhämatoxylin (Färb. 20).

Die Zellteilung beginnt mit der Kernteilung, darauf folgt fast immer die Teilung des Zelleibes, bei der aus einer Mutterzelle zwei Tochterzellen entstehen. Treten bei dieser Teilung Chromosomen in artspezifischer Zahl auf, die zu gleichen Teilen auf die Tochterkerne verteilt werden, so spricht man von einer indirekten oder mitotischen Kernteilung (Mitose). Treten keine Chromosomen auf, sondern werden Kern und Plasma durch einfache Durchschnürung in zwei Hälften geteilt, so handelt es sich um die seltener auftretende direkte oder amitotische Kernteilung (Amitose).

Die Großkerne der Ziliaten teilen sich regelmäßig nur amitotisch (s. Abb. 132/1), die Kleinkerne teilen sich mitotisch. Bei Vielzellern kommen Amitosen vor allem in voll ausgebildeten Geweben bzw. bei Zellen vor, die auf dem Höhepunkt ihrer Funktionsperiode stehen. Bei Geweben mit kurzfristiger, hoher Arbeitsbelastung, denen später kaum noch größere Bedeutung zukommt, treten Amitosen gehäuft auf. In embryonalen Zellen dagegen sind Amitosen selten.

Amitosen kann man auf Schnitten durch die Wand der Gebärmutter (Uterus) eines trächtigen Tieres zeigen. Während der Trächtigkeit wird der Raum der Gebärmutter stark und schnell erweitert, wobei amitotische Teilungen auftreten. Nach der Geburt werden diese Gewebe weitgehend reduziert bzw. wieder abgebaut.

Man fixiert den Uterus einer Maus, einer Katze oder eines Kaninchens in Susa (Fix. 14) und behandelt ihn mit Hämalun-Eosin oder Eisenhämatoxylin (Färb. 29, 20) weiter.

Amitosen findet man mit Sicherheit im Harnblasenepithel der Maus. Die Harnblase wird frisch herauspräpariert, gespalten und mit der Schleimhautseite schnell mit sanftem Druck auf ein Deckglas gelegt und vorsichtig wieder abgehoben (Abklatschpräparat). Das noch feuchte Deckglas wird mit der Schichtseite auf Zenker, Susa oder Formalin (Fix. 13, 14, 2) gelegt und so fixiert. Nach Methode 8 wird mit Eisenhämatoxylin oder Kernschwarzfärbung (Gegenfärbung mit Orange G, Färb. 12) weiterverarbeitet.

Eierstock und Nierenschläuche des Wasserskorpions (*Nepa rubra*, s. S. 258) mit Bouins oder Nawaschins Gemisch (Fix. 11 oder 15) sowie mit Eisenhämatoxylin oder Kernschwarz (Färb. 20 oder 16) behandelt, sind ebenfalls gut geeignet. Sie zeigen sehr deutlich die direkte Zellteilung.

Mitosephasen werden am leichtesten an isolierten Geweben von Molchlarven demonstriert (Präparation s. S. 164 u. Abb. 165/1). Schnitte durch Hoden von Molchen und Salamandern (Frühjahr), Flußkrebse (s. Abb. 187/1) sowie durch die Zwitterdrüsen von Weinbergschnecken (*Helix pomatia*, s. S. 264) zeigen oft hervorragende Bilder von Kernteilungen. Mit die geeignetsten Objekte für die Veranschaulichung der mitotischen Kernteilung sind Entwicklungsstadien der Eier vom Pferdespulwurm (*Parascaris equorum*), da in deren Teilungsfigur nur 4 Chromosomen vorhanden sind. Die Präparation ist auf Seite 230f. beschrieben.

Neben Gerüstkernen (retikulärer Typ) gibt es noch einige weitere Kerntypen. Bei

den Chromosomenzentrenkernen bleiben die Chromosomen bzw. bestimmte Abschnitte von ihnen im Kernraum erhalten. Dieser Kerntyp tritt in den Geweben verschiedener Insekten, sehr deutlich bei einigen Wanzen (*Heteroptera*), auf. Einen dritten Typ bilden die Schleifenkerne einiger Zweiflügler (*Diptera*, s. S. 251). Sie enthalten Riesenchromosomen, die in gestrecktem Zustand auch während der Ruhephase vorhanden sind (z. B. Speicheldrüsen, s. Abb. 252/1). Verästelte Zellkerne (feste oder dichte Kerne) findet man in Drüsen mit starker Sekretion (z. B. Spinndrüsen von Insekten). Schnitte durch die Spinndrüsen der Seidenraupen (*Bombyx mori*) oder Quetschpräparate dieser Organe zeigen die verästelten Kerne; sie werden mit Alkohol-Formalin oder Bouin fixiert und mit Kernschwarz oder Eisenhämatoxylin gefärbt (Fix. 9 oder 11, Färb. 16 oder 20).

Die **Protoplasmabewegung** der tierischen Zelle zeigt man am besten in den Scheinfüßchen lebender Amöben (s. S. 192) oder an lebenden weißen Blutkörperchen von Amphibien. Amöben werden in Wasser, Blutkörperchen im Blutaussstrich untersucht. Flimmerbewegungen bzw. **Flimmerzellen** werden im Frischpräparat an der Gaumenschleimhaut des Frosches (*Rana*, s. S. 210) oder an Randstücken aus den Kiemen von Teichmuscheln (*Anodonta*, s. S. 263) demonstriert. Schnittpräparate der Luftröhre von Maus oder Katze, der Nebenhoden von Kaninchen, der Speiseröhre von Fröschen sowie vom Fuß einer Flußmuschel zeigen bei Zenkerfixierung (Fix. 13) und Färbung mit Eisenhämatoxylin oder Hämalaun-Eosin (Färb. 20, 29) sehr klar Flimmerzellen

Abb. 187/1 Edelkrebs (*Astacus astacus*), Hoden mit mitotischen Teilungen (Metaphase; Äquatorialplatte; 140 : 1/365 : 4)



Abb. 187/2 Teichmolch (*Triturus vulgaris*), Bauchhaut mit Pigmentzellen (ungefärbt)





Lebende Flimmerzellen in Tätigkeit werden auf folgende Weise untersucht: Die Nephridien eines in 10%igem Alkohöl betäubten Regenwurms werden herauspräpariert und bei etwa 400facher Vergrößerung ungefärbt betrachtet. Man kann dazu ein ganzes Dissepiment herausnehmen und untersuchen. Geißelzellen werden an lebenden Flagellaten oder an Spermien der Wirbeltiere demonstriert (s. S. 190, 272).

Die Granula des Protoplasmas sieht man gut in Frisch- und Dauerpräparaten an den grobgranulierten Blutkörperchen der Wirbeltiere sowie auf Schnitten durch die Bauchspeicheldrüse (Pankreas) von Säugern. Amphibienlarven werden etwa 15 Minuten in Neutralrotlösung gehalten und dann getötet. Die Epidermis wird abgezogen und im Frischpräparat untersucht; die Granula erscheinen leuchtend rot.

Nebenkerne erkennt man am besten in Schnitten durch die Bauchspeicheldrüse vom Molch (*Triturus*) und Axolotl (*Siredon mexicanum*). Auch *Rana* eignet sich. Nebenkerne sind dem Kern dicht angelagert und haben meist sichelförmige Gestalt. Sie treten auch in Eizellen von Spinnen auf.

Riesenzellen (*Megakaryozyten*) liegen in der Milz und im roten Knochenmark. Sie kommen nur bei Säugetieren vor und gelten als Bildungsstätten der Blutplättchen. In Knochenmarkausstrichen fallen die Riesenzellen neben den Blutbildungszellen besonders auf. Sie werden bis zu 40  $\mu\text{m}$  groß; die Gestalt des Zellkerns ist sehr unterschiedlich.

Frische Rippenknochen eines jungen Schlachttieres werden in der Mitte getrennt, das Mark wird herausgepreßt (Schraubstock, Zange) und auf Deckgläsern dünn ausgestrichen. Unter Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung wird frisch untersucht, wobei Eosinlösung durchgesaugt wird. Dauerpräparate werden wie Blutausrichte behandelt (Meth. 8). Schwache Knochen werden vorsichtig längs gespalten; das Mark wird unverletzt herausgenommen und in Zenker (Fix. 13) fixiert. Man stellt Paraffinschnitte her und färbt mit Hämalaun-Eosin oder Azan (Färb. 29 oder 30).

Pigmente und Pigmentzellen von Amphibienlarven und jungen Knochenfischen werden am lebenden Objekt (Kiemen, Schwanzregion) untersucht (s. Abb. 187/2). Die Herstellung von Dauerpräparaten ist auf Seite 154f. beschrieben.

Schuppen von Knochenfischen werden in absolutem Alkohol entwässert und in Glyzeringelatine eingeschlossen. Um Präparate von Pigmentepithel herzustellen, legt man die hintere Augapfelhälfte (ohne Glaskörper) eines frisch seziierten Rinderauges (oder das Auge anderer großer Säuger) für einen Tag in Müllersche Flüssigkeit (25 g Kaliumbichromat, 10 g Natriumsulfat, 1000  $\text{cm}^3$  Aqua destillata. Haltbar!). Dunkel halten! Dann wäscht man in Wasser aus und zieht die Netzhaut mit der Pinzette ab. Die Bröckchen des Pigmentepithels werden mit der Pipette in ein kleines Spitzglas übertragen, entwässert (Absetzmethode), in Nelkenöl etwas aufgehellt, in Xylol übertragen und in Balsam eingebettet.

Nach der Entfernung des Pigmentepithels bleibt eine lockere, schwärzlichbraune Schicht (Aderhaut) fest an der weißen Augenhaut haften. Mit der Pinzette herausgerissene, in einem Tropfen Glycerin zerzupfte Stücke enthalten Bindegewebspigmentzellen. Sie werden in Glyzeringelatine eingeschlossen. Schleim ist in Becherzellen gut zu sehen. Man findet sie in Schnitten durch Dünn- und Dickdarm von Amphibien, Reptilien, Vögeln und Säugetieren (s. Abb. 80/1). Die Schnitte werden in Susa oder Carnoy (Fix. 14, 10) fixiert und mit Azan oder Safranin (Färb. 30, 10) gefärbt.

Fett läßt sich gut in Zufpräparaten von Fettkörpern der Amphibien zeigen. Man untersucht in physiologischer Kochsalzlösung. Das Fett fällt durch seinen Glanz und das starke Lichtbrechungsvermögen sowie durch seine Widerstandsfähigkeit gegen

Essigsäure und Kalilauge (durchsaugen!) auf. Alkohol zieht Fette aus. Dünne, leicht gequetschte Handschnitte tiefgekühlten Fettes von Schlachttieren untersuchen! Mehrmals absoluten Alkohol und Benzol (mit Sudan III) durchsaugen! Leere Fettzellen zeichnen! Das Plasma ist wandständig. Fetttröpfchen lassen sich gut in frischer, roher Milch zeigen. Schiefe Beleuchtung!

Horn (Keratin) läßt sich in Schnitten durch die Haut des Fußes demonstrieren (am besten Pfote eines älteren Embryos von Hund oder Katze). Es wird durch Pikrinsäure leuchtendgelb, durch Safranin rot gefärbt.

Kalk ist beispielsweise enthalten in Knochen, verkalkten Arterien und Knorpelgeweben. Man untersucht im polarisierten Licht, Kalk wirkt doppelbrechend (Doppelbrechung auch an Fischschuppen untersuchen!).

Kieselsäure kommt in den Skeletten der Radiolarien (s. S. 196) und in Schwammnadeln vor.

Chitin kann in seiner natürlichen Lagerung an Querschnitten durch Tausendfüßer (*Myriopoda*, s. S. 240) und an Chitinteilen, die in Kalilauge mazeriert wurden, gezeigt werden (s. S. 149). Damit Chitin besser geschnitten werden kann, kommen die entsprechenden Teile in eine Erweichungsflüssigkeit aus 2 Teilen 80%igem Alkohol, 1 Teil Glycerin und 3 Teilen 25%iger Salzsäure. Auch Diaphanol kann verwendet werden.

Zwischensubstanzen (Interzellulärsubstanzen) werden von vielen Zellen ausgeschieden. Sie bedingen die besonderen Eigenschaften eines Gewebes. Beim Bindegewebe und Stützgewebe beispielsweise treten die Zellen fast immer außerordentlich stark gegenüber der von ihnen ausgeschiedenen Grundsubstanz zurück (Präparation siehe bei Bindegewebe, Knorpel- und Knochengewebe, S. 212 ff.).

Zellplasma und Zellkern enthalten spezifische Eiweißkörper. Chemisch und damit auch bezüglich der Färbbarkeit besteht ein wesentlicher Unterschied zwischen Zellplasma und Kernplasma. Der Kern kann durch basische Farbstoffe gefärbt werden, er ist basophil. (Die entsprechenden Farblösungen, beispielsweise Hämalaun, Hämatoxylin, Kernschwarz, Kernechtrot, Karmin und Gentianaviolett, heißen allerdings nicht basisch, weil sie basisch reagieren und rotes Lackmuspapier bläuen, sondern weil sie aus Farbbasen gewonnen werden.) Aus dem Plasma ziehen diese Stoffe beim Auswaschen leicht wieder aus. Das Plasma kann sehr gut mit sauren Farbstoffen angefärbt werden; es ist azidophil. Auf die unterschiedliche Färbbarkeit von Kern und Plasma sind die Möglichkeiten zu Kern-, Plasma-, Gegen-, Doppel- und Mehrfachfärbungen zurückzuführen (s. S. 118 ff.).

## Einzeller

### *Urtierchen (Protozoa)*

Im Unterricht wird bei der Untersuchung der Protozoen weniger Wert darauf gelegt, feine Einzelheiten der Kerne und spezielle Organisationsmerkmale darzustellen, als vielmehr darauf, ihre physiologischen Besonderheiten zu zeigen. Diese können aber nur im Frischpräparat zufriedenstellend demonstriert werden. Dauerpräparate eignen sich meist nicht und sollten nur im Ausnahmefall benutzt werden.

## Geißeltierchen (Flagellata)

Für die Zooflagellaten ist charakteristisch, daß sie eine oder mehrere Geißeln als Bewegungsorganellen besitzen. Die frei lebenden Zooflagellaten gehören vielfach zum Zwergplankton, sind aber beispielsweise auch regelmäßig in der Kahnhaut von Heu- und sonstigen Aufgüssen zu finden. Sie können sich schnell bewegen und sind sehr klein (5  $\mu\text{m}$  bis 100  $\mu\text{m}$ ), so daß die genaue mikroskopische Untersuchung schwierig ist. (Lebendfärbung, Zusatz von Quittenschleim, Dunkelfeld, optische Kontrastfärbung.) Die Geißeln treten nach Zusatz von Jod-Kaliumjodid-Lösung deutlich hervor. Die Anfertigung von Dauerpräparaten lohnt kaum.

Viele Zooflagellaten sind Parasiten. Sie leben in Körperhöhlräumen und -säften sowie im Inneren von Zellen, und viele von ihnen wechseln während ihres Lebens ihren Wirt. Die meisten der nicht frei lebenden Flagellaten sind jedoch harmlose Kommensalen, die meist eingekapselt mit der Nahrung aufgenommen werden, im Verdauungstrakt des Wirts schlüpfen und den Darm als Zysten mit dem Kot wieder verlassen. Bei vielen Arten tritt ein durch den Wechsel der Umwelt bedingter Formwechsel auf.

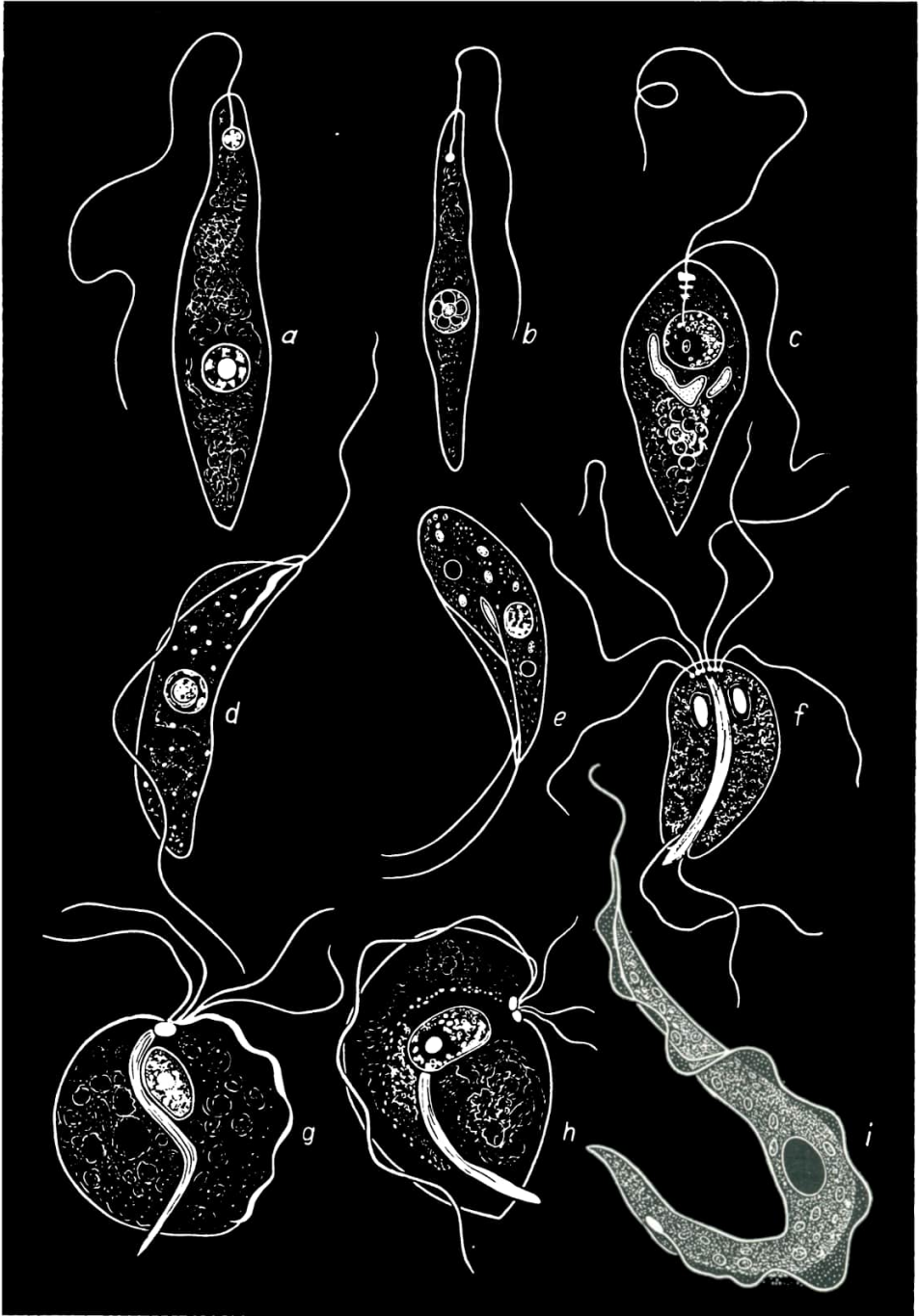
Unter den parasitisch oder als Kommensalen lebenden Formen gibt es Darmflagellaten und Blutflagellaten (s. Abb. 191/1). Alle auf Seite 191 abgebildeten Arten sind relativ leicht zu beschaffen. Im Frischpräparat, besonders bei Dunkelfeldbeleuchtung oder optischer Kontrastfarbenbeleuchtung, fallen sie durch ihre lebhaften Bewegungen schnell auf. Die Geißeln werden durch Zusatz von Jod-Kaliumjodid-Lösung dargestellt (Zeichnen!). Wichtige Organisationsmerkmale wie Basalkörper und Kerne sind im Dauerpräparat besser zu sehen.

Zooflagellaten können nach der Methode der feuchten Ausstriche bearbeitet werden. Zur Fixierung eignen sich Formalin, Schaudinns und Bouins Gemisch (Fix. 2, 12, 11). Die Eisenhämatoxylinfärbung bringt die besten Ergebnisse, aber auch Boraxkarmin, Alizarinviridin und Hämalan sind geeignet (Färb. 20, 8, 9, 6). Bei schneller Trocknung mit dem Fön kann auch Opalblaufärbung (Färb. 15) gute Präparate ergeben. Sollen zu diagnostischen Zwecken sehr rasch Dauerpräparate ohne Rücksicht auf Formveränderungen hergestellt werden, so können auch trockene Ausstriche nach der Methode von Giemsa (s. S. 160) angefertigt werden.

Aus der großen Zahl der Blutflagellaten soll lediglich *Trypanosoma lewisi* erwähnt werden. Diese Trypanosomen leben sehr häufig im Blut von Wanderratten. Als Zwischenwirte dienen Rattenläuse und -flöhe. Zur Lebenduntersuchung nimmt man das Blut aus der Schwanzspitze, streicht es dünn aus und umrandet das Deckglas sofort mit Vaseline, damit der Ausstrich nicht austrocknet. Die etwa 10  $\mu\text{m}$  bis 20  $\mu\text{m}$  großen, sichelförmigen Trypanosomen fallen bei etwa 400facher Vergrößerung sofort durch ihre schlängelnden Bewegungen auf (s. Abb. 191/1). Die Herstellung von Dauerpräparaten lohnt sich, weil die Blutflagellaten wohl als einzige Protozoen den trockenen Ausstrich ohne Schädigung vertragen. Man färbt mit Giemsa (Färb. 21) wie bei Blutpräparaten (s. Abb. 80/3). Beim Umgang mit lebenden Ratten muß man sehr vorsichtig sein, da diese Tiere Krankheitsüberträger sind. Für schulische Arbeiten eignen sich

### Abb. 191/1 Zooflagellaten

a *Herpetomonas muscae domestica* (30  $\mu\text{m}$ ), b *Leptomonas jaculum* (20  $\mu\text{m}$ ); c *Bodo lacertae* (30  $\mu\text{m}$ ), d *Trypanoplasma helicis* (20  $\mu\text{m}$ ), e *Costia necatrix* (20  $\mu\text{m}$ ), f *Octomitus muris* (12  $\mu\text{m}$ ); g *Trichomonas tenax* (20  $\mu\text{m}$ ), h *Trichomonas muris* (20  $\mu\text{m}$ ), i *Trypanosoma lewisi* (30  $\mu\text{m}$ )



entsprechend infizierte weiße Mäuse. Bei ihnen besteht keine allgemeine Infektionsgefahr. Meistens sterben sie spätestens am 4. Tag nach der Infektion. Dauerpräparate sollen am 1., 2., 3. und 4. Tag angefertigt werden. Solche Vergleichspräparate veranschaulichen die sehr starke Vermehrung der Parasiten (Längsteilungen und multiple Teilungen suchen!). *T. lewisi* zeigt im Prinzip die gleichen Verhältnisse wie *T. gambiense* und *T. rhodesiense*, die Erreger der Schlafkrankheit.

## Wurzelfüßer (Rhizopoda)

Die Wurzelfüßer sind eine Gruppe einzelliger Tiere, an denen Lebensvorgänge, wie Pseudopodienbewegung, Nahrungsaufnahme und eventuell auch Vermehrungsvorgänge, gut unter dem Mikroskop beobachtet werden können (s. Abb. 193/1).

Zur genauen Bestimmung der Amöben müssen vor allem die Scheinfüßchen (am Frischpräparat) sowie der Kernbau und die Teilung (vorwiegend am Dauerpräparat) beobachtet werden.

Für den Schulunterricht sind große Süßwasseramöben (*Amoeba proteus*) am besten geeignet. Sie leben im Bodenschlamm von Tümpeln und Teichen und ernähren sich von Bakterien, Algen, kleineren Amöben und Ziliaten (s. Abb. 193/1). Relativ oft tritt diese Amöbenart in den Überzügen faulender Schilfstengel und sonstiger submerser Pflanzenteile auf, besonders häufig lebt sie an der Unterseite von Seerosenblättern. *A. proteus* ist 200  $\mu\text{m}$  bis 500  $\mu\text{m}$  groß und somit „ein Riese“ unter den Einzellern. Sie ist schon mit bloßem Auge als winziges weißes Pünktchen zu erkennen und kann schon mit einfachen Mikroprojektionsgeräten projiziert werden (s. S. 98).

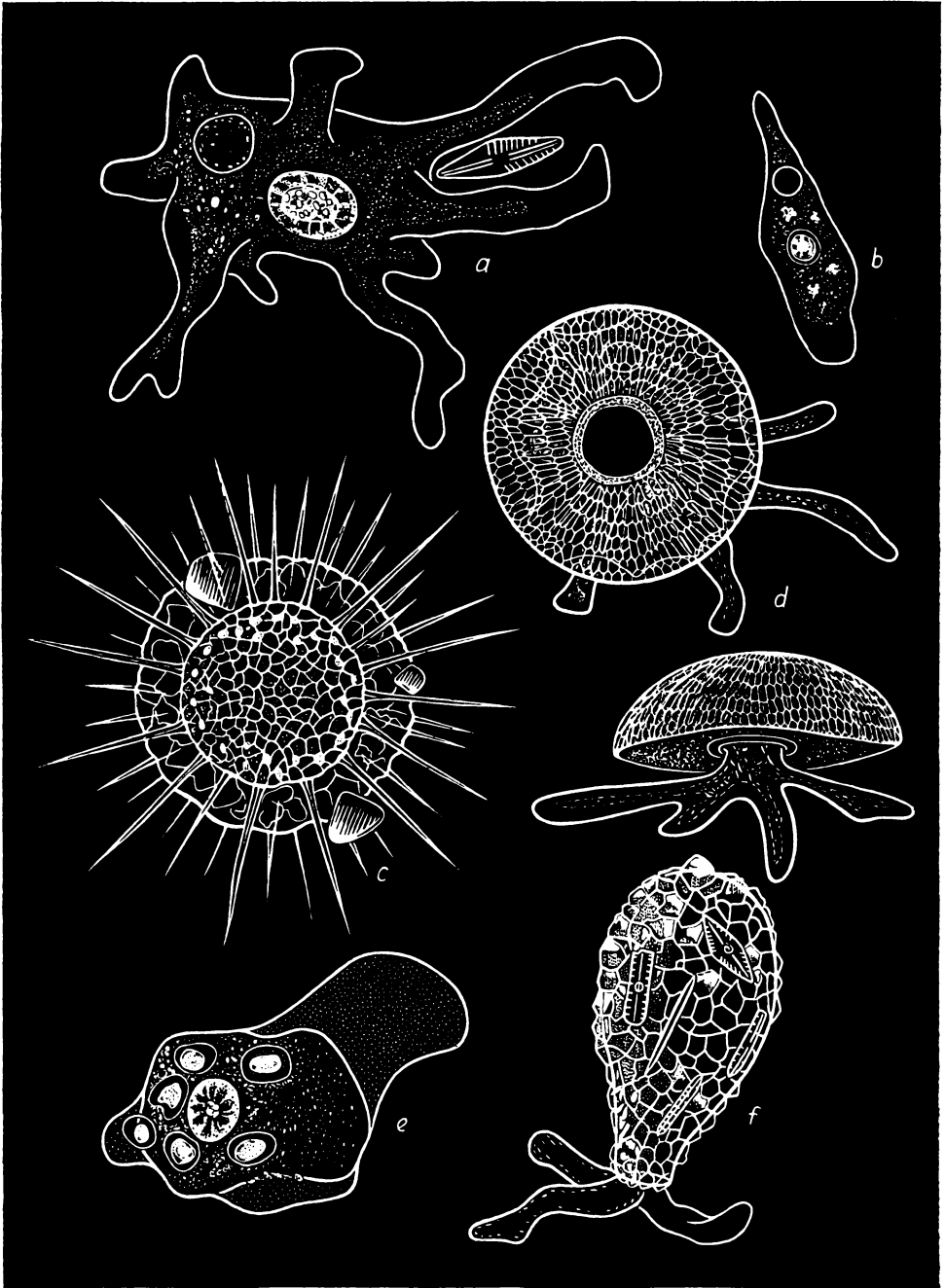
Bei Untersuchungen im Hellfeld wird möglichst stark abgeblendet; Lebendfärbung mit Neutralrot oder Methylenblau bringt die notwendigen Kontraste. Bei Dunkelfeldbeleuchtung tritt die fließende Bewegung des Plasmas besonders deutlich hervor. Lappige, am Ende abgerundete Scheinfüßchen werden ausgestreckt und wieder eingezogen. Dadurch ändert sich dauernd die Form der Amöbe. Bei stärkster Vergrößerung kann man sehen, wie in den Scheinfüßchen ständig grobgekörntes, zähflüssiges Entoplasma, das Nahrungsvakuolen und ein kontraktiles Bläschen enthält, in das von Einschlüssen völlig freie, dünnflüssige Ektoplasma übergeht. Am Vorderende des Pseudopodiums zerteilt sich die innere Plasmaströmung und fließt in Randströmen langsam nach rückwärts, wo dann umgekehrt das Ektoplasma in Entoplasma übergeht. Der nach vorn fließende Strom fällt sofort auf, die Randströme sind homogen und deshalb schwerer zu beobachten (Dunkelfeld oder Kontrastfarbenbeleuchtung!).

Der relativ große Zellkern ist am lebenden Tier kaum zu erkennen. Er tritt erst nach Fixierung und Färbung deutlich hervor.

Bodenschlamm aus Tümpeln und langsam fließenden Bächen, natürliche Kahmhäute von Wehren und an Ufern, verschlammte Algenfilze und ungepflegte Aquarien beherbergen weitere große Amöbenformen der „Fluviatilis“- und „Verrucosa“-Gruppe (Größe zwischen 50  $\mu\text{m}$  und 100  $\mu\text{m}$ ). Das eingesammelte Material, besonders Schlamm, läßt man in geeigneten Kleinaquarien einige Zeit sonnengeschützt stehen und untersucht dann die Schlammoberfläche. Auch ausgepreßte Moospolster, besonders Torf-

### Abb. 193/1 Häufige Wurzelfüßer

a *Amoeba proteus*, b *Amoeba limax*, c *Actinosphaerium eichhorni*, d *Arcella* sp. (Aufsicht u. Seitenansicht), e *Entamoeba buccalis*, f *Diffugia* sp.



moospolster und Moos aus Dachrinnen, liefern häufig große Amöbenarten (Lebenduntersuchung, möglichst im Dunkelfeld, in Reliefbeleuchtung oder in Kontrastfarbenbeleuchtung).

Von den parasitischen Amöbenformen sei *Entamoeba buccalis* (*E. gingivalis*) erwähnt. Sie ist bis zu 30  $\mu\text{m}$  groß, lebt in der Mundhöhle des Menschen und tritt besonders gehäuft im Belag kariöser Zähne, aber auch im Zahnschleim auf. An ihren lebhaften Bewegungen lassen sich die Amöben bei mindestens mittlerer Vergrößerung leicht erkennen. Sie umfließen mit ihren plumpen Pseudopodien Bakterien, vor allem aber Leukozyten. Der bläschenförmige Kern tritt im lebenden Tier kaum hervor, pulsierende Vakuolen fehlen (Dunkelfeld!). Treten in einem Frischpräparat viele Amöben auf, so lohnt es sich, nach der Methode des feuchten Ausstrichs (s. S. 161) ein Dauerpräparat herzustellen.

Im Gegensatz zu den nackten Amöben bilden die beschalteten Amöben (Thekamöben, *Testacea*) aus körpereigenen oder körperfremden Stoffen schützende Hüllen um ihren Plasmaleib. Sie besiedeln vor allem Torfmoospolster, Moosansammlungen auf Dächern, Mauern und Dachrinnen, Faulschlamm stehender und langsam fließender Gewässer sowie ufernahe Wasserpflanzen und faulende submerse Pflanzenteile. Auch im Schlamm von Heuaufgüssen treten sie mitunter auf, wenn der Aufguß mit Tümpelwasser unter Zusatz von Kompost angesetzt wurde. Die bis 170  $\mu\text{m}$  großen Uhrgläschen (*Arcella*) bauen aus körpereigener Substanz eine uhrglasförmige, unten flach eingewölbte, gelblichbraune Schale, die bei starker Vergrößerung eine regelmäßige Sechseckförmigkeit zeigt und den Körper der Amöbe fast völlig umschließt. Nur aus einer zentralen Öffnung auf der Unterseite der Schale treten ihre lappigen Scheinfüßchen aus. Im Frischpräparat fängt *Arcella* erst nach einiger Zeit an, sich zu bewegen. Die innere Organisation ist kaum erkennbar, da die Schale fast undurchsichtig ist. Die Sandhäuschen (*Diffugia*; bis 500  $\mu\text{m}$  groß) bauen aus Fremdkörpern (z. B. Sandkörnchen, Diatomeenschalen, Schwammnadeln) glockenförmige Gehäuse, deren einzelne Teile die Amöben mit einer Kittsubstanz fest verbinden. Sie kommen an den gleichen Orten wie die Uhrgläschen vor. Auch sie strecken ihre fingerförmigen Pseudopodien nur aus, wenn sie ungestört sind. Bei Frischpräparaten müssen die Deckgläser mit Füßchen oder untergelegten Deckglassplittern gestützt werden. Das Präparat wird lebend gefärbt und im Dunkelfeld untersucht.

Die Gehäuse der Gattung *Nebela* sind birnförmig, zusammengedrückt, durchscheinend und farblos. Bestimmte Strukturelemente (oft Wabenstruktur, Plättchen) sind gut erkennbar. Da sich fast alle Amöben aktiv an einer Unterlage festsetzen, können sie in den meisten Fällen als Ausstrich präpariert werden.

Besonders gut gelingt das bei den Entamöben, die in eiweißreichen Flüssigkeiten leben. Schlecht haftendes Material, zum Beispiel große Süßwasserarten, werden auf Deckgläsern fixiert, die vorher hauchdünn mit Eiweiß bestrichen wurden. Bei der Fixierung gerinnt das Eiweiß und klebt die auf ihm kriechenden Amöben fest. Läßt man so vorbehandelte Deckgläser einige Stunden (evtl. einen ganzen Tag) auf einer Kahnhaut schwimmen oder legt sie auf die Schlammoberfläche der Kulturgefäße, so setzen sich einige Amöben auf ihnen fest. Konzentrierte Materialproben streicht man vorsichtig auf Deckgläsern aus und wartet mit der Fixierung, bis die Amöben auf dem Gläschen umherkriechen (überschüssige Feuchtigkeit entfernen!). Zur Gewinnung von Darmparasiten werden dünne Kotausstriche hergestellt und sofort fixiert. Darmamöben halten sich vor allem in den Schleimflocken des Darminhalts auf! Zur Fixierung der feuchten Ausstriche nach Methode 8 (s. S. 157) eignen sich Schaudinns und Bouins

Gemisch (Fix. 12, 11). Gute Färbungen ergeben Hämalun (evtl. mit Eosin gegenfärben), Alizarinviridin, Boraxkarmin, Eisenhämatoxylin und Safranin-Lichtgrün (Färb. 6, 9, 8, 20 und 25). Der Einschluß erfolgt in Neutralbalsam.

Während die Amöben fast immer auf einer Unterlage kriechen und nur äußerst selten im Plankton auftreten, leben die Sonnentierchen (*Heliozoa*) meist planktonisch. Sie werden zu Beginn der warmen Jahreszeit vor allem in schattigen, kühlen Waldtümpeln, moorigen Gräben und kleinen, pflanzenreichen Teichen mit klarem Wasser gefangen. Man fängt sie mit dem Planktonnetz oder preßt faulende Blätter aus den genannten Gewässern aus. *Actinosphaerium eichhorni* (bis 1000  $\mu\text{m}$  groß) ist eine der größten Arten und mit dem bloßen Auge ohne weiteres erkennbar. Die Vertreter der anderen Familien und Gattungen erreichen durchschnittlich eine Größe von 50  $\mu\text{m}$  bis 100  $\mu\text{m}$ .

Sonnentierchen können in Aquarienwasser leicht gezüchtet werden. Dazu werden einige von ihnen mit der Pipette in ein flaches Zuchtgefäß übertragen und alle drei Tage mit Heuaufgußflüssigkeit gefüttert, die recht viele Ziliaten (*Paramaecium* oder *Stentor*) enthält. Man gibt zu 100  $\text{cm}^3$  Kulturflüssigkeit 1  $\text{cm}^3$  bis 2  $\text{cm}^3$  Heuaufgußflüssigkeit. Stehen die Kulturgefäße kühl und schattig (Keller), so brauchen die Sonnentierchen erst nach etwa 14 Tagen in eine neue Kulturschale übertragen zu werden. Läßt man die Tiere nach vorhergehender guter Fütterung in der neuen Kulturflüssigkeit eine Weile hungern, so treten Befruchtungsvorgänge ein. Die Lebendbeobachtung im hängenden Tropfen unter einem abgestützten Deckglas oder in der Küvette zeigt eine hellere grobblasige Rindenschicht (Ektoplasma) und eine dunklere Markschiicht (Entoplasma). Die vielen strahlenförmig angeordneten Pseudopodien unterstützen die Schwebefähigkeit und dienen dem Erfassen und Festhalten der Beute sowie deren Transport (Plasmaströmung!) zur Rindenschicht. Die Rindenschicht enthält ein bis zwei pulsierende Vakuolen. In der Markschiicht treten viele Kerne als stark lichtbrechende Körper hervor. Wird dem Lebendpräparat Jod zugesetzt, so erscheinen die Kerne deutlicher. Die Herstellung von Dauerpräparaten lohnt kaum, da die Tiere bei der Fixierung (geeignet sind Schaudinns und Bouins Gemisch; Fix. 12 und 11) regelmäßig die feinen Scheinfüßchen einziehen. Die Kerne allerdings werden nach Färbung mit Boraxkarmin oder Alizarinviridin (Färb. 8, 9) gut sichtbar. Gearbeitet wird nach Methode 9 (s. S. 163). Werden Deckgläser in stark besetzte Kulturen eingelegt, so heften sich oft mehrere Tiere mit den Pseudopodien an ihnen fest. Die Deckgläser werden dann wie feuchte Ausstriche nach Methode 8 (s. S. 157) behandelt.

Kammertierchen (*Foraminifera*) und Strahlentierchen (*Radiolaria*) sind ausschließlich Bewohner der Meere. Die vielkammerigen Foraminiferen bauen ihre Gehäuse meist aus Kalziumkarbonat auf; sie erreichen teilweise Größen von einigen Zentimetern (Nummuliten). Die leeren Schalen abgestorbener Tiere bedecken den Meeresgrund oft in mächtigen Schichten. Foraminiferen vergangener Epochen sind als Kreide, Nummulitenkalk, Grünsandstein, Ton, Mergel usw. abgelagert. Rezente Kammertierchen leben in Meeressand, Schlick, Algenwatten und -rasen, an Molen, Bühnen usw. Auch Planktonfänge können Foraminiferen enthalten. (In Meerwasser untersuchen!) Fixiert wird mit Schaudinns oder Bouins Flüssigkeit (Fix. 12, 11), gefärbt mit Boraxkarmin oder Alizarinviridin (Färb. 8, 9).

Wesentlich leichter lassen sich fossiles Material oder leere Gehäuse rezenter Formen beschaffen. Feiner Seesand wird bei schwacher Vergrößerung durchgemustert, die Schalen werden mit einer angefeuchteten Schweinsborste ausgelesen. Kreide (nicht die gemahlene und wieder gepreßte Schreibkreide!) oder Mergel werden im Mörser zer-



drückt und in Natriumkarbonatlösung übertragen. Im Standzylinder rührt man um, läßt absetzen und gießt die trübe Flüssigkeit ab. Das wird so lange wiederholt, bis das Wasser klar bleibt. Der Bodensatz muß austrocknen und wird dann in Balsam eingeschlossen. Von sehr hartem Material wie Nummulitenkalk müssen Dünnschliffe hergestellt werden.

Die Radiolarien leben fast ausschließlich planktonisch in den Weltmeeren. Frisches Material ist kaum zu beschaffen. Zoologische Stationen und Institute sowie Lehrmittelfirmen stellen aber Radiolarienschlamm zur Verfügung, der nach Methode 9 (s. S. 163) zu Dauerpräparaten verarbeitet werden kann.

Die Radiolarien bilden intrazellulär formschöne Kieselsäureskelette (Skelettbildungen bei Akantharien aus Strontiumsulfat). Fossile Radiolarien und Foraminiferen kommen im Feuerstein vor (Herstellung der Präparate s. S. 144).

### Sporentierchen (Sporozoa)

Die mikroskopische Beobachtung und Untersuchung von Sporozoen erfordert, mit Ausnahme der Gregarinen, viel Übung und großes Können.

Die Gregarinen (*Gregarinida*) sind harmlose Hohlraum- und Gewebeparasiten, die nur in wirbellosen Tieren vorkommen. Ihr Körper ist in drei Abschnitte geteilt: Epimerit, Protomerit und Deutomerit. Der Epimerit dient zum Anheften am Darmepithel. Er fehlt bei nicht festsitzenden Formen. Der Deutomerit enthält den Zellkern, der schon im Frischpräparat als heller Fleck hervortritt (s. Abb. 197/1). Zelmund, After, kontraktile Vakuolen und Nahrungsvakuolen fehlen. Bemerkenswert ist die Fortbewegung – ein ruhiges Vorwärtsgleiten ohne sichtbare Gestaltveränderung. Wird dem Frischpräparat etwas fein zerriebene chinesische Tusche zugesetzt, so zeigt sich, daß die Tiere eine Schleimspur hinterlassen. Häufig verkleben die Tiere miteinander und bilden so ganze Ketten.

Im Darm der „Mehlwürmer“ (Larven des Mehlkäfers *Tenebrio molitor*) treten vor allem *Gregarina polymorpha* und *G. cuneata* auf.

Den Larven (in Zoohandlungen erhältlich) schneidet man die Körperenden ab und zieht mit einer Pinzette den braunen Darm heraus. Er liegt deutlich erkennbar in dem umgebenden weißen Fettgewebe. Der Darm wird aufgeschlitzt und der Inhalt vorsichtig ausgestrichen (Lebendbeobachtung mit Vitalfärbung, möglichst auch im Dunkelfeld!). Im stark gekörnten Entoplasma tritt Paraglykogen als Speicherstoff auf. Durch Zusatz von Jod-Kaliumjodid-Lösung wird das Paraglykogen, das sich wie tierische Stärke (Glykogen) verhält, gelbbraun gefärbt. Dauerpräparate werden als feuchte Deckglasausstriche in Schaudinn oder Bouin (Fix. 12, 11) fixiert und mit Eisenhämatoxylin, Hämalaun oder Boraxkarmin (Färb. 20, 6, 8) gefärbt.

Die Samenblasen der Regenwürmer enthalten von Mai bis Juni mit Sicherheit *Monocystis*-Arten. Die Würmer werden in etwa 10%igem Alkohol betäubt und schnell mit einer scharfen Schere auf der Rückenseite geöffnet. Im 10., 11. und 12. Segment fallen 3 Paar gelblichweiße Samenblasen auf, die sofort herausgenommen und auf dem Objektträger in einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung zerzupft werden. In solchen Frischpräparaten kommen relativ selten freie Gregarinen, aber fast immer in sehr großer Zahl enzystierte Entwicklungsstadien vor, die in dem Gewimmel der sie umgebenden Spermien sofort auffallen. Die Regenwurm-Gregarinen der Gattung *Monocystis* sind nicht in drei Körperabschnitte gegliedert. In den spindelförmigen

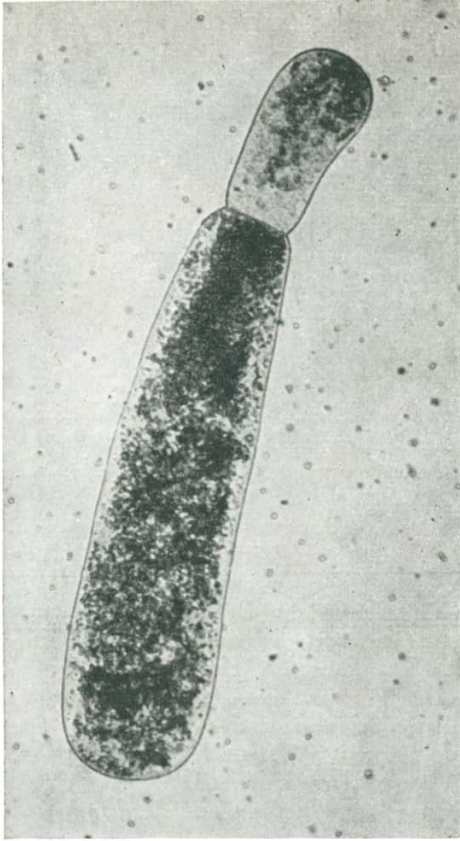


Abb. 197/1 *Gregarina cuneata* aus dem Darm der Larve des Mehlkäfers; Lebendaufnahme (84 : 1/160 : 1)

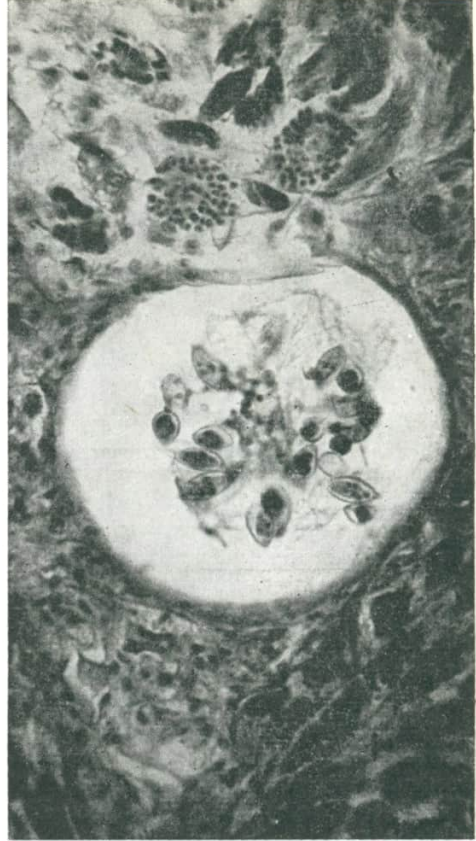


Abb. 197/2 *Monocystis* sp.; Sporozysten in der Samenblase des Regenwurms (120 : 1/320 : 1)

Zysten treten verschiedene Stadien der Gametenbildung, Befruchtung und Sporogonie auf. Die Stadien treten in Dauerpräparaten gut hervor. Zu diesem Zweck werden ohne Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung feuchte Ausstriche angefertigt, in Carnoy (sehr geeignet), Bouin oder Schaudinn (Fix. 10, 11, 12) fixiert und mit Eisenhämatoxylin oder Hämalau (Färb. 20, 6) gefärbt. Mikrotomschnitte durch ganze Samenblasen zeigen gut die Anhäufung der Zysten in zahlreichen Höhlen der Samenblasen (s. Abb. 197/2).

Kokzidien (*Coccidia*) leben als pathogene Zellschmarotzer in Leber und Darm vieler Haustiere. Da Kokzidien und ihre Entwicklungsstadien schwer zu untersuchen sind, wird hier nur auf einen Vertreter hingewiesen. *Eimeria stiedae* ruft die Kaninchenkokzidiose hervor. Fast alle Tiere sind leicht infiziert. Wird angefeuchteter Kot erkrankter Kaninchen in einer großen, feuchten Kammer bei Zimmertemperatur gehalten, so zeigen im Ablauf von 10 bis 20 Tagen entnommene Proben die Entwicklung der Sporoblasten, Sporozysten und Sporozoiten. Sehr interessant ist auch die Unter-



Abb. 198/1 *Myxidium lieberkühni* auf Epithelzellen der Harnblasenwand eines Hechtes (140 : 1/350 : 1)

suchung der Leber von an Kokzidiose verendeten Kaninchen. Wenn die weißlichen, mit bloßem Auge sichtbaren Kokzidienknoten bei der Öffnung noch flüssigen Inhalt haben, so beherbergen sie Schizogoniestadien. Stadien der Sporogonie treten in Knoten mit verkästem Inhalt auf.

Präparate von Malariaerregern (*Plasmodium*) kann der Lehrer nicht selbst herstellen. Zur Untersuchung fertiger Dauerpräparate wird mindestens 800- bis 1000fache Vergrößerung benötigt.

Zur Gruppe der *Cnidosporidia* (*Neosporidia*) gehören die Erreger verschiedener Fischseuchen sowie der Fleckenkrankheit der Seidenraupen (Pebrine) und der Darmseuche der Bienen (Nosemaseuche, Bienenruhr). Das amöbenähnliche *Myxidium lieberkühni* lebt als Schmarotzer auf der Harnblasenschleimhaut des Hechtes. Mikrotomschnitte zeigen die vielkernigen Parasiten, die lange, spindelförmige Sporen ausbilden (s. Abb. 198/1). Auch Abklatschpräparate, die als feuchter Ausstrich weiterbehandelt werden, liefern gute Bilder. Die Harnblase wird aufgetrennt und ein Deckglas auf ihre Innenseite gedrückt. Von den feinen Epithelien werden Quetsch- und Zupfpräparate hergestellt und sofort untersucht.

Die Bienenruhr tritt vorwiegend Ende März, Anfang April auf. Die Bienen nehmen die Sporen von *Nosema apis* aus dem Kot erkrankter Tiere mit der Nahrung auf. Die Entwicklung der Sporozoiten geht im Darm vor sich. Aus ihnen entwickeln sich nach Selbstbefruchtung zahlreiche Wanderzellen, die in das Mitteldarmepithel eindringen, sich kettenförmig vermehren und schließlich wieder Sporen hervorbringen. Oft gehen die Sporen schon während der Erkrankung der Biene mit dem Kot ab. Bei befallenen Bienen hat der sonst gelblichbraune Mitteldarm eine milchigweiße Farbe. Darmquerschnitte zeigen die Entwicklungsstufen des Parasiten, feucht mit Schaudinn (Fix. 12) fixierte und mit Karbolfuchsin oder Gentianaviolett gefärbte (Färb. 14, 17) Darmausstriche die 5  $\mu\text{m}$  bis 6  $\mu\text{m}$  langen Sporen. Auch die leicht herzustellenden Opalblausausstriche zeigen die Sporen sehr gut.

## Wimpertierchen (Ciliata)

Wimpertierchen können leicht in verschiedenen Aufgüssen gezüchtet werden. Solche „Infusionen“ müssen etwa 2 bis 4 Wochen vor ihrer Benutzung angesetzt werden. Zu diesem Zweck gibt man in große Einmachgläser eine reichliche Menge abgestorbener

Pflanzenteile. Besonders gut eignen sich Heu von möglichst nassen Sumpfwiesen (Zysten), Stroh, welkes Laub, Salatblätter, faulende Schilfstengel, faulende Wasserpflanzen und Bananenschalen. Wenn die Gläser mit Leitungswasser aufgefüllt werden, dauert die Entwicklung der Protozoenfauna ziemlich lange. Besser ist es, Tümpelwasser zuzusetzen, das allerdings erst durch ein sehr feines Gazesieb gefiltert werden muß, damit nicht niedere Krebse und deren Larven mit in die Kultur kommen. Die Aufgüsse sollen in einem warmen Raum in Fensternähe stehen, aber möglichst nicht von direktem Sonnenlicht getroffen werden. Man setzt vorsichtshalber mehrere Aufgüsse an. Sehr bald bildet sich an der Oberfläche eine Schicht von Bakterien, die sogenannte Kahmhaut. Das Einlegen von Fleischstückchen, Teilen von Muscheln und Wasserschnecken sowie Auflegen von Fliegen auf die Kahmhaut fördert die Entwicklung der Wimpertierchen. Unter den günstigen Lebensbedingungen in der Infusion schlüpfen die Protozoen aus ihren Dauerzysten und treten bald in großer Zahl auf. Nach einigen Tagen erscheinen zunächst kleine Flagellaten und Ziliaten. Nach etwa 1 bis 2 Wochen treten *Colpidium* und *Euplotes*, dann *Paramecium* und schließlich *Vorticella* und Amöben auf. Gegen Ende der 3. Woche bzw. in der 4. Woche verschwindet der Fäulnisgeruch des Aufgusses. Mit der einsetzenden biologischen Reinigung des Wassers treten neue Formen (z. B. Algen) auf, und langsam stellt sich ein natürliches Gleichgewicht in Zahl und Verteilung der Arten ein. Werden die Ziliaten längere Zeit benötigt, so muß in der 3. Woche auf neue Infusionen überimpft werden. Beim Mikroskopieren werden abpipettierte Proben der Kahmhautschicht, der mittleren Schicht und des Bodensatzes gesondert untersucht. Reinkulturen von Protozoen sind nur schwer zu erzielen. Spezielle Hinweise zu Reinkulturen erfolgen bei den besprochenen Arten. Selbstverständlich liefern auch Planktonfänge die verschiedensten Ziliatenarten, aber nie in der für den Unterricht nötigen Konzentration. Sehr individuenreich sind häufig **Faulschlammkulturen**. An der Einmündung eines Abwasserkanals in einen Fluß entnimmt man etwa 1 cm bis 2 cm dicke Schichten Faulschlamm aus dem Bereich des Abwassers, der Mischungszone und des Flußwassers, gibt etwas Wasser aus der Mischzone dazu und setzt das Ganze dann so in flachen Schalen an, daß der Schlammgrund jeweils einige Zentimeter mit Wasser überdeckt ist. Nach der Kahmhautbildung treten reichlich Ziliaten und Amöben auf. Läßt man solche Schlammproben langsam (!) eintrocknen, so können die im Schlamm enzystierten Protozoen sogar nach Jahren im Aufguß wieder zum Ausschlüpfen gebracht werden.

Zum Konzentrieren der Ziliaten aus Aufgüssen oder Planktonfängen dient die Handzentrifuge. Eine andere Methode macht sich die negative Geotaxis vieler Ziliaten, die besonders bei *Paramecium* ganz deutlich auftritt, zunutze. Eine senkrecht gestellte 30 cm bis 50 cm lange, 2 cm dicke, unten zugeschmolzene Glasröhre dient als Falle. Einige Stunden vor der Benutzung wird die Falle mit Wasser aus der Infusion gefüllt, das viele Pantoffeltierchen enthält (Oberflächenschicht unter der Kahmhaut!). Nach einiger Zeit sammeln sich die Ziliaten in der Glasröhre unter der Wasseroberfläche in dichten, weißen „**Wolken**“ an und können leicht abpipettiert werden.

Alle Ziliaten müssen zunächst lebend untersucht werden, da sie nur dann annähernd genau bestimmt werden können. Dauerpräparate sind immer ein Notbehelf, ganz besonders für den Unterricht. Ziliaten werden in der Entnahmeflüssigkeit untersucht, nicht frei lebende Formen eventuell in physiologischer Kochsalzlösung. (Im hängenden Tropfen untersuchen; enge Blende verwenden.) Besonders günstige Bilder ergeben Untersuchungen im Dunkelfeld und mit Kontrastfarbenbeleuchtung (s. S. 50, 54). Für die **Demonstration** eignen sich *Paramecium*, *Spirostomum*, *Stentor* und *Vorticella* am

besten. Festsitzende Arten (z. B. *Stentor*) können mit einem einzigen Demonstrationsmikroskop gezeigt werden. *Stentor* und *Spirostomum* sind auch für die Projektion mit schwachen Projektionsgeräten geeignet. Das Zeiss-Projektionsgerät (s. S. 101) zeigt auch mittelgroße Formen noch völlig einwandfrei.

Um die sehr raschen Bewegungen der Ziliaten zu hemmen, wird Quittenkernschleim oder Gelatine zugesetzt (s. S. 105). Damit die Ziliaten in Ruhe betrachtet oder kontraktile Formen ausgestreckt fixiert werden können, werden sie durch leichtes (!) Erwärmen des Objektträgers gelähmt. Auch Betäubung durch Chloroform wird empfohlen; dazu wird der Objektträger mit dem Materialtropfen kurze Zeit (ausprobieren!) unter einer Glasglocke Chloroformdämpfen ausgesetzt. Um die Nahrungsaufnahme gut studieren zu können, setzt man einem Materialtropfen vor dem Beobachten etwas zerriebene chinesische Tusche oder Karminkörnchen zu. Für Vitalfärbungen eignen sich Neutralrot und Methylenblau (Färb. 1, 2). Durch Jodzusatz treten Wimpern und Kerne klarer hervor. Für kurzfristige Kernbeobachtungen werden Methylgrün-Essigsäure oder Karminessigsäure (Färb. 4, 3) durchgesaugt. Wenn Materialtropfen auf Objektträgern Formalindämpfen ausgesetzt werden (Objektträger über offene Formalinflasche halten!), so schleudern die Ziliaten ihre Trichozysten aus. Die getrockneten Ausstriche werden nach Methode 8 (s. S. 157) mit Karbolfuchsin gefärbt (Färb. 14). Die Trichozysten treten dann leuchtend rot hervor.

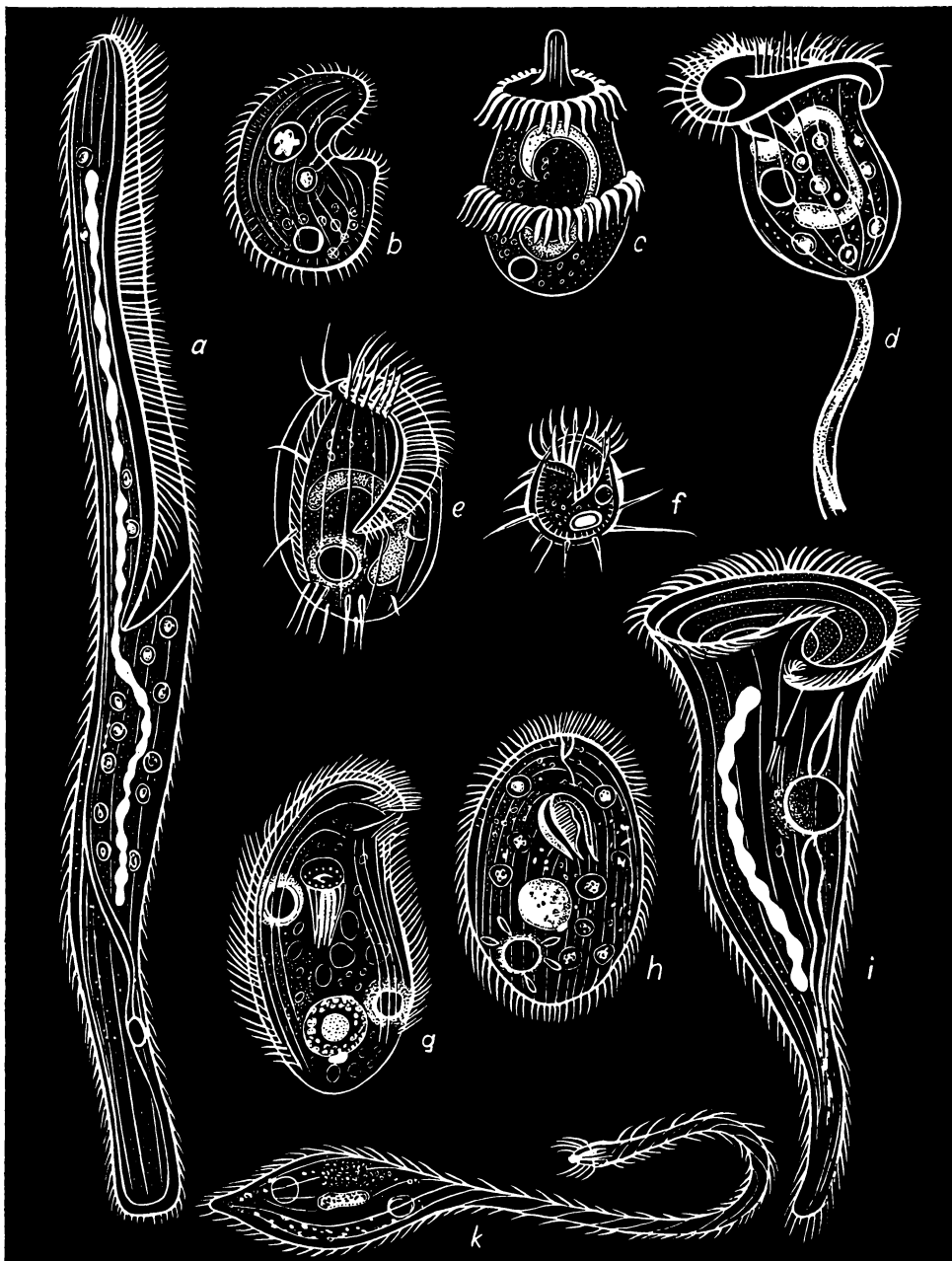
Dauerpräparate von allen Arten außer *Vorticella* und *Stentor* werden mit Opalblau nach Methode 7 (s. S. 156) hergestellt.

Das folgende Verfahren liefert sehr schnell gut fixierte und gefärbte Präparate. Dazu werden zwei Lösungen benötigt. Lösung 1 besteht aus gleichen Teilen von Methylalkohol, Essigsäure und Formalin (Pfeiffers Gemisch). Zur Herstellung der Lösung 2 gibt man zu 60 Teilen destilliertem Wasser nacheinander 17 Teile reines Glycerin, 1 Teil Karbolsäure und 2 Teile Opalblau-Phloxinrhodamin. Lösung 2 hält sich nicht lange. Zur Verwendung wird 1 Tropfen der Lösung 1 mit 8 Tropfen der Lösung 2 gemischt. Mit der Pipette wird das Gemisch aus geringer Höhe auf einen flach ausgestrichenen Tropfen, der möglichst viele Infusorien enthält, aufgetropft. Man nimmt doppelt soviel Gemisch, wie Material auf dem Objektträger ist. Das Präparat ist damit fertig zur Untersuchung. Die Ziliaten sind abgestuft blau bis rot gefärbt. Zur Herstellung von Dauerpräparaten werden die Präparate an einen staubgeschützten Ort gelegt, bis die Flüssigkeit verdunstet ist und die Ausstriche nur noch von Glycerin überdeckt sind (Einschluß mit Glyzeringelatine). Durch die Säurewirkung (Karbolsäure) blassen die Präparate zwar etwas aus, zeigen aber häufig gerade dadurch die einzelnen Organellen gut differenziert.

Als Fixiermittel für alle Ziliaten eignen sich Bouins und Schaudinns Gemisch (Fix. 11, 12), ferner Zenkersche Flüssigkeit, Formalin, Susa, Nawaschinsches Gemisch und Kaformazet (Fix. 13, 2, 14, 15, 16). Das Silberliniensystem wird nach Methode 13 (s. S. 179) dargestellt. Besonders interessant ist diese Präparation bei konjugierenden Tieren, deren Silberliniensysteme miteinander in Verbindung treten. Von größeren Ziliaten kann man auch Schnitte herstellen (Meth. 12, s. S. 175). Damit die Ziliaten im

Abb. 201/1 Häufige Wimpertiere

a *Spirostomum ambiguum* (3 mm bis 5 mm), b *Colpoda cucullus* (120  $\mu\text{m}$ ), c *Didinium nasutum* (180  $\mu\text{m}$ ), d *Vorticella* sp., e *Euplotes charon* f *Halteria grandinella* g *Chilodon uncinatus* (60  $\mu\text{m}$ ), h *Glaucoma scintillans* (40  $\mu\text{m}$ ), i *Stentor* sp. (1000  $\mu\text{m}$ ), k *Lacrymaria olor* (800  $\mu\text{m}$  bis 1000  $\mu\text{m}$ )



Paraffin sichtbar bleiben, werden sie in der Xylolstufe mit dem Fettfarbstoff Sudan III angefärbt (Färb. 19).

Im folgenden werden einige wichtige Ziliaten näher behandelt (s. Abb. 201/1). Das Pantoffeltierchen (*Paramecium caudatum*, s. Abb. 23/1, 132/1, 157/1) ist leicht zu beschaffen. Die äußeren erdigen Blätter frischer Salatköpfe werden in einen Gazebeutel gebunden und etwa 5 Minuten gekocht. Dann wird der Beutel so in ein mit abgekochtem Wasser gefülltes Konservenglas gehängt, daß er sich dicht unter der Wasseroberfläche befindet. Sehr bald entwickelt sich an dem Salat eine Bakterienart, die von den Paramäzieren besonders gern als Nahrung angenommen wird. Um das Auftreten der Paramäzieren zu beschleunigen, ist es ratsam, den Salataufguß mit Pantoffeltierchen aus einem vorhandenen Heuaufguß zu impfen. Es ist erstaunlich, welche große Menge von Paramäzieren sich schon nach wenigen Tagen dicht unter der Kahlhaut, vor allem aber in der Nähe des Salatbeutels, angesammelt hat. Aus diesem Bereich abpipettierte Flüssigkeit ist von der Vielzahl der Pantoffeltierchen milchigweiß gefärbt. Eine weitere Konzentration der Paramäzieren erübrigt sich. Nach etwa 10 bis 14 Tagen setzt man einen neuen Aufguß an und beimpft ihn.

Trompetentierchen (*Stentor*) sitzen meist an vermodernden Wasserpflanzen, können aber auch frei schwimmen. Sie sind sehr kontraktile und haben einen rosenkranzförmigen, aus zahlreichen Einzelkernen zusammengesetzten Makronukleus (s. Abb. 44/2, 201/1). Trompetentierchen leben sehr häufig in Symbiose mit Grünalgen (Zoochlorellen). Sie können leicht in reinen Salatinfusionen weitergezüchtet werden.

An Algen und Kleinkrebsen leben häufig Vertreter der zur Ordnung *Peritricha* gehörenden Gattung *Cothurnia*. Diese Wimpertiere haben ein meist kurzgestieltes, aufrechtstehendes und glashelles, chitiniges Gehäuse, das eine kelchartige Form aufweist. Die einzeln oder zu zweit („Mutter“ und „Tochter“) lebenden Tiere sind mit dem Hinterende ihres keulenförmigen, sehr kontraktilen Körpers am Grunde des Gehäuses befestigt und ziehen sich bei Beunruhigung sehr schnell in dasselbe zurück. Dabei wird das Gehäuse durch ein Klappensystem geschlossen. Ähnlich gebaut sind beispielsweise Vertreter der Gattungen *Vaginicola*, *Thuricola* und *Lagenophrys*.

Glockentierchen (*Vorticella*) kommen in über 100 Arten an Wasserpflanzen und -tieren vor. Sie haften mit einem feinen Stiel an der Unterlage. In dem Stiel liegen kontraktile Fasern (Myoneme), die ihn durch plötzliches Zusammenziehen spiralig aufrollen (typische Schreckreaktion). Bei Störungen wird außerdem die oben offene, mit einem Wimperkranz umgebene Glocke durch den Randwulst geschlossen. Glockentierchen gehören zum Ernährungstyp der Strudler. Gefärbte Dauerpräparate zeigen den hufeisenförmig gebogenen Großkern.

Viele Protozoen haben einen ausgeprägten Polymorphismus, der durch äußere Faktoren hervorgerufen bzw. ausgelöst wird. Die im Normalfall sessilen (festsitzenden) Vortizellen lösen sich bei Eintritt für sie ungünstiger Lebensbedingungen von ihren Stielen ab und schwimmen frei umher. Das selbständige Ablösen eines Glockentierchens von seinem Stiel beginnt damit, daß am hinteren Ende der Glocke (in der Nähe des Stielansatzes) in kurzer Zeit ein Wimperkranz ausgebildet wird (s. Abb. 71/1). Dieser Wimperkranz entsteht bereits einige Zeit vor der Ablösung vom Stiel. Er ist bei losgelösten, frei schwimmenden Individuen fast immer zu beobachten. Vortizellen können experimentell zur Ausbildung des hinteren Wimperkranzes angeregt werden. Dazu überträgt man sie in eine sehr starke Neutralrotlösung (etwa 1 : 100) und stellt sofort Frischpräparate her (Deckgläser zum Schutz vor Verdunstung mit Vaseline umranden!). Regelmäßig bilden dann bereits nach 3 min bis 5 min etwa 80% aller im Präparat ein-

geschlossenen Vortizellen den hinteren Wimperkranz aus. Zur Ablösung der Glocken von ihren Stielen kommt es allerdings nicht immer, da Neutralrot in dieser Konzentration bereits stark giftig auf die meisten Protozoen wirkt (ab 1 : 1000 relative Ungiftigkeit). 7 min bis 8 min nach Herstellung der Präparate zeigen viele Glockentierchen deutliche Vergiftungserscheinungen (z. B. unnatürliche Vergrößerung der pulsierenden Vakuole und Verlangsamung bzw. Einstellung des Wimperschlags). Typisch ist auch, daß sich in diesem Stadium der Kern bei etwa 20% aller untersuchten Tiere vital stark färbt. Eine solche vitale Kernfärbung gelingt nur in Ausnahmefällen und weist immer auf besondere Umstände hin (z. B. Sauerstoffmangel, starke Reizung der ganzen Zelle).

Glockentierchen stehen oft so dicht nebeneinander, daß die als Unterlage dienenden Pflanzen wie verschimmelt aussehen. Dadurch entsteht leicht der Eindruck der Koloniebildung. Um eine echte Koloniebildung handelt es sich, wenn die mit einem Muskel versehenen, kontraktile Stiele verzweigt sind und zahlreiche Individuen tragen. Während jedoch bei *Zoothamnium* alle Stielmuskeln miteinander zusammenhängen, haben bei *Carchesium* die Muskeln der Nebenäste keine Verbindung zu denen des Hauptastes. Beide Arten kommen sowohl im Plankton als auch als Epibionten auf Wasserpflanzen, Kleinkrebsen usw. vor. Die Kolonien können mehrere Hundert Individuen aufweisen. Die ebenfalls koloniebildenden *Epistylis*-Arten kommen im Plankton vor. Ihre Zweige sind nicht kontraktil. Dafür können die mit einem breiten Peristom versehenen, glockenförmigen Einzeltiere bei Beunruhigung am Stiel umknicken.

Nur einige Ziliaten leben in Wirtstieren (z. B. als Kommensalen im Froschdarm: *Opalina*, *Balantidium* und *Nyctotherus*; s. S. 161; Abb. 162/1). Zahlreiche Arten von *Nyctotherus* leben im Darm verschiedener Insekten, viele andere Ziliaten im Darm von Würmern.

Reichhaltiges Untersuchungsmaterial liefern Ziliaten, die in großer Arten- und Individuenzahl den Pansen der Wiederkäuer und den Blinddarm der Huftiere als Kommensalen bzw. Symbionten bewohnen.

Diese Ziliaten, die sich der konstanten Körperwärme des Wirts angepaßt haben, kommen frei lebend nicht vor.

Zum Beschaffen von Untersuchungsmaterial sticht man den Magen bzw. Darm frisch geschlachteter Tiere an und fängt die herausfließende Flüssigkeit in Thermosflaschen auf. Die Flüssigkeit darf nicht abkühlen, da die Ziliaten sonst ihre Bewegungen einstellen und absterben. Darum muß auch die mikroskopische Untersuchung sehr schnell vor sich gehen. Grobe Nahrungsteilchen werden vorher abgeseiht.

Sauginfusorien oder Suktorien (s. Abb. 44/1) kommen häufig in Planktonproben freischwimmend bzw. an Algen oder Kleintieren sitzend vor (z. B. *Dendroco-*

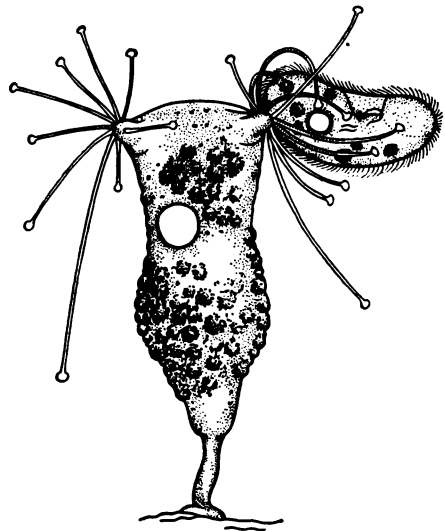


Abb. 203/1 Sauginfusor *Tokophrya* sp. mit gefangenem Wimpertier



*metes* an den Kiemen von *Gammarus pulex*, *Choanophrya* und *Tokophrya* auf Hüpfertingeln, *Podophrya* auf Algen und Detritusteilchen, *Sphaerophrya* als Schwebeform). Es handelt sich um kugelige oder birnenähnliche, gestielte Formen, die auf den ersten Blick an bestimmten Stellen des Körpers wie mit Stecknadeln gespickt aussehen (s. Abb. 203/1).

Sauginfusorien haben keinen Zellmund. Die Nahrungsaufnahme erfolgt durch biegsame, hohle Saugtentakeln, die ein klebriges Köpfchen tragen, das Beuteinfusorien festhält und lähmt. Nachdem das Ektoplasma der Beutetiere an der Berührungsstelle durch Fermenteinwirkung aufgelöst ist, wird das Plasma in wenigen Minuten ausgesaugt. Suktorien tragen nur im Jugendstadium Wimpern zur Fortbewegung. Die gut zu beobachtende Fortpflanzung erfolgt meist durch innere oder äußere Knospung, seltener durch Teilung.

## **Befruchtung, Entwicklungsvorgänge und Gewebeformen**

### *Befruchtung und Entwicklungsvorgänge*

Da die befruchtete Eizelle am Anfang der Entwicklung jedes Mehrzellers steht, wird vor der Besprechung der einzelnen Gewebe kurz auf Präparationsmöglichkeiten früher Entwicklungsstadien hingewiesen.

Der Befruchtungsvorgang läßt sich zu Demonstrationszwecken gut an Eiern von Fröschen und Forellen durchführen.

Zur Laichzeit wird ein Froschpärchen in Kopula gefangen und getrennt. Das Männchen wird getötet (mit starker Schere schnell dekapitieren), dann wird der Leib geöffnet. Sind die Samenblasen prall gefüllt, so wird die Samenflüssigkeit in ein sauberes Blockschälchen entleert, das zugedeckt einige Minuten stehen darf. Sind die Samenblasen nicht gefüllt, so wird der Hoden herausgenommen und in physiologischer Kochsalzlösung zu einem milchigen Brei zerzupft. Man läßt ihn 10 Minuten stehen. Beim Wasserfrosch werden die Spermien nur so gewonnen. Unter dem Mikroskop prüft man, ob sich die Spermien lebhaft bewegen. Dann wird das Weibchen getötet, der Eileiter vorsichtig herausgenommen und der nahe der Kloake gelegene Uterus geöffnet. Eier, die nicht aus dem Uterus herausgenommen werden, lassen sich kaum befruchten. Die Eier werden in ein Blockschälchen übertragen und mit Samenflüssigkeit übergossen. Man läßt das Schälchen 10 Minuten stehen und schüttelt es ab und zu vorsichtig. Wenn die Eier befruchtet sind, drehen sie sich mit dem schwarzen, animalen Pol nach oben. Die Eier werden nun vorsichtig mit einem Spatel, einer Federfahne oder einem Schnittfänger in reines, oft zu wechselndes Wasser übertragen (wenig Wasser, flache Petrischalen!). Die Furchung der Eier beginnt bei Zimmertemperatur etwa 3 Stunden nach der Befruchtung (bei Fröschen, die in Gefangenschaft gehalten worden sind, gelingt die künstliche Befruchtung nicht). Zur Lebendbeobachtung wird die Petrischale auf den Objektisch des Mikroskops oder einer Präparierlupe (möglichst binokular) gestellt. Die Eier bleiben dabei in der Gallerthülle. (Zeichnen, fotografieren!)

Um Total- oder Schnittpräparate anfertigen zu können, fixiert man am besten 6 bis 8 Tage in Zenker (Fix. 13). Die Gallerthüllen lösen sich dabei von selbst ab. Günstige Ergebnisse liefert auch die Fixierung in Chromessigsäure (2 g Chromsäure, 1 cm<sup>3</sup> Eis-

essig, 1000 cm<sup>3</sup> Aqua destillata), die auf 80 °C erwärmt wird. Man fixiert etwa 5 Minuten und wäscht dann 24 Stunden in Wasser aus. Durch vorsichtiges Schütteln löst sich die Gallerthülle ab. Eingebettet wird nach Methode 12 (Alkoholstufen möglichst schnell durchlaufen, vor Licht schützen, s. S. 175). Die Schnitte werden mit Safranin (Färb. 10) gefärbt.

Man kann auch frisch abgelegten Laich sammeln und in Glasgefäßen warm halten. In Abständen von etwa einer Stunde werden jeweils einige Eier in einem Tee-Ei für einige Minuten in fast kochendes Wasser und darauf in 2%iges Formalin übergeführt. Nach einigen Stunden werden die Eier aus der Gallerthülle herauspräpariert und einzeln in Glycerinwasser unter der Lupe oder bei schwacher Mikroskopvergrößerung betrachtet (Auflicht!).

Zur Entfernung der Gallerthülle können die Eier auch in 1 : 1 mit Wasser verdünntes Eau de Javelle gelegt werden. Sobald die Hülle gelöst ist, fischt man die Eier einzeln heraus und wäscht sie in Wasser aus (Wasser mehrmals wechseln; jeweils nur 3 bis 4 Eier behandeln!). Totalpräparate werden nach Methode 6 (s. S. 154) hergestellt.

Zu jeder Jahreszeit steht der Laich von Posthornschncken (*Planorbis*) zur Verfügung, der sich vorzüglich für diese Beobachtungen eignet (s. S. 261). Auch Eier der Schlamm-schnecke (*Lymnaea stagnalis*) zeigen die Furchungsvorgänge gut (Spiralfurchung). Man findet den Laich im Sommer auf Blättern von Wasserpflanzen oder auf Steinen.

Geeignete Untersuchungsobjekte für Befruchtungs- und Eientwicklungsvorgänge sind weiterhin der Pferdespulwurm (s. S. 230), die in der Lunge von Fröschen schmarotzenden Nematoden sowie Erdnematoden.

Die ontogenetische Entwicklung der Amnioten kann an Entwicklungsstufen aus Hühnereiern studiert werden, die sich jeder, der über einen gut regulierbaren Thermostaten verfügt, durch künstliche Bebrütung beschaffen kann. Für die Präparation der jüngsten Bebrütungsstadien wird ein Mikrotom nicht unbedingt benötigt, da diese auch als Totalpräparate eingeschlossen werden können (s. Abb. 205/1). Über 3 Tage alte Embryonen müssen jedoch geschnitten werden. Zu eingehenden Untersuchungen sind selbstverständlich auch Schnitte durch jüngere Stadien erforderlich (s. Abb. 206/1). Auch von Hennen bebrütete Eier können verwendet werden, wenn der Zeitpunkt des Brutbeginns bekannt ist. Die zur Bebrütung vorgesehenen Eier dürfen nicht über 8 Tage

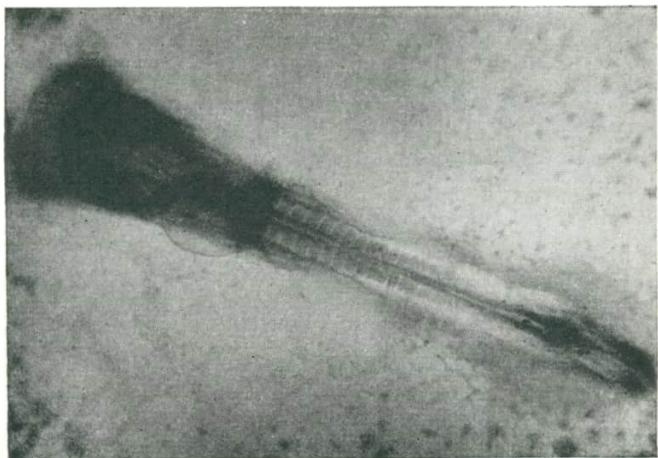


Abb. 205/1 Haushuhn (*Gallus domesticus*); Keimscheibe (50 Stunden bebrütet; 8: 1/15 :1)

alt sein und sollen zunächst einen Tag kühl und waagrecht lagern. Die Oberseite muß mit einem Kreuz gekennzeichnet werden. Dann werden die Eier in einem wattergefüllten Behälter in den auf 38 °C einregulierten Thermostaten gebracht. Eine höhere Temperatur schadet, eine kurzfristige geringe Abkühlung entspricht dagegen den natürlichen Verhältnissen. In den Schrank muß ein Wassergefäß gestellt werden, damit die Luft feucht bleibt. Vom zweiten Bebrütungstage an sorgt man ab und zu für einen Luftwechsel im Thermostaten und dreht jedes Ei einmal täglich um 90° um die Längsachse. Die Drehrichtung darf nicht gewechselt werden (Pfeil). Für mikroskopische Zwecke genügt eine bis neuntägige Bebrütung vollkommen, da ja vorwiegend die Keimblattbildung sowie die Anlage und Ausbildung der Organe interessieren.

Die Bebrütungsstadien werden folgendermaßen aus dem Ei genommen: Das Ei – ohne es zu drehen – aus dem Brutkasten nehmen und am stumpfen Pol (Luftkammer) öffnen, damit die Luft entweichen kann. Dann wird das Ei am höchsten Punkt der Schalenwölbung angebohrt und die Schale vorsichtig mit einer kräftigen Pinzette in kleinen Stücken abgetragen. Dabei soll das Eiweiß in kleinen Portionen ablaufen. Hagelschnüre (Chalazen) durchtrennen, damit sie nicht die Dotterhaut mitziehen! Liegt der Dotter frei, so läßt man aus der Pipette einige Tropfen Fixierflüssigkeit auf die Keimscheibe (heller Fleck) fließen. Dadurch gerinnt das noch anhaftende Eiweiß sofort. Es kann nun mit einem feuchten Pinsel (mit Fixierflüssigkeit anfeuchten!) abgestreift werden.

Danach wird der Dotter mit dem unteren Schalenrest in die Fixierflüssigkeit (For-

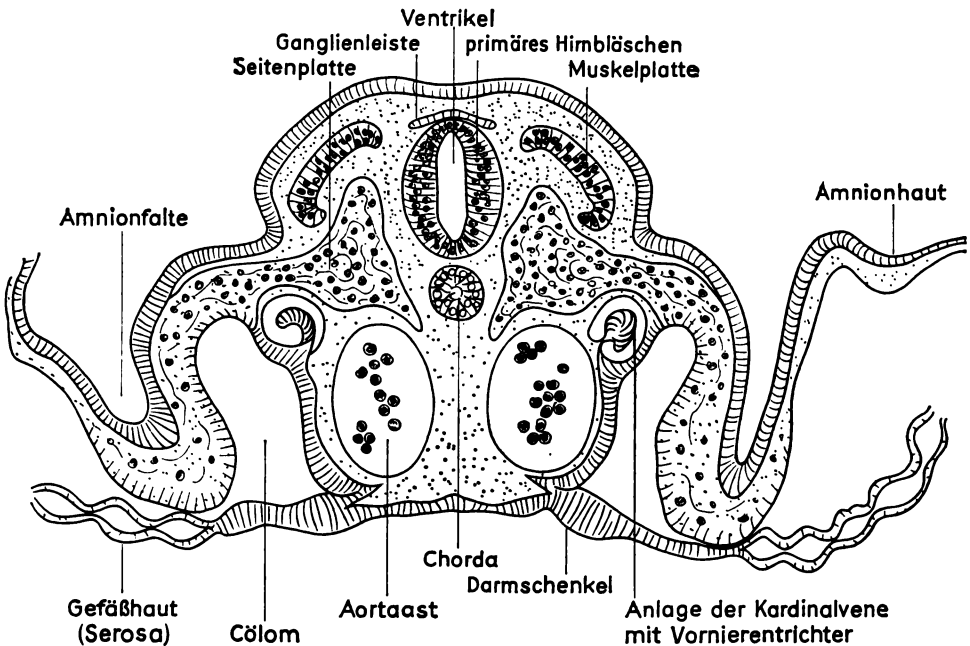


Abb. 206/1 Haushuhn (*Gallus domesticus*); Querschnitt durch das Vorderende eines Keims (36 Stunden bebrütet)

malin oder Bouin, Fix. 2, 11) gelegt und die Schale entfernt. Die Keimscheibe muß dabei oben bleiben.

Nach 4 bis 5 Stunden ist die Keimscheibe so weit gehärtet, daß sie mit der Schere vorsichtig ausgeschnitten (Dotterhaut abtrennen) und mit einem Hornlöffel (Metallinstrumente mit Paraffin überziehen) zum Durchfixieren in frische Fixierflüssigkeit übertragen werden kann. Junge Stadien werden 6 Stunden, bis 5 Tage alte 12 Stunden, noch ältere bis zu 48 Stunden fixiert. (Für Demonstrationen im Unterricht werden 3, 5 und 8 Tage nach Bebrütungsbeginn je zwei Exemplare fixiert, da die Präparation zarter Frühstadien oft mißlingt.)

Bei jungen Stadien wird die Keimscheibe in Rechteckform herausgeschnitten, wobei die Primitivrinne des Keimlings (Längsachse) parallel zu den langen Seiten liegt. Dadurch kann beim späteren Einbetten die richtige Schnittrichtung leichter gefunden werden. Nach dem Durchfixieren wird die Dotterhaut vorsichtig abgezogen (außer bei ganz jungen Stadien). Um die sehr zarten Frühstadien zu schonen, kann man auch den ganzen Dotter 24 Stunden fixieren und erst dann die Keimscheibe ausschneiden. Längeres Fixieren schadet nicht. Das Auswaschen und Entwässern muß mit äußerster Vorsicht geschehen.

Totalpräparate werden nach Methode 9 (s. S. 163) hergestellt und mit Boraxkarmin oder Alizarinviridin (Färb. 8 oder 9) gefärbt. Das Deckglas muß mit Füßchen abgestützt werden. Für Schnitte wird nach Methode 12 (s. S. 175) eingebettet. Sehr häufig werden die Embryonen vor der Einbettung im ganzen gefärbt (Stückfärbung). Aus 80%igem Alkohol wird in Boraxkarmin übertragen. Jüngere Stadien bleiben bis 24 Stunden, ältere bis 3 Tage in der Farblösung. Dann wird in HCl-Alkohol differenziert, bis das Präparat zart rosa gefärbt ist und wie üblich weiterbehandelt.

Frisch gelegte Eier zeigen bereits die ersten Keimblätter! Frühere Entwicklungsstufen kann man sich aus dem Eierstock einer geschlachteten Henne besorgen.

Eier von Säugetieren lassen sich nur schwer beschaffen. Zu diesem Zweck werden weiße Mäuse gezüchtet. 26 Stunden nach der Paarung beginnt die Furchung der Eier, etwa 4 Tage nach der Paarung treten sie in die Gebärmutter ein. Uterus, Eileiter und Eierstöcke werden in eine Präparierschale mit körperwarmer physiologischer Kochsalzlösung übertragen, mit der Schere gespalten, in einzelne Stücke zerlegt und mit einer Pipette ausgespritzt. Die Flüssigkeit wird mit einer 20fach vergrößernden Lupe abgesehen; die Eier werden in Formalin oder Zenker (Fix. 2 oder 13) übertragen. Man färbt nach Methode 9 mit Boraxkarmin, Alizarinviridin, Kernschwarz oder Hämalaun-Eosin (Färb. 8, 9, 16 oder 29) und schließt dann ein. Unbefruchtete Eier sind in Schnitten durch Ovarien (s. S. 273) zu sehen (s. Farbtafel 3, Abb. c).

Embryonen von Wirbeltieren liefern sehr instruktive Längs- und Querschnitte. Fixiert wird in Trichloressigsäure oder Bouin (Fix. 6 oder 11), dann muß eventuell noch zusätzlich entkalkt werden.

## *Gewebeformen*

Die Zelle ist die morphologisch-funktionelle Elementareinheit aller zellig gebauten Organismen. Lebende Zellen zeigen die gleichen grundsätzlichen Lebenserscheinungen, die dem Gesamtorganismus zukommen. Allerdings ist bei vielzelligen Organismen immer

eine mehr oder weniger starke Differenzierung der Zellen zu verzeichnen, die dazu führt, daß bestimmte Zellen vorwiegend auf bestimmte Leistungen spezialisiert sind, wobei andere Fähigkeiten zurücktreten und oft nicht mehr erkennbar sind (z. B. Nervenzelle hochspezialisiert auf Reizbarkeit, dagegen völliges Fehlen der Bewegungsfähigkeit). Räumlich zusammengehörige, durch Interzellulärsubstanzen verbundene Komplexe von gleichartig differenzierten Zellen mit annähernd gleicher Funktion werden als Gewebe bezeichnet.

Auf Grund verschiedener Funktion, Form und Entwicklung werden im allgemeinen vier Gewebe-Grundtypen unterschieden: 1. Epithelgewebe, 2. Stütz- und Bindegewebe, 3. Muskelgewebe und 4. Nervengewebe.

Das Epithelgewebe kann ontogenetisch aus allen drei Keimblättern entstehen, es ist das phylo- und ontogenetisch älteste Gewebe. Stütz- und Bindegewebe sowie Muskelgewebe stammen vom Mesoderm ab (Muskelgewebe entsteht in einigen Fällen auch aus dem Ektoderm, ebenso Neuroglia). Nervengewebe entsteht ausnahmslos aus dem Ektoderm. Nach der Form ihrer Zellen lassen sich alle genannten Gewebe gut unterscheiden.

## Epithelgewebe

Nach außen oder innen gerichtete Oberflächen des Körpers überzieht das flächenhaft ausgebreitete Epithelgewebe. Interzellulärsubstanz kommt kaum vor. An der basalen Seite der Epithelzellen ist meist ein Grenzhäutchen, die Basalmembran, ausgebildet. Sie grenzt ihrerseits fast immer an Bindegewebe. Von dort aus werden die Epithelien ernährt.

Der Anordnung nach werden einschichtige und mehrschichtige bzw. mehrreihige Epithelien unterschieden. Dabei können die einzelnen Zellen plattenförmig, kubisch oder prismatisch (zylindrisch) gebaut sein.

Zwischen Form und Leistung der Epithelien bestehen sehr enge Zusammenhänge. Der Funktion nach unterscheidet man Deck-, Drüsen- und Sinnesepithelien.

**Platteneithel** (s. S. 161). Gutes Material für Dauerpräparate liefern abgestoßene Oberhautfetzen von Amphibien.

Mehrere Frösche oder Molche hält man einen Tag lang in Wasser, das die Tiere nicht verlassen dürfen. Abgestoßene Hautstücke werden herausgefischt, gut abgespült, in Formalin fixiert, nach Methode 9 (s. S. 163) mit Boraxkarmin, Kernschwarz oder Hämalaun-Eosin (Färb. 8, 16 oder 29) gefärbt und eingebettet.

Darmbandstücke (Mesenterien) frisch getöteter Tiere (z. B. junger Katzen) zeigen sehr gut einschichtiges Platteneithel. Ein größerer Korkrahmen wird unter eine Darmschlinge geschoben. Das auf den Kork gespannte Darmbandstück wird mit Hornnadeln (Igelstacheln) oder Holznägeln festgesteckt, umschnitten und mit dem Kork sofort zur Versilberung der Zellgrenzen für 10 Minuten in 1%ige Silbernitratlösung gelegt. Das Darmband muß dabei völlig weiß werden. Nun wird das Gewebestück in destilliertem Wasser abgespült und dann in einem Schälchen mit destilliertem Wasser dem Sonnenlicht ausgesetzt, bis es durchgehend dunkelbraun geworden ist. Anschließend wird das Darmband in schwacher Kochsalzlösung abgespült und in dieser Lösung 10 Minuten lang zerstreutem Tageslicht ausgesetzt. Man löst das Darmstück vom Kork ab, entwässert und schließt nach Methode 6 (s. S. 154) ein. Noch instruktiver wird dieses Präparat, wenn nach der Versilberung eine Hämalaun-Kern-

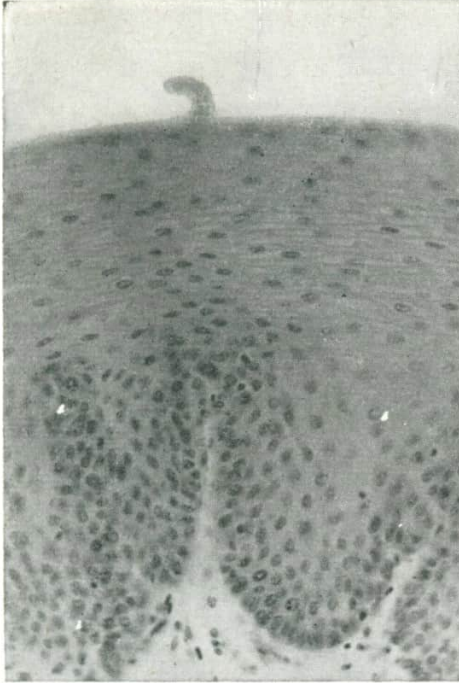


Abb. 209/1 Mensch (*Homo sapiens*); mehrschichtiges Plattenepithel der Speiseröhre (50 : 1/110 : 1)

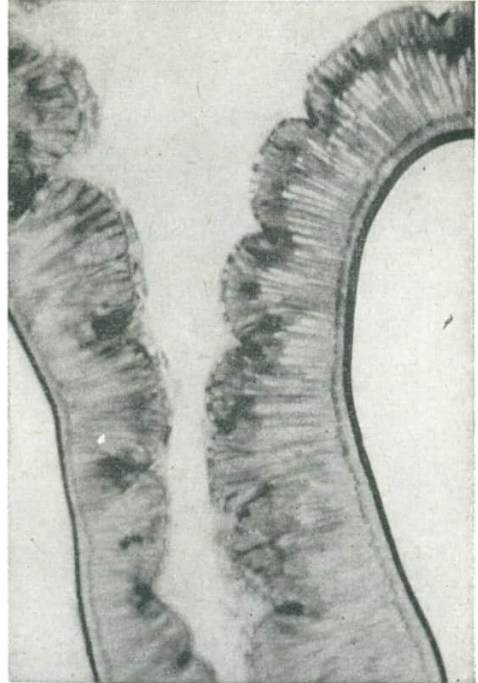


Abb. 209/2 Pferdespulwurm (*Parascaris equorum*); Darmquerschnitt, Zylinderepithel (40 : 1/120 : 1)

färbung (Färb. 6) erfolgt. Die schwarzbraunen Zellgrenzen und die Zellkerne treten dann scharf hervor. Mehrschichtiges Plattenepithel zeigt ein Querschnitt durch die Speiseröhre eines kleinen Säugers (s. Abb. 209/1).

**Zylinderepithel.** Schnitte durch den Dünndarm kleiner Säuger oder durch den Darm des Pferdespulwurms (s. Abb. 209/2) zeigen gute Bilder. Man fixiert in Zenker oder Susa (Fix. 13, 14) und färbt mit Hämalaun-Eosin (Färb. 29). Aus dem Dünndarm werden Stücke herausgeschnitten, gespalten und kurz in physiologischer Kochsalzlösung abgespült. Zum Mazerieren werden sie in schwach gewärmten Drittelalkohol gelegt (1 Teil absoluter Alkohol, 2 Teile Wasser). Nach 24 Stunden werden die Zellen durch Schütteln oder Zerzupfen auf dem Objektträger getrennt. Fuchsin oder Eosin müssen durchgesaugt werden.

Einschichtiges Deckepithel, das mehrere Funktionen zu erfüllen hat, ist gut an Querschnitten durch Regenwürmer (*Lumbricus* sp.) zu beobachten (s. Abb. 210/1). Neben dem Schutz und Abschluß des Körpers nach außen dient dieses Epithel noch der Absonderung von Sekreten sowie der Resorption und der Aufnahme von Sinneseindrücken (Lichtsinn, chemischer Sinn).

Schnitte durch die Körperhaut der Säugetiere sind Beispiele für mehrschichtiges Deckgewebe, in dem Zylinder-, Pflaster- und Plattenepithelien in Übergängen aufeinanderfolgen.

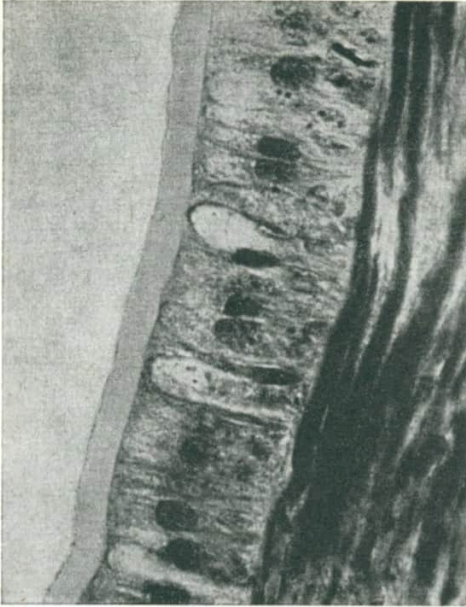


Abb. 210/1 Regenwurm (*Lumbricus* sp.); einschichtiges Deckepithel im Querschnitt als Abschluß des Körpers nach außen (850 : 1/700 : 1)

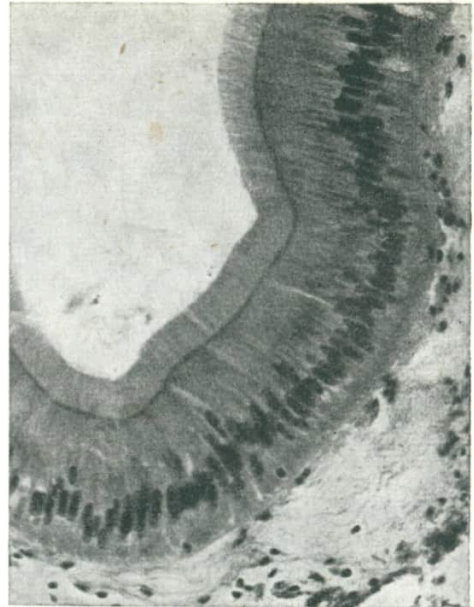


Abb. 210/2 Teichmuschel (*Anodonta* sp.); Darmquerschnitt mit einschichtigem Flimmerepithel (46 : 1/140 : 1)

**Flimmerepithel.** Flimmerepithel kann aus der Gaumenschleimhaut oder der Speiseröhre eines Lurchs bzw. von Kiemenstücken einer Muschel durch Mazeration gewonnen werden. Flimmerepithel wird in der natürlichen Lagerung, wie auf Seite 187 f. beschrieben, untersucht.

Auch in Organschnitten werden regelmäßig Epithelien oder Endothelien angetroffen. Die Epithelzellen von Geißelepithelien in den Verdauungsorganen niederer Tiere tragen oft je eine Geißel (s. Abb. 210/2). Die Nasenhöhlen, Luftröhren und Bronchien der lungenatmenden Wirbeltiere sind mit typischen Flimmerepithelien ausgekleidet.

**Drüsenepithelien.** Einzellige Drüsen findet man in Schnitten durch die Haut des Regenwurms (s. Abb. 210/1), durch den Fuß und die Haut der Mollusken und durch das Darmepithel (s. Abb. 211/1). Mehrzellig sind dagegen die bläschenförmigen Drüsen in der Haut der Amphibien sowie die schlauchförmigen Schweiß- und Milchdrüsen der Säugetiere. Die Nickhaut eines Frosches wird in physiologischer Kochsalzlösung untersucht (Schleimdrüsen). Zur Isolierung von Drüsenkanälchen und -bläschen kommen frische Stücke einer drüsenhaltigen Schleimhaut (Magen, Dünndarm) oder eines Drüsenkörpers (Speicheldrüse) für etwa 1 bis 2 Stunden in konzentrierte Salpetersäure. Das Binde- und Stützgewebe verquillt darin; durch Schütteln oder Zerzupfen können die Drüsenteile isoliert werden. Zur Gewinnung von Dauerpräparaten werden die Objekte mit Formalin, Zenker, Susa oder Kaformazet (Fix. 2, 13, 14, 16) fixiert und mit Hämalaun-Eosin oder Azan (Färb. 29, 30) gefärbt; am besten stellt man mit beiden Färbungen Vergleichspräparate her. (Drüsen mit innerer Sekretion s. S. 272.)



Abb. 211/1 Mensch (*Homo sapiens*); Längsschnitt durch den Dickdarm, Schleimhaut mit fingerförmig eingestülptem Drüsenepithel (50 : 1/180 : 1)



Abb. 211/2 Mensch (*Homo sapiens*); Drüsenepithel der Nasenschleimhaut mit Becher- und Flimmerzellen (34 : 1/90 : 1)

**Sinnesepithelien.** Man betrachtet die Riechschleimhaut auf Querschnitten durch die Nasenhöhlen junger Säuger (s. Abb. 211/2) oder Schnitte durch die Netzhaut (Retina) eines Säugers (s. Abb. 211/3).



Abb. 211/3 Mensch (*Homo sapiens*); abgelöstes Sinnesepithel (Netzhaut des Auges; 60 : 1/200 : 1)



## Stütz- und Bindegewebe

Stütz- und Bindegewebe sind Gewebe mit vorwiegend mechanischen Funktionen. Die Stützgewebe sind im Gegensatz zu Epithelgeweben ausgesprochene Tiefengewebe. Entwicklungsgeschichtlich treten sie zuerst bei den Strudelwürmern (Turbellarien) als Füllgewebe auf, das zwischen Körper- und Darmepithel liegt. Stützgewebe erfüllen jedoch nicht nur Füllfunktion. Sie liegen im Körper vor allem dort, wo es auf hohe Elastizität, auf Druck- und Zugfestigkeit ankommt.

Die Zellen, die die Stützgewebe aufbauen, sind fast immer stark verästelt (außer Knorpelzellen). Die Zellen bilden mit ihren Ausläufern ein Netzwerk, in dessen Maschen Interzellulärsubstanz liegt. Im Gegensatz zu den Epithelien ist diese Interzellulärsubstanz stets in so großer Menge vorhanden, daß die Zellen ihr gegenüber stark zurücktreten. Deshalb bezeichnet man die Interzellulärsubstanz der Stützgewebe meistens als die Grundsubstanz. Die jeweilige Beschaffenheit und Menge dieser Grundsubstanz bestimmt die mechanische Festigkeit der Stützgewebe. Man unterscheidet dementsprechend zwischen zellreichen, faserreichen und grundsubstanzreichen Stützgeweben. Zur ersten Gruppe gehören das embryonale Bindegewebe (Mesenchym, von dem sich alle anderen Stützgewebe ontogenetisch ableiten), das retikuläre Gewebe und das Fettgewebe. Zur zweiten Gruppe zählt das lockere Bindegewebe, das straffe Bindegewebe und das elastische Gewebe, während die dritte Gruppe Knorpel-, Knochen- und Zahngewebe umfaßt. Fast alle Stütz- und Bindegewebe zeichnen sich durch eine sehr hohe Regenerationsfähigkeit aus.

**Gallertartiges Bindegewebe.** Es kommt bei Säugern nur im Nabelstrang der Embryonen vor. Bei niederen Tieren ist es weit verbreitet. Der Flossensaum von lebenden Amphibienlarven wird untersucht. Zur Herstellung von Dauerpräparaten fixiert man einen Tag in Müllerscher Flüssigkeit (s. S. 188), wäscht in Wasser aus und zieht das Epithel unter Wasser auf einen Objektträger. Unter dem Deckglas wird mit Kernschwarz oder Hämalan (Färb. 16, 6) gefärbt und entwässert. Dann läßt man Balsam zufließen. Die Nabelschnur von Säugerembryonen wird in Zenker (Fix. 13) fixiert und mit Azan oder Hämalan-Eosin (Färb. 30, 29) gefärbt. Auch Schnitte durch junge Hühnerembryonen (3 bis 4 Tage alt) sowie Kaninchen- oder Mäuseembryonen werden untersucht (Chorda!). Junge Zahnkärpflinge, die noch den Dottersack tragen, können auf Objektträgern mit Hohlschliff untersucht werden. Die großen Chordazellen sind ohne Färbung am lebenden Objekt sichtbar.

**Lockerer Bindegewebe.** Die feinen Häute über den Muskeln der Bauchdecke kleiner Säuger enthalten lockeres Bindegewebe. Wenn mit einer feinen Spritze physiologische Kochsalzlösung unter die Häutchen gespritzt wird, so spannen sie sich und werden emporgehoben. Kleine Stückchen werden herausgeschnitten und in physiologischer Kochsalzlösung frisch untersucht. Im lockeren Bindegewebe sind elastische Netze und kollagene (leimgebende) Fasern zu sehen (s. Abb. 213/1). Auch zwischen den Muskeln befindet sich lockeres Bindegewebe, das auf die gleiche Weise entnommen werden kann.

Wenn man starke Neutralrotlösung durch das Präparat saugt, werden die Zellen getötet und die Kerne gefärbt. Wird Essigsäure durchgesaugt, so verschwinden die Kollagenfasern durch Aufquellung.

Zur Herstellung von Dauerpräparaten wird 10%iges Formalin unter die Haut gespritzt. Die emporgewölbte Haut wird mit Formalin beträufelt oder mit formalin-getränkter Watte belegt. Nach 30 Minuten wird die Haut in Stücke geschnitten und

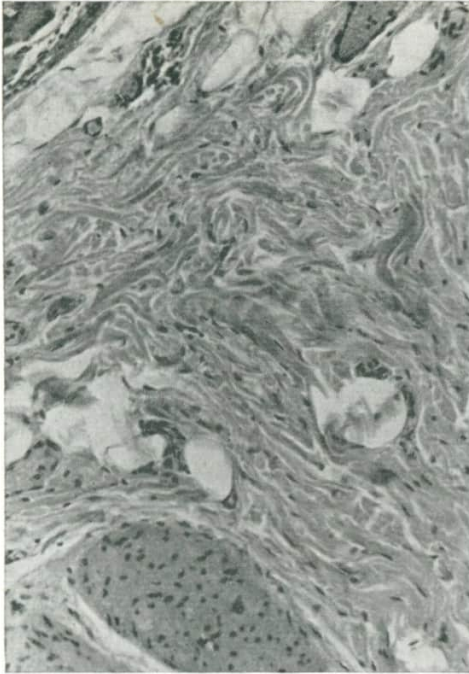


Abb. 213/1 Mensch (*Homo sapiens*); lockeres Bindegewebe aus der Verschiebeschicht des Dünndarms (60 : 1/135 : 1)



Abb. 213/2 Mensch (*Homo sapiens*); Sehne in gespanntem Zustand, straffes Bindegewebe (34 : 1/140 : 1)

nach Methode 9 (s. S. 163) mit Pikro-Nigrosin oder Hämalaun-Eosin (Färb. 5 oder 29) behandelt.

Ein Darmband eines Kaninchens gewinnt man wie auf S. 208 beschrieben und fixiert es in Formalin oder Zenker (Fix. 2, 13). Es wird bei enger Blende ungefärbt untersucht. Dabei werden viele kreuz und quer gespannte Fasern und Fäden sichtbar, zwischen denen ab und zu Fettzellen auftreten. Das Darmband wird  $\frac{1}{3}$  Stunde in Anilinblau-Orange G (s. Azan) gefärbt, in Alkohol differenziert und nach Methode 9 (s. S. 163) eingebettet. Die kollagenen Fasern treten blau hervor, die elastischen Fasern bleiben ungefärbt. Ein zweites Darmbandstück wird mit Hämalaun-Eosin gefärbt, die Kerne des Bindegewebes treten blauviolett hervor. Die Zellkörper sind schwer zu färben, die Bindegewebszellen sind jedoch oft mit Pigmenten gefüllt, also natürlich gefärbt.

Die glashellen Bindegewebshäutchen, die Eingeweide und Schwimmblase der Fische umgeben, enthalten viele pigmentgefüllte Bindegewebszellen. Man spannt ein kleines Hautstückchen auf einen trockenen Objektträger und läßt es ankleben, entwässert in Alkohol und schließt nach Methode 6 (s. S. 154) ein. Der Kern tritt manchmal als heller Hof hervor. Ein zweites Präparat wird mit Pikro-Nigrosin (Färb. 5) fixiert und gefärbt.

**Straffes Bindegewebe (Sehnengewebe).** Zur Untersuchung werden Sehnenbündel aus dem Schwanz einer Maus oder Ratte isoliert, in Kochsalzlösung zerfasert und unter-

sucht. Beim Durchsaugen von Essigsäure oder Karminessigsäure verquellen die Kollagenfasern, und die Kerne treten deutlich hervor. Die Sehnen werden einige Tage in Kalkwasser gelegt, ausgewaschen und auf dem Objektträger zerfasert. Zur Herstellung von Dauerpräparaten werden sie über einen Objektträger gespannt und dann in konzentrierter wäßriger Pikrinsäurelösung (Fix. 4) fixiert. Man entwässert, färbt im Stück mit Boraxkarmin, zerfasert und schließt in Gelatine ein. Querschnitte und Längsschnitte werden untersucht (s. Abb. 213/2).

Ein Stück Nackenband vom Rind wird in Kalilauge mazeriert und nach einer halben Stunde zerzupft. Die dabei isolierten elastischen Fasern werden mit 50%iger Essigsäure neutralisiert, in Wasser ausgewaschen und in Glyzerin-gelatine eingeschlossen. Das Nackenband wird in 80%igem Alkohol fixiert und längere Zeit gehärtet. Dann stellt man nach Methode 11 (s. S. 170) Querschnitte her und färbt sie mit Boraxkarmin oder Hämalaun-Eosin (Färb. 8, 29). Die Kerne erscheinen blauviolett, die elastischen Fasern rot, die kollagenen Fasern bleiben ungefärbt. Zu ihrer Darstellung muß der gefärbte Schnitt in Phosphormolybdänsäure gebeizt (20 Minuten) und mit Anilinblau nachgefärbt werden.

**Glasknorpel (Hyaliner Knorpel).** Schnitte von Knorpelgewebe (Methode 11; Knorpel läßt sich aus freier Hand gut schneiden) müssen unbedingt frisch in physiologischer Kochsalzlösung untersucht werden, da sie sich nur schlecht fixieren lassen. Die Interzellularsubstanz erschwert das Eindringen der Fixiermittel, so daß im fixierten Knorpel die Zellen oft mehr oder weniger verformt bzw. geschrumpft sind (Neutralrot durchsaugen!).

Glasknorpel wird an Schnitten durch Rippenknorpel junger Schlachttiere demonstriert. Man schneidet sie mit einem trockenen Rasiermesser und untersucht sie im Frischpräparat. Lugolsche Lösung wird durchgesaugt. Den Knorpel vom Oberschenkelkopf des Frosches fixiert man in dünnen Schnitten 15 bis 20 Minuten in 96%igem Alkohol (Fix. 1), färbt ihn in Boraxkarmin, differenziert mit HCl-Alkohol und schließt ein. Auch Färbung mit Hämalaun-Eosin oder Azan (Färb. 29 oder 30) ist geeignet (s. Abb. 215/1.) Von der Luftröhre kleiner Säuger oder vom Kopf junger Molchlarven werden Mikrotomschnitte angefertigt und mit Hämalaun-Eosin oder Azan (Färb. 29 oder 30) gefärbt. Schnitte vom Kopfkorpel der Kopffüßer (*Cephalopoda*) zeigen Knorpel, bei dem die Knorpelzellen durch Ausläufer untereinander verbunden sind.

**Bindegewebs- oder Faserknorpel.** Die Zwischenwirbelscheiben eines frisch geschlachteten Tieres werden herausgenommen, Handschnitte davon angefertigt und frisch untersucht. Für Dauerpräparate werden sie nach Methode 11 (s. S. 170) mit Alkohol oder Formalin fixiert und mit Boraxkarmin oder Hämalaun-Eosin gefärbt (Färb. 8 oder 29).

**Netz- oder elastischer Knorpel.** Von der Ohrmuschel eines Schlachttieres wird die Haut abgezogen. Man stellt Rasiermesserschnitte her und untersucht sie in physiologischer Kochsalzlösung (s. Abb. 215/2). Zum Färben wird Fuchsinlösung durchgesaugt. Die Herstellung von Dauerpräparaten erfolgt wie beim Faserknorpel.

Wenn bei der Untersuchung von Binde- oder Knorpelgeweben im Frischpräparat Zweifel auftreten, ob kollagene oder elastische Fasern vorliegen, hilft die Untersuchung im polarisierten Licht weiter. Die kollagenen Fasern sind positiv einachsig doppelbrechend, das heißt, sie leuchten unter gekreuzten Polarisationsfiltern in der Diagonale der Polarisations Ebenen auf.

**Knochengewebe.** Geeignetes Material für die Untersuchung entstehenden Knochengewebes enthalten Säugetierembryonen in frühen Entwicklungsstadien (s. Abb. 215/3). Als Material können Embryonen von Kleinsäugetern verwendet werden.

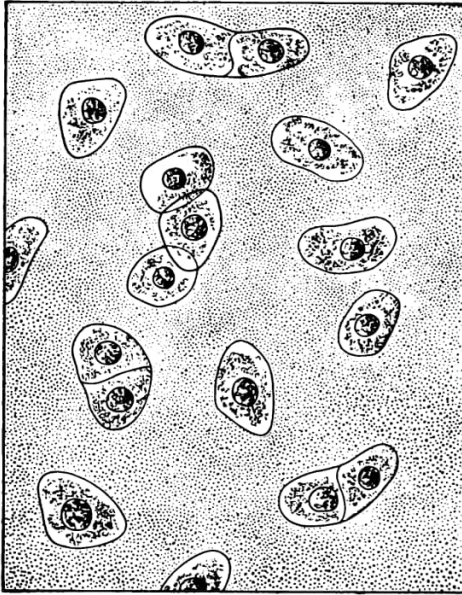


Abb. 215/1 Wasserfrosch (*Rana esculenta*);  
hyaliner Knorpel vom Oberschenkelkopf

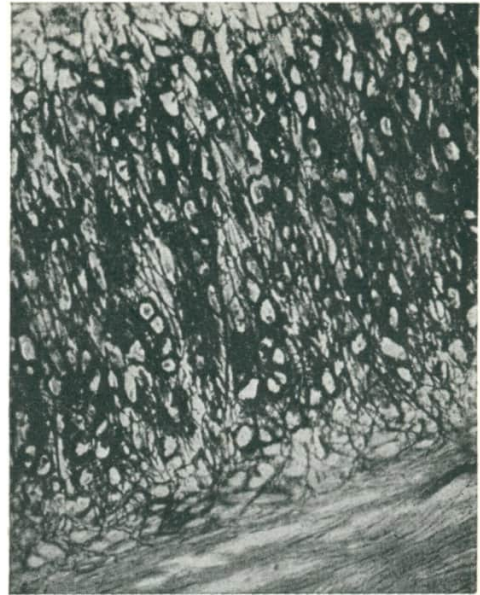


Abb. 215/2 Hausrind (*Bos taurus*); elastischer  
Knorpel aus der Ohrmuschel (die in der Inter-  
zellulärsubstanz liegenden elastischen Fasern  
sind schwarz gefärbt; 28 : 1/70 : 1)

Die Fixierung in Bouin (Fix. 11) dauert 1 bis 2 Wochen (Entkalkung); die Färbung erfolgt mit Hämalaun-Eosin (Färb. 29) oder Azan (Färb. 30).

Das Knorpelgewebe ist ein sehr stark differenziertes Stützgewebe. Es besteht aus Zellen und Grundsubstanzen mit kollagenen Fibrillen. Seine große Härte, Elastizität

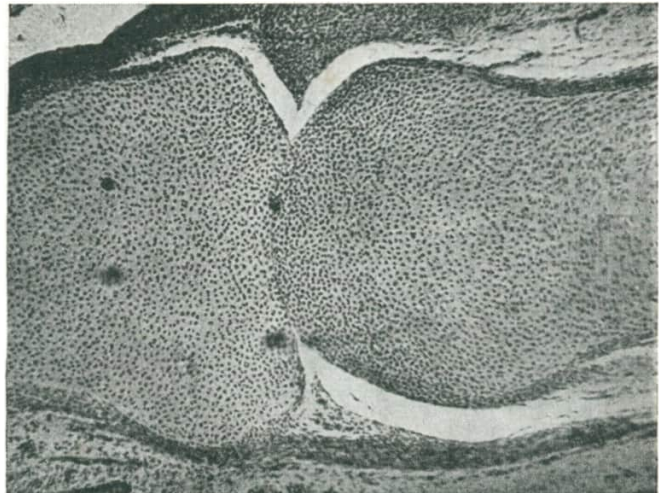


Abb. 215/3 Mensch (*Homo sapiens*); Längsschnitt  
durch das noch knorpelige  
Fingergelenk eines Em-  
bryos (6 : 1/15 : 1)

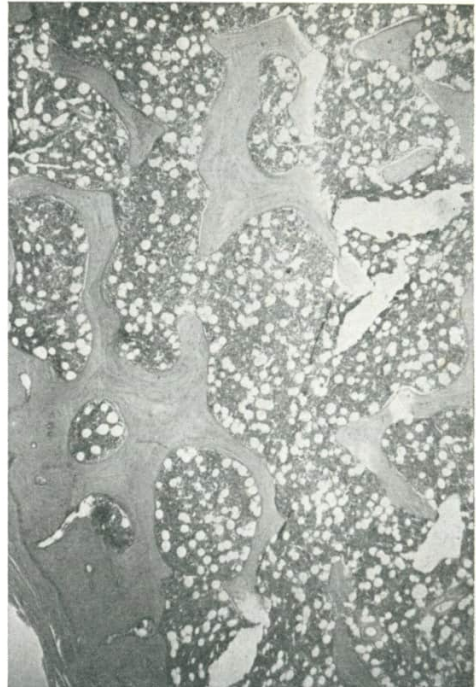
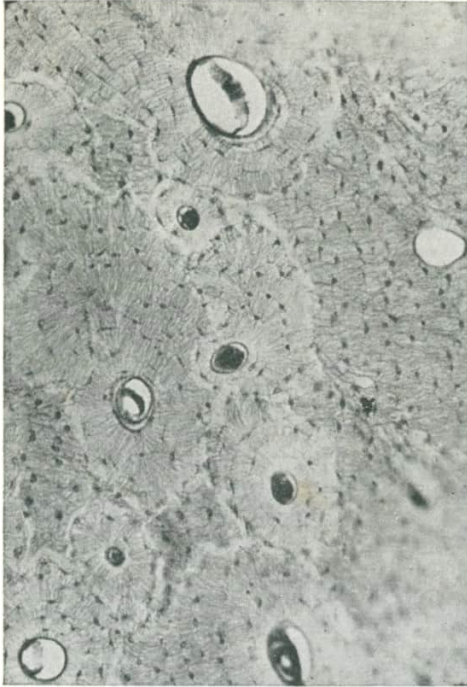


Abb. 216/1 Mensch (*Homo sapiens*); Querschnitt durch einen Röhrenknochen im Bereich der kompakten Substanz (links; 70 : 1/210 : 1) und der spongiösen Substanz (rechts; 20 : 1/60 : 1)

und Bruchfestigkeit sind darauf zurückzuführen, daß sich eine organische, elastische Grundsubstanz, das Ossein, und verschiedene Kalksalze sehr innig durchdringen. Dabei kann man durch Ausglühen oder durch Einlegen des Knochens in verdünnte Säuren entweder die organischen Bestandteile zerstören oder die anorganischen Bestandteile entfernen, ohne daß sich die äußere Form des Knochens und der Feinbau der übrigbleibenden Bestandteile wesentlich verändern. Darauf gründen sich die

beiden üblichen mikroskopischen Untersuchungsverfahren. Von entkalkten Knochen stellt man Dünnschnitte (s. S. 175), von ausgeglühten Knochen Dünnschliffe her (s. S. 181). Dünnschnitte zeigen besser die zelligen Bestandteile (s. Abb. 216/1), Dünnschliffe lassen die Knochenlamellen (Haverssche Lamellen) und Hohlraumssysteme besser erkennen (s. Abb. 182/1).

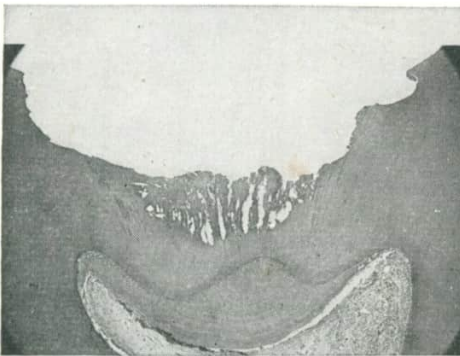


Abb. 216/2 Mensch (*Homo sapiens*); kariöser Zahn im Längsschnitt mit von der Pulpa ausgehender Dentinneubildung (10 : 1/25 : 4)

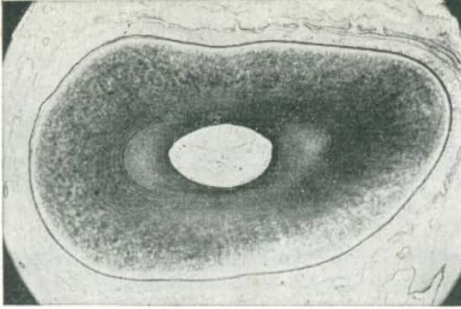


Abb. 217/1 Mensch (*Homo sapiens*); Querschnitt durch einen Schneidezahn (6 : 1/10 : 1)



Abb. 217/2 Mensch (*Homo sapiens*); Zahnentwicklung im Unterkiefer eines 6 Monate alten Embryos (10 : 1/24 : 1)

**Zahnbeingewebe.** Zähne werden wie Knochen entkalkt und geschnitten oder ausgeglüht und geschliffen (s. S. 175, 181; Abb. 217/1). Es ist sehr instruktiv, außer gesunden auch kariöse Zähne zu untersuchen.

Die Abbildung 216/2 zeigt einen kariösen Zahn. Die Demonstration und Erläuterung eines solchen Präparats im Unterricht trägt zur Gesundheitserziehung bei.

Zur Demonstration der Zahnentwicklung wird der Unterkiefer von Säugetierembryonen oder menschlichen Föten (5 bis 6 Monate alt) fixiert und entkalkt, die Schnitte werden mit Hämalaun-Eosin oder Azan (Färb. 29, 30) gefärbt (s. Abb. 217/2).

## Muskelgewebe

Während die funktionellen Besonderheiten der Stützgewebe von den außerhalb der Zellen gelegenen Interzellulärsubstanzen bestimmt werden, sind es beim Muskelgewebe innerhalb der Zelle selbst gelegene Differenzierungen, die ihm seine speziellen Leistungen ermöglichen. Die Muskelzellen enthalten in ihrem Plasma (Sarkoplasma) kontraktile, langgestreckte Muskelfibrillen. Liegt nur ein Kern in einer langen, spindelförmigen Zelle, so spricht man von einer Muskelzelle, liegen mehrere Kerne in oder an einer gemeinsamen Plasmamasse, so spricht man von Muskelfasern.

Ein Sarkolemm (Fleischhäutchen) grenzt einzelne Muskelfasern gegeneinander ab. Mehrere Muskelzellen oder -fasern werden durch lockeres Bindegewebe zu Muskelbündeln vereinigt. Viele Muskelbündel ergeben den Muskel, der seinerseits von der bindegewebigen Faszie umschlossen ist. Sowohl funktionell als auch strukturell wird glatte und quergestreifte Muskulatur sowie Herzmuskulatur unterschieden.

Bei Zölenteraten kommen umgebildete Epithelzellen vor (Epithelmuskelzellen), die an ihrer Grundfläche in verlängerten Fortsätzen Muskelfibrillen besitzen (Isolierung bei *Hydra* durch Mazeration; s. S. 167).

**Glatte Muskelzellen.** Sie lassen sich gut nach Methode 10 (s. S. 167) gewinnen. Der Magen eines Frosches wird zerschnitten, dann wird das Epithel abgeschabt. Kleine Stücke der Magenwand werden in 35%ige Kalilauge gelegt. Nach 20 bis 30 Minuten werden die Zellen durch Schütteln getrennt. Dünndarm- oder Aortenstücke kleiner Säuger werden genauso behandelt. Die Kalilauge wird abgegossen und das Präparat

mit Essigsäure neutralisiert (Lackmusprobe). Die Zellen werden in Glycerinwasser frisch untersucht. Für Dauerpräparate mazeriert man besser in Drittelalkohol und arbeitet nach Methode 9 (s. S. 163). Gefärbt wird mit Hämalaun oder Boraxkarmin (Färb. 6 oder 8).

Sehr gute Präparate, die den natürlichen Zusammenhang (Balkenzüge) der glatten Muskelzellen zeigen, liefern Stücke aus der Harnblase eines Frosches oder eines kleinen Säugers. Die Blase des getöteten Tieres wird entleert, dann mit absolutem Alkohol gefüllt, abgebunden, abgeschnitten und in absoluten Alkohol gelegt. Nach beendeter Fixierung werden kleine Stücke mit der Innenseite nach oben auf Korken oder Paraffinplatten festgesteckt, das Epithel mit einem weichen Pinsel abgerieben und die Stücke mit Boraxkarmin (Differenzierung in Pikrinsäure!) gefärbt. Die Weiterbehandlung erfolgt nach Methode 9 (s. S. 163). Gut gelungene Präparate zeigen langgestreckte, spindelförmige, hüllenlose Muskelzellen, die jeweils einen meist langgestreckten, mittelständigen Kern besitzen. Das Sarkoplasma erscheint völlig homogen, da die in ihm liegenden längsverlaufenden Fibrillen äußerst fein und nur unter besonderen Bedingungen erkennbar sind. Im vorliegenden Fall vereinigen sich die meisten Muskelzellen zu lockeren Muskelbündeln, die ein flächenhaft ausgebreitetes Netz bilden. Die Bündel werden durch Bindegewebe vereinigt. Feinste Gefäße bzw. Kapillaren liegen im Bindegewebe und dringen zum Teil auch in die Muskelbündel ein (s. Abb. 218/1). Auch Schnittpräparate vom Molluskenfuß und vom Magen eines Säugers sind sehr instruktiv.

**Quergestreifte Muskulatur.** Sie wird wie auf Seite 167 beschrieben verarbeitet. Die Flugmuskulatur des Gelbrandkäfers wird im Frischpräparat untersucht (polarisiertes Licht!). Für Schnittpräparate eignet sich die Zunge von Säugetieren. Die Verarbeitung erfolgt nach Methode 12, die Fixierung in Formalin (Fix. 2), Susa (Fix. 14) oder Kaformazet (Fix. 16). Gefärbt wird mit Hämalaun-Eosin (Färb. 29) oder noch besser mit Eisenhämatoxylin (Färb. 20, Gegenfärbung unnötig).

Die quergestreifte Muskelfaser ist ein Plasmodium. Plasmodien sind aus Einzelzellen durch wiederholte Kernteilungen entstandene vielkernige Plasmamassen.

In der quergestreiften Muskulatur des Bewegungsapparats liegen die in Vielzahl vorhandenen ovalen Kerne parallel zur Längsachse der Fasern dicht unter dem Sarkolemm. Die in dichten Bündeln liegenden Myofibrillen bestehen in regelmäßiger Folge aus stark färbbarer, in polarisiertem Licht doppeltbrechender (anisotroper) Substanz und schwach färbbarer, heller, einfachbrechender (isotroper) Substanz (s. Abb. 218/2).

Abb. 218/1 Wasserfrosch (*Rana esculenta*); querglatte Muskulatur aus der Wand der Harnblase (40 : 1/75 : 1)

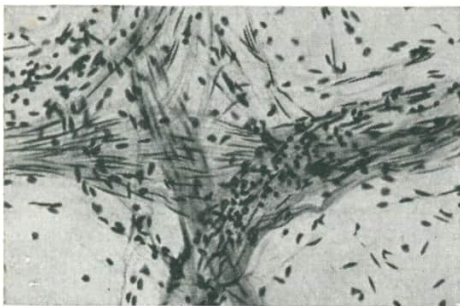
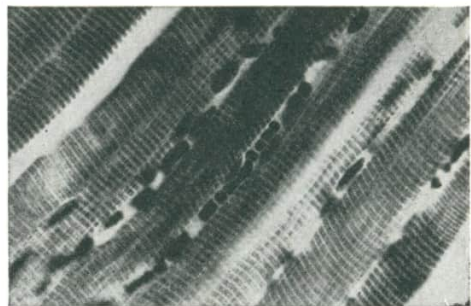


Abb. 218/2 Mensch (*Homo sapiens*); quergestreifte Muskulatur der Zunge im Längsschnitt (140 : 1/260 : 1)



Dadurch, daß in den nebeneinander liegenden Fibrillen entsprechende Streifen meist in gleicher Höhe liegen, entsteht der Eindruck der Querstreifung. Die überaus schnelle Kontraktionsfähigkeit der Skelettmuskulatur ist auf diese spezielle Ausbildung der Myofibrillen zurückzuführen.

Zur Präparation der **Herzmuskulatur** werden kleine Stücke, am besten aus den Papillen, in Kalilauge mazeriert (s. S. 169). Das Herz eines kleinen Säugers wird mit physiologischer Kochsalzlösung durchspült und in absolutem Alkohol (mehrmals wechseln!) oder Formalin fixiert. Die Präparate werden nach Methode 12 (s. S. 175) mit Eisenhämatoxylin oder Hämalaun-Eosin (Färb. 20, 29) behandelt.

Die Herzmuskulatur steht in ihrer Struktur zwischen glatter und quergestreifter Muskulatur. Sie besitzt eine Querstreifung wie die quergestreifte Muskulatur. Dagegen liegen die Kerne wie bei der glatten Muskulatur inmitten der Muskelfasern. Die einzelnen Herzmuskelfasern bilden miteinander ein großes Maschinenwerk. In den Maschen befinden sich Bindegewebe und Kapillaren. In bestimmten Abständen werden die Herzmuskeln von dunkler erscheinenden Querbändern durchzogen, den Ebnerschen Glanzstreifen, die für die Herzmuskulatur charakteristisch sind. Ihre Bedeutung ist ungeklärt.

## Nervengewebe

Nervengewebe ist mikroskopisch schwierig zu bearbeiten. Nervenzellen (Ganglienzellen) können durch **Mazeration** isoliert werden. Kleine, frische Stücke aus den Vorderhörnern des Rückenmarks eines Säugers kommen für 1 bis 2 Wochen in Drittelalkohol, werden im Reagenzglas durch Schütteln zerteilt und auf dem Objektträger völlig zerzupft, bis ein milchiger Brei entstanden ist. Durch ein Frischpräparat wird Methylblau gesaugt! Die gleiche Präparation gelingt auch mit Stücken aus dem Rückenmark des Frosches. Sehr gut mazeriert in diesem Falle 0,05%ige Chromsäure (0,1 g Chromsäure auf 200 cm<sup>3</sup> Aqua destillata). Diese Stammlösung soll vor dem Gebrauch noch einmal 1:9 mit Aqua destillata verdünnt werden. Die Rückenmarkstücke bleiben 3 bis 5 Tage in der Isolierflüssigkeit, werden dann mit Wasser abgespült und zerzupft. Man setzt Fuchsin- oder Eosinlösung zu und legt das Deckglas auf. Bei 200facher Vergrößerung treten viele der großen, pyramidenförmigen motorischen Vorderhornzellen sowie auch große rundliche, sensible Ganglienzellen aus einem Spinalganglion mit ihren Fortsätzen klar hervor. Diese beiden Präparationen sind sehr übersichtlich und daher für Demonstrationen im Unterricht zu empfehlen. Gute Bilder der motorischen Zellen ergeben ebenfalls Schnitte durch das Rückenmark eines Säugers (s. Abb. 219/1).

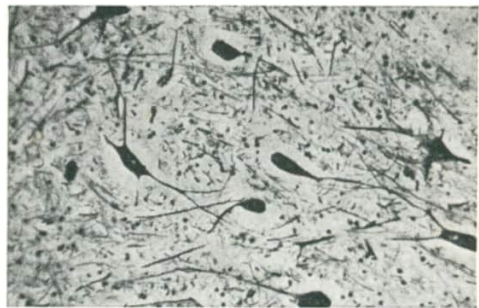


Abb. 219/1 Mensch (*Homo sapiens*); motorische Ganglienzellen aus dem Vorderhorn des Rückenmarks (35 : 1/65 : 1)



Sinnes- und Nervenzellen, motorische Endplatten und Nerven können durch **Vitalfärbung** mit Methylenblau klar hervorgehoben und in ihrer natürlichen Anordnung gezeigt werden (elektive Färbung). Als Untersuchungsobjekte können größere Insekten, Heuschrecken, Käfer, Hautflügler oder deren Larven dienen. Zur Vitalfärbung wird 1%ige Methylenblaulösung, physiologische Kochsalzlösung und eine 10%ige Traubenzuckerlösung benötigt. Vor der Verwendung wird im Verhältnis 2:2:1 gemischt. Dieses Gemisch muß dem lebenden Tier (z. B. einem Mehlwurm oder einer Heuschrecke) mit einer Injektionsspritze in die Leibeshöhle injiziert werden, bis der Körper deutlich anschwillt. Der Farbstoff muß 5 bis 60 Minuten einwirken. Je nach dem physiologischen Zustand des Versuchstiers, der Konzentration des Gemisches und der Einwirkungszeit werden verschiedene Organe angefärbt. Man beginnt die Versuche mit schwach chitinierten Objekten (z. B. Mehlkäferlarve), bei denen schon nach kurzer Färbezeit die blaugefärbten Ganglienzellen durch die Kutikula hindurch bei schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop zu sehen sind. In diesem Stadium wird das Objekt in physiologischer Kochsalzlösung auf der Rückenseite geöffnet, die Chitinplatten werden auseinandergezogen und festgeheftet. Der Darm wird abgehoben (er darf nicht verletzt werden!) und der Fettkörper entfernt; das blaugefärbte Nervensystem liegt jetzt frei. Man schneidet kleine Stücke heraus und untersucht sie im Frischpräparat. Teile der Chitinplatten und Tracheen werden frisch untersucht. Es muß schnell gearbeitet werden, da die Färbung in den überlebenden Zellen rasch zurückgeht. Die Nerven- und Sinneszellen sowie die Nervenfasern treten scharf konturiert hervor.

Zur Herstellung von Dauerpräparaten werden gut gefärbte Stücke in Sublimat-Kochsalzlösung fixiert (7 g Sublimat, 0,7 g NaCl, 100 cm<sup>3</sup> Aqua destillata). Besser fixiert allerdings eine 8%ige Lösung von Ammoniummolybdat (bis 24 Stunden Einwirkung), die den Farbstoff fest an die Gewebe bindet. Dann wird gründlich gewässert, sofort in 96%igem Alkohol übertragen, mit absolutem Alkohol und Xylol weiterbehandelt und in Balsam eingeschlossen. Trotz bester Fixierung verblässen solche Präparate oft. (Fotografieren, zeichnen!)

Das Bauchmark des Blutegels wird mit der Pigmenthülle herauspräpariert und in 0,1%ige Methylenblaulösung gelegt. Von Zeit zu Zeit nimmt man ein Ganglion heraus. Die Färbung beginnt meist in einem Seitennerv und setzt sich dann ins Ganglion fort. Tiefblau gefärbte Ganglien werden in Wasser abgespült und wie oben angegeben fixiert und eingeschlossen. Das Bauchmark des Regenwurms wird ebenso behandelt. Frische Hornhaut eines Frosches oder eines anderen Lurchs wird in 0,1%ige Methylenblaulösung gelegt. Dabei werden einzelne durchziehende marklose Nervenfasern angefärbt. Die weitere Bearbeitung erfolgt wie oben geschildert.

Kleine im Wasser lebende Arthropoden oder deren Larven werden in 0,1%iger Methylenblaulösung gehalten (z. B. Wasserflöhe, Mückenlarven, kleine Wasserasseln, Eintagsfliegenlarven). Sie werden lebend untersucht.

Kurze Abschnitte vom Hüftnerve (N. ischiadicus) eines Frosches werden in physiologischer Kochsalzlösung fein zerfasert und frisch untersucht. Anschließend werden 0,1%ige Methylenblaulösung und dann Aqua destillata durchgesaugt (markhaltige Nervenfasern!). Für Dauerpräparate werden kurze Stücke des Hüftnervs gestreckt an Streichhölzern festgebunden, in Formalin 1:10 fixiert, nach gründlichem Auswaschen im Stück mit Boraxkarmin gefärbt, entwässert und im Balsamtropfen zerzupft.

Dünne Nervenfasern des Frosches oder eines Säugers werden für 30 Minuten im Dunkeln in 0,3%ige Silbernitratlösung gelegt, 24 Stunden mit destilliertem Wasser (mehrfach wechseln) ausgewaschen, 30 Minuten mit Boraxkarmin gefärbt, entwässert

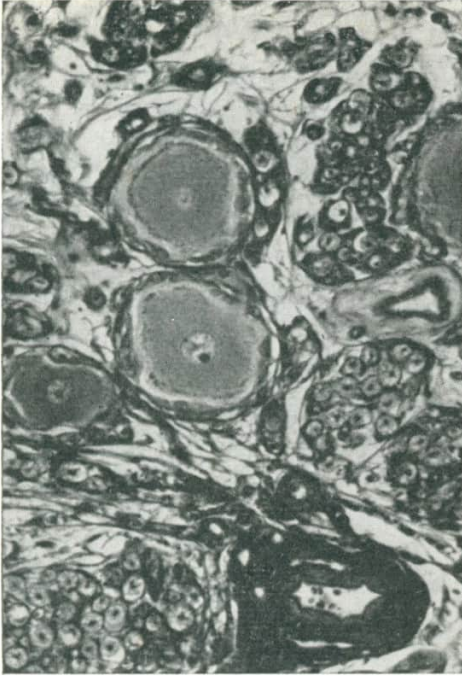


Abb. 221/1 Mensch (*Homo sapiens*); Spinalganglion mit Ganglienzellen (50 : 1/150 : 1)

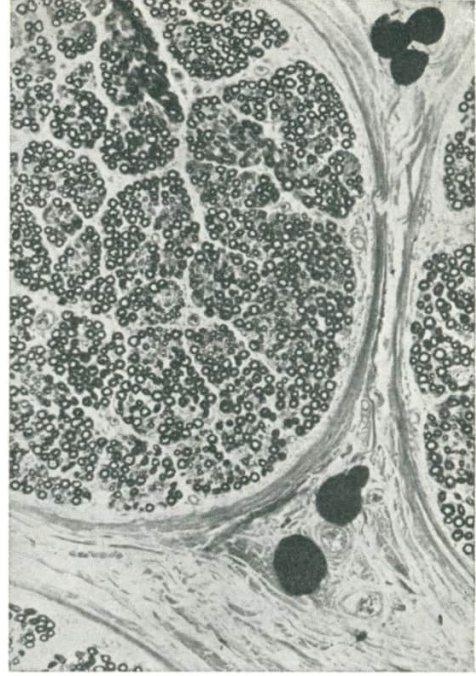


Abb. 221/2 Mensch (*Homo sapiens*); Querschnitt durch einen markhaltigen Nerv; Marscheidenfärbung (Schwärzung durch Osmiumtetroxid; 40 : 1/125 : 1)

und eingeschlossen. Zerzupft wird erst im Balsamtropfen. Nachdem solche Präparate einige Tage zerstreutem Tageslicht ausgesetzt waren, erscheinen die Achsenzylinder und Schnürringe braunschwarz, die Nervenfasern selbst aber rot.

Zur Versilberung von Rückenmark- und Gehirnschnitten s. S. 180. Mikrotomschnitte durch Teile des Zentralnervensystems (s. Farbtafel 3, Abb. d), durch spinale Ganglien (s. Abb. 221/1), Rückenmark (s. Abb. 219/1) und Nerven (s. Abb. 221/2) werden einige Tage in Formalin 1 : 10 fixiert, kurz und gründlich ausgewaschen, entwässert und in Paraffin eingebettet. Die Schnittstärke soll 15  $\mu\text{m}$  bis 20  $\mu\text{m}$  betragen. Gefärbt wird mit Eisenhämatoxylin oder Hämalaun-Eosin (Färb. 20, 29). Für Ganglienzellen ist auch Azanfärbung (Färb. 30) sehr geeignet.

Abbildung d auf Farbtafel 3 zeigt das Ergebnis einer Silberimprägnation nach Cajal bei Purkinjeschen Ganglienzellen aus der Kleinhirnrinde des Menschen. Bei Metallimprägnationsverfahren entstehen „Schattenbilder“, die bei gutem Gelingen der Präparation Zellen und Fortsätze bis in feinste Verästelungen hinein sehr klar und deutlich hervorheben. Zytologische Einzelheiten werden hingegen durch die Metallniederschläge weitgehend überdeckt.

## Vielzeller

### *Schwammtiere (Porifera)*

In Seen, Teichen und Flüssen kommen Süßwasserschwämme in mehreren Gattungen und Arten vor. Sie leben meist an seichten Stellen mit weniger als 2 m Wassertiefe. Die Schwammstücke sehen schmutziggelb, gelbgrün, bräunlich oder grün (einzellige Algen als Symbionten) aus. Sie überziehen krustenartig, oft auch höckerig oder baumförmig verzweigt untergetauchte Pflanzenteile, Steine und Wurzeln. Besonders häufig befinden sich Kolonien an abgestorbenen Schilfstengeln. *Spongilla lacustris* ist die häufigste Art.

Von dem Schwamm werden kleine Stücke abgebrochen und mit viel Wasser schnell eingetragen. Für Dauerpräparate wird das Material an Ort und Stelle mit absolutem Alkohol oder Schaudinn (Fix. 1, 12) fixiert. Zur Lebendbeobachtung werden kleine Schwammstücke auf dem Objektträger zerzupft und untersucht. Werden Deckgläser in die Kolonie eingestochen, dann überwächst sie der Schwamm nach einiger Zeit mit einer dünnen Gewebeschicht. Die Deckgläser werden einseitig gesäubert und mit Wachsfüßchen gestützt (Lebenduntersuchung!). Dabei muß das Wasser unter dem Glas mehrfach gewechselt werden. In Alkohol fixierte Schwämme werden mit einem Rasiermesser (Kieselnadeln!) in möglichst dünne Scheiben zerlegt und in Xylol untersucht. Gute Stücke können in Balsam eingeschlossen werden. Man kann Schwammteile auch in Paraffin einbetten und auf dem Handmikrotom schneiden. Die aufgeklebten Schnitte werden mit Hämalun (Färb. 6) gefärbt. Um die Kieselnadeln, die das Skelett der Süßwasserschwämme aufbauen, gut untersuchen zu können, legt man kleine Schwammstücke für einige Zeit zur Mazeration der Weichteile in frisches Eau de Javelle. Sie müssen eventuell kurz gekocht werden. Umschütteln fördert die Mazeration. Eau de Javelle wird vorsichtig abgegossen, der weißliche Rückstand mit Wasser ausgewaschen und in Wasser untersucht. Ist die Mazeration rechtzeitig unterbrochen worden, so sieht man nicht nur die Kieselnadeln, sondern auch ihre Verbindung durch die Kittsubstanz Spongiolin (s. Abb. 223/1). Gut gelungenes Material wird entwässert und in Balsam oder Glyceringelatine eingeschlossen.

Maziert man im Herbst gesammelte Schwämme, so befinden sich im Rückstand fast immer die rundlichen, relativ großen Gemmulae. Sie sind von einer doppelten Spongiolinhülle umgeben, in der viele stützende Kieselnadeln liegen. Sie enthalten embryonale Zellen. Die Gemmulae werden zerzupft (Kieselkörper zeichnen!). Dauerpräparate werden wie oben beschrieben angefertigt. Gute Präparate kann man auch herstellen, indem man Gemmulae in Salzsäure kocht, auswäscht und auf dem Objektträger zerdrückt. Süßwasserschwämme können kaum nach ihrer äußeren Form bestimmt werden. Zur Artbestimmung dienen vorwiegend die Form der Kieselnadeln sowie der Bau der Gemmulae.

Soll der histologische Aufbau eines marinen Schwammes studiert werden, so benutzt man den Kalkschwamm *Sycon raphanus* (Sycon-Typ). Man fixiert und entkalkt in Pikrinsäurealkohol, bettet ein und stellt Schnitte von 20 µm Dicke her. Der Aufbau eines Kalkschwammes wird an Flach- oder Querschnitten (s. Abb. 223/2) oder an Totalpräparaten kleinerer Arten untersucht.

Bei Schülerübungen lassen sich sehr leicht Präparate vom Spongiolingerüst des Badeschwammes (*Euspongia officinalis*) herstellen. Von einem ungebrauchten, trockenen Schwamm werden mit der Schere oder dem Rasiermesser möglichst dünne Scheiben

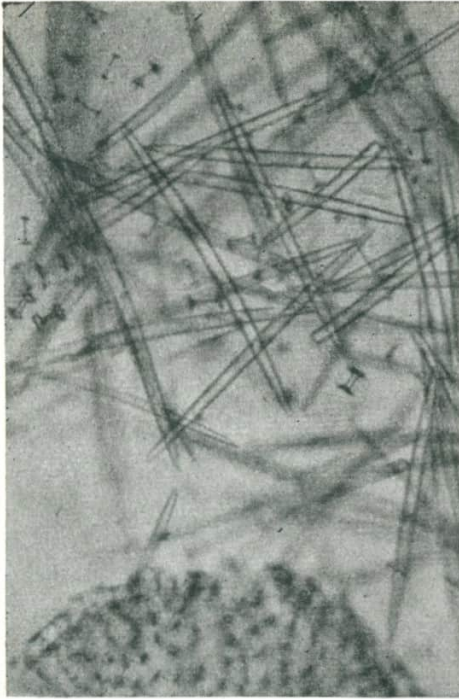


Abb. 223/1 Süßwasserschwamm (*Ephydatia fluviatilis*); Kieselnadeln (40 : 1/100 : 1)



Abb. 223/2 Kalkschwamm (*Sycon raphanus*); Kalknadelgerüst (45 : 1/110 : 1)

abgetrennt und nach Methode 1 (s. S. 139) in Gelatine oder Balsam eingeschlossen. Eine Färbung ist nicht erforderlich.

### *Hohltiere (Coelenterata)*

Süßwasserpolyphen sind in mehreren Arten in unseren stehenden Gewässern verbreitet. Sie sind jedoch nicht leicht zu finden. Am sichersten lassen sie sich dadurch beschaffen, daß Wasserlinsen, Tausendblatt, Wasserpest, Schilfstengel und andere Wasserpflanzen in ein Aquarium eingebracht werden, das keine Wasserschnecken und Strudelwürmer enthält. Nach einigen Tagen zeigen sich an den Scheiben (Lichtseite!) und am Boden die Polyphen. Sie lassen sich leicht züchten. Auch zoologische Handlungen und Aquarianer stellen aus ihren Aquarien Hydren zur Verfügung. Wenn die Hydren gut mit Kleinkrebsen und kleinen Mückenlarven gefüttert werden, vermehren sie sich bald sehr lebhaft durch Knospung. Um die Hydren zur Bildung von Geschlechtsorganen zu veranlassen, läßt man sie einige Zeit hungern. Das geschieht am besten im Herbst. Leider werden die Zuchten oft durch sogenannte Depressionen, bei denen die Tiere ohne erkennbaren Grund nach Nahrungsverweigerung eingehen, gestört.

Im Hohlsliffträger, in der feuchten Objektträgerkammer oder in der Küvette wird

lebend untersucht. Zur genauen systematischen Bestimmung müssen die 4 Arten der Nesselkapseln – Penetranten (Durchschlagkapseln), Volventen (Wickelkapseln), streptoline Glutinanten (gewundenfädige Klebkapseln) und stereoline Glutinanten (starrfädige Klebkapseln) – genau untersucht werden. Besonders wichtig sind dabei die Penetranten und Glutinanten.

Damit die Nesselzellen ausgeschleudert werden, wird 2%ige Essigsäure durchgesaugt. (Mazeration s. S. 169; Totalpräparate s. S. 154).

Sehr instruktive Bilder ergeben Querschnittpräparate (s. Abb. 224/1). Man fixiert mit heißer Sublimatlösung oder Sublimat-Eisessig, entwässert vorsichtig, bettet in Paraffin ein und färbt nach dem Schneiden mit Hämalaun-Eosin (Färb. 29).

An der Ostsee können die als „Seemoos“ bezeichneten Meerespolypenstöckchen, die an Molen, Buhnen und Pfählen häufig dicke Polster bilden, gesammelt werden. Frisches Material wird mit 40%igem Formalin anfixiert, mit schwächerer Lösung durchfixiert und in 70%igem Alkohol konserviert. Die Präparate werden mit Boraxkarmin, Alizarin-iridin oder Kernschwarz (Färb. 8, 9 oder 16) gefärbt und nach Methode 9 (s. S. 163)

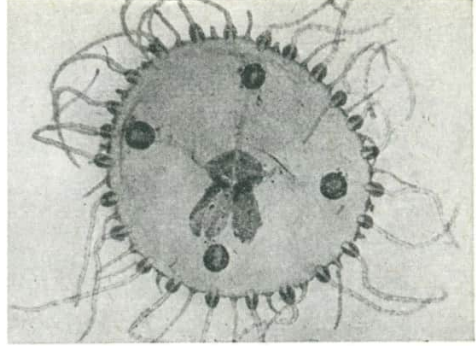
Abb. 224/1 Süßwasserpolyp (*Hydra* sp.) im Querschnitt; Ektoderm, Stützlamelle und Entoderm sind deutlich zu erkennen (150 : 1/240 : 1)



Abb. 224/2 *Laomedea geniculata*; Gonangien und Nährpolypen (10 : 1/28 : 1)



Abb. 225/1 *Obelia geniculata* (Meduse von *Laomedea geniculata*; 20 : 1/40 : 1)



behandelt. Sie zeigen kleine Polypenkolonien, die sich aus wurzelartigen Ausläufern (Hydrorhiza) erheben. Die verzweigten und meist geringelten Röhrchen laufen an ihren Enden in Polypenköpfe aus, die in kelchartigen Bechern (Hydrotheken) stehen. Außer diesen Nährpolypen kommen zum Beispiel bei *Laomedea* größere Becher (Gonotheken) vor, in denen die stark abgewandelten Geschlechtstiere (Gonophoren) sitzen (s. Abb. 224/2).

Der Bau der Medusen kann an den kleinen Hydroidmedusen, zum Beispiel der in der Nord- und Ostsee vorkommenden *Obelia*, gut studiert werden. Die Randbläschen oder Statozysten, die bei *Obelia* zu je zwei zwischen den vier Radiärkanälen liegen, enthalten Sinneshärchen und je einen rundlichen Statolithen (s. Abb. 225/1).

Ohrenquallen (*Aurelia aurita*) als Vertreter der Skyphomedusen sind mikroskopisch schwer zu bearbeiten. Geeignet sind herausgeschnittene Sinneskörper, die bei der Aufsicht von oben oder unten etwa fingerförmig erscheinen. Der Statolith besteht bei *Aurelia* aus vielen prismatischen Kristallen. Gute Präparate zeigen im Bereich des Statolithen die Lichtsinnesorgane. Sie bestehen aus einem bläschenartig eingestülpten Ozellus und einem Pigmentfleck. Auch die Gonaden eignen sich zur Untersuchung und histologischen Bearbeitung.

## Plattwürmer (Plathelminthes)

### Strudelwürmer (Turbellaria)

Strudelwürmer kommen in Bächen und Teichen unter Steinen und Blättern vor. Die etwa 1 cm langen Tiere werden vorsichtig aufgenommen, in ein Kleinaquarium gebracht und mit Muschel-, Schnecken- oder Regenwurmstückchen gefüttert.

Unter einem abgestützten Deckglas wird lebend beobachtet (Mikroprojektion!). Sehr instruktiv sind Regenerationsversuche. Um beispielsweise Tiere mit zwei Köpfen zu erhalten, spaltet man einer Planarie die Kopfregion, schiebt ein Stück Pergamentpapier hinein, damit die Wunde nicht zusammenwachsen kann, und hält das Tier warm und dunkel. In einem anderen Versuch wird ein Tier quer durchgeschnitten. Nach etwa 14 Tagen sind die Regenerationsvorgänge abgeschlossen. Jeder Teil hat sich zu einer lebensfähigen Planarie entwickelt.

Die Herstellung eines Totalpräparats erfolgt nach Methode 10 (s. S. 167). Bei größeren Exemplaren wird ein mit heißer Sublimatlösung benetzter Objektträger aufgelegt! Die

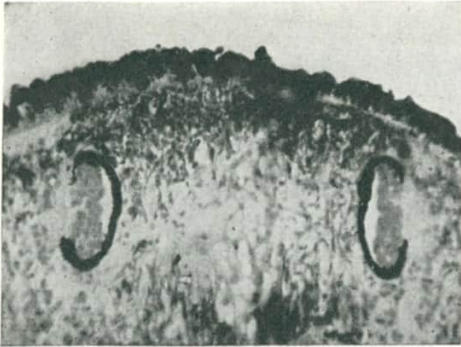


Abb. 226/1 Strudelwurm (*Planaria* sp.); Kopf mit vielzelligen Pigmentbecheraugen im Querschnitt (84 : 1/170 : 1)

Körperform der Planarien bleibt bei der Fixierung mit Sublimat-Salpetersäure (zu ihrer Herstellung werden gesättigte wäßrige Sublimatlösung, Salpetersäure und destilliertes Wasser im Verhältnis 1 : 1 : 1 gemischt) sehr gut erhalten.

Die Planarien werden ruckartig von hinten mit der heißen Flüssigkeit übergossen und kommen nach 1 bis 2 Minuten in absoluten Alkohol, in dem sie mehrere Stunden bleiben (Alkohol mehrmals wechseln; Jodieren!). Sublimatfixierte Tiere eignen sich nach Paraffineinbettung zur Herstellung von Querschnitten (nach Möglichkeit nicht im Bereich des Pharynx). Sie vermitteln eine gute Übersicht über die innere Organisation. Schräge Querschnitte in der Kopfregion, zum Beispiel von *Planaria gonocephala*, zeigen die vielzelligen paarigen Pigmentbecherzellen, die sich nach verschiedenen Seiten öffnen und nahe der Körperoberfläche liegen. Viele Lichtsinneszellen ragen in einen halbmondförmigen Pigmentbecher hinein (s. Abb. 226/1).

### Saugwürmer (Trematodes)

*Fasciola hepatica*, der große Leberegel (3 cm), und *Dicrocoelium lanceolatum*, der kleine Leberegel oder Lanzettegel (1 cm), leben in den Gallengängen von Schafen, Rindern, Ziegen und Pferden. Sie kommen selten auch beim Menschen vor. Durch Vermittlung eines Tierarztes kann man vom Schlachthof eine infizierte frische Leber erhalten. Die aus den Gallengängen entfernten Egel werden zwischen zwei Objektträgern vorsichtig gequetscht und als Frischpräparat untersucht. Die Untersuchungsflüssigkeit (physiologische Kochsalzlösung) muß möglichst warm gehalten werden.

Zur Herstellung eines Totalpräparats werden die Würmer zunächst kräftig mit schwacher Kochsalzlösung abgespült und dann wie Turbellarien in einer Objektträgerpresse fixiert (s. S. 168). Nach etwa einer Stunde werden sie zur restlosen Durchfixierung für weitere 24 Stunden in ein Schälchen mit Sublimatlösung gebracht. Die Würmer werden in 70%igem Alkohol aufbewahrt. Wird dem Alkohol ein Tropfen Karbolsäure zugesetzt, so tritt nach einigen Tagen eine haltbare Dunkelfärbung der Dottersäcke und -gänge ein. Sollen die Tiere gefärbt werden, so legt man sie für 1 Woche in Boraxkarmin und differenziert dann bis zu 5 Wochen in Salzsäurealkohol. Solche Totalpräparate zeigen in schöner Farbabstufung die innere Organisation (s. Abb. 227/1). Zur Herstellung von Querschnitten fixiert man besser mehrere Tage in Susa, Nawaschin oder Kaformazet (Fix. 14, 15, 16) und färbt mit Boraxkarmin, Eisenhämatoxylin, Hämalun-Eosin oder Azan (Färb. 8, 20, 29 oder 30).

Um die Entwicklungsstadien von Trematoden zeigen zu können, werden aus Wiesentümpeln, möglichst in einem Überschwemmungsgebiet, Wasserschnecken in großer Zahl geholt. Besonders häufig sind Schlamm- und Sumpfschnecken, oft Tellerschnecken und Sumpfschnecken infiziert. Um nicht unnötig viele Tiere töten zu müssen, werden die Schnecken einzeln in Gläser gesetzt und beobachtet. Aus befallenen Schnecken schwärmen bald Zerkarien aus. Befallenen Schnecken zerdrückt man vorsichtig das Gehäuse und entfernt die Schalenreste mit der Pinzette. Die Mitteldarmdrüse, die in den oberen Windungen des Eingeweidetraktes liegt, sieht bei infizierten Tieren völlig weiß aus. Man zerzupft sie in physiologischer Kochsalzlösung und untersucht die dadurch freiwerdenden Sporozysten und Redien im Frischpräparat (Zusatz von Neutralrot; Beobachtung im Dunkelfeld). Für Dauerpräparate vorgesehene Objekte werden mit Sublimat, Schaudinn, Zenker, Susa oder Nawaschins Gemisch (Fix. 5, 12, 13, 14 oder 15) fixiert, mit Boraxkarmin, Alizarinviridin oder Kernschwarz (Färb. 8, 9 oder 16) gefärbt und nach Methode 9 (s. S. 163) präpariert. Dauerpräparate sind auch hier nur ein Notbehelf.

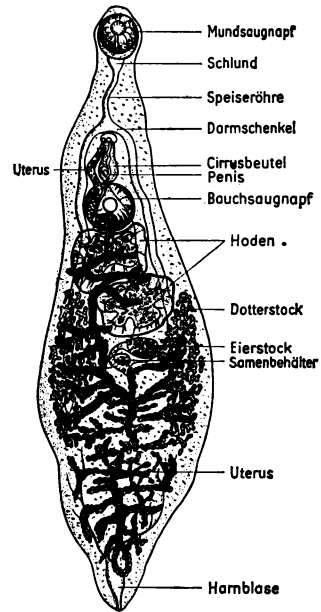


Abb. 227/1 Lanzettegel (*Dicrocoelium lanceolatum*)

## Bandwürmer (Cestodes)

Alle Bandwürmer sind Entoparasiten. Lebendes Untersuchungsmaterial findet man relativ häufig beim Sezieren von Fischen, Lurchen, Vögeln und Säugern (speziell Hunden und Katzen). Durch Vermittlung von Tierärzten oder Schlachthofleitern kann man fäulnisreiches Fleisch bekommen, Ärzte und Krankenhäuser können ab und zu Scharmatzer des Menschen zur Verfügung stellen.

Lebende Würmer werden vorsichtig mit physiologischer Kochsalzlösung abgespült und in einer Objektträgerpresse mit Formalin 1 : 10 oder Sublimat fixiert (Fix. 2, 5). Mit lebendem Material muß man sehr vorsichtig umgehen; es besteht Infektionsgefahr! Für Schülerübungen wird ausschließlich konserviertes Material benutzt! Von sehr langen Würmern, zum Beispiel dem Rinderfinnenbandwurm *Taenia saginata*, fixiert man einzelne Glieder, und zwar einige reife mit Eiern und einige mittelreife mit vollständiger Ausbildung des Geschlechtsapparats. Gefärbt wird (sehr lange!) mit Boraxkarmin oder Hämalaun (Färb. 8, 6). Dann wird 2 bis 3 Tage lang differenziert und in Neutralbalsam eingeschlossen.

Der Kopf des Rinderbandwurms ist sehr schwer zu gewinnen. Sollte es gelingen, fixiert und färbt man ihn wie oben angegeben. Wesentlich leichter lassen sich Köpfe aus erbsengroßen Finnen des Schweinefinnenbandwurms (*Taenia solium*) beschaffen (s. Abb. 228/1). Die Finnen werden durch Zerzupfen der Muskelfasern isoliert und dann





Abb. 228/1 *Taenia solium*; Kopf und junge Glieder (10 : 1/25 : 1)

zwischen zwei Objektträgern gepreßt, bis sie platzen. Dabei wird fast immer der nach Art eines Handschuhfingers in die Finnenblase eingestülpte Kopf nach außen gedrückt. Die ganze Arbeit muß in hochprozentigem Alkohol erfolgen. Die ausgestülpten Köpfe bleiben unter Druck einen Tag zur Härtung darin liegen. Sie werden dann mit Boraxkarmin gefärbt und in Balsam eingeschlossen. Auch Köpfe und Finnen anderer Arten können in dieser Weise präpariert und untersucht werden (s. Abb. 228/2, 228/3).

Äußerst instruktiv sind Totalpräparate von *Echinococcus granulosus*, dem Hundebandwurm oder Hülsenwurm. Die Finne dieses Bandwurms kommt auch im Menschen vor und kann durch ihre Größe (bis Faustgröße) schwerste Erkrankungen hervorrufen. Sie vermehrt sich vegetativ

und bildet Tochterblasen, die sich weiter teilen können. So entsteht ein Gebilde mit einer großen Menge von Köpfen. Schnitte oder Ganzpräparate einer *Echinococcus*-Blase sind sehr anschaulich.

Um die Eier von Bandwürmern kennenzulernen, zerzupft man reife Glieder und untersucht unter Zusatz von Glycerin, das stark aufhellend wirkt. Solche Präparate

Abb. 228/2 *Taenia crassicollis*; Finne im Längsschnitt (10 : 1/30 : 1)

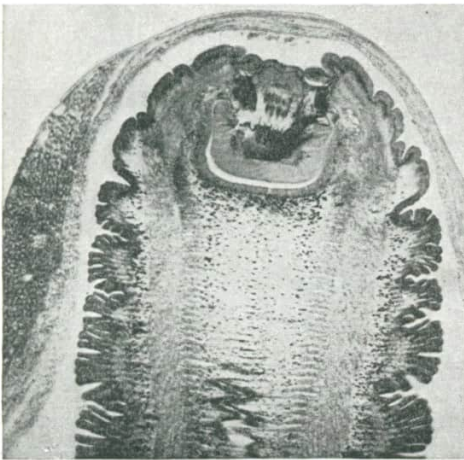
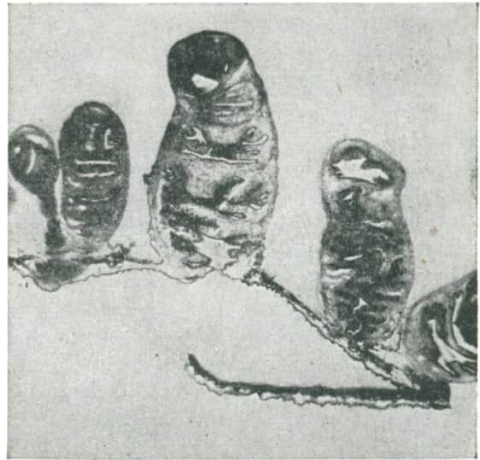


Abb. 228/3 Quesenbandwurm (*Multiceps multiceps*); Finnenblase mit zahlreichen Köpfen im Zentralnervensystem von Wiederkäuern (9 : 1/20 : 1)



zeigen auch Embryonen, da sich in den Eiern oft schon vor dem Freiwerden des Gliedes die sogenannten Sechshakenlarven (Onkosphären) entwickeln.

Querschnitte durch reife Bandwurmglieder ergeben recht instruktive Bilder und können notfalls zwischen Holundermark (Meth. 11, s. S. 170) hergestellt werden. Die Glieder werden mit Sublimat, Bouins Gemisch oder Susa (Fix. 5, 11 oder 14) behandelt, die Schnitte mit Hämalaun, Safranin, Hämalaun-Eosin oder Azan (Färb. 6, 10, 29 oder 30) gefärbt.

### *Rundwürmer (Nematodes)*

Die Trichine (*Trichinella spiralis*) kommt in Schweinen heute kaum noch vor. Ratten haben jedoch relativ häufig eingekapselte Trichinen in der Kaumuskulatur, im Zwerchfell und in den Zwischenrippen- sowie in den Rückenmuskeln. Frische Muskelteile werden sofort lange in Formalin oder Nawaschin (Fix. 2, 15) unter Pressen fixiert. Sie werden ausgewaschen, in etwa 1 mm lange, der Faserrichtung der Muskeln folgende Schnitte zerlegt und ebenfalls gepreßt. Frisches Material darf nicht liegenbleiben; es besteht Infektionsgefahr! Die Objekte werden einige Tage in Boraxkarmin gefärbt (Färb. 8) und dann mit Pikrinsäure differenziert. Auch die fertigen Dauerpräparate müssen noch längere Zeit gepreßt werden. Dazu dienen Federklammern.

Beim Menschen siedeln sich die Trichinen neben dem Zwerchfell und der Zwischenrippenmuskulatur oft auch in der Zunge an. Die in der Abbildung 230/1 in Anschnitten zu sehenden spiralig zusammengerollten Nematoden liegen einzeln innerhalb weizenkornförmiger Kapseln in der Muskulatur.

Lebende, gut durchsichtige Nematoden findet man beim „Tümpeln“ das ganze Jahr hindurch im Schlamm aller Faulwässer. Sie fallen durch ihre Größe und die unablässigen peitschenartig-schlängelnden Bewegungen auf und lassen meist sehr gut die 3 Abschnitte des Darms (den muskulösen Vorderdarm, den Mitteldarm und den kurzen, muskulösen Enddarm) erkennen. Recht häufig treten *Dorylaimus*-Arten (Kutikula glatt, bis 1 mm lang) und *Diplogaster*-Arten (Kutikula geringelt, bis 2,6 mm lang) auf.

Fadenwürmer kann man züchten, indem Regenwürmer in 10%igem Alkohol getötet, gut abgespült und, in Stücke zerteilt, auf feuchte Humuserde (im Blumentopf) gelegt werden. Die Blumentöpfe sollen an einem kühlen, dunklen Ort unter einer Glasglocke stehen. Die Erde muß sehr feucht gehalten werden. Nach einigen Tagen erscheint rund um die Regenwurmstücke ein weißlicher Schleim, der aus Nematoden und ihren Eiern besteht (Arten der Gattungen *Rhabdites* und *Diplogaster*).

Mit einem feuchten Pinsel oder einer feinen Pipette werden die Würmer in einen Wassertropfen übergeführt und lebend untersucht (Neutralrot; Färb. 1). Diese sehr durchsichtigen Erdnematoden zeigen die innere Organisation deutlich. Häufig sind Männchen und Weibchen in Begattung zu beobachten. Außerdem sind Larven vorhanden. Es gibt kaum ein leicht beschaffbares Objekt, an dem die Vorgänge der Befruchtung, Furchung und Eientwicklung im Frischpräparat besser studiert werden können. Allerdings ist dazu mindestens 400fache Vergrößerung notwendig.

Um Furchungs- und Larvenstadien noch besser beobachten zu können, zerteilt man einige Weibchen mit der Lanzettnadel und quetscht durch leichten Druck auf das Deckglas die Eier aus ihnen heraus. Nach dem Durchsaugen von Karminessigsäure oder Methylgrün-Essigsäure treten die Kerne deutlicher hervor.

Zur Herstellung von Dauerpräparaten werden ganze Würmer in absolutem Alkohol



Abb. 230/1 Mensch (*Homo sapiens*); Trichinose der Zunge (50 : 1/120 : 1)

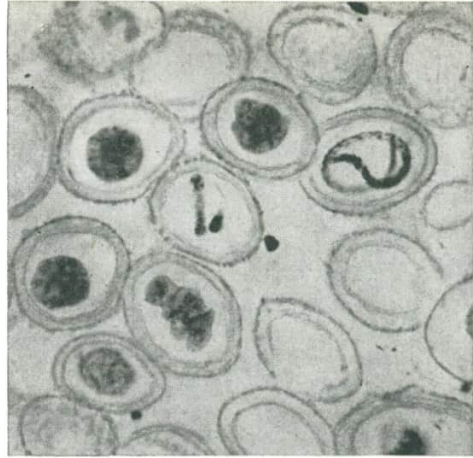


Abb. 230/2 Pferdespulwurm (*Parascaris equorum*), Uterus quer; Eier mit Furchungsstadien und Embryonen (250 : 1/620 : 1)

oder Alkohol-Formalin (Fix. 1, 9) gründlich fixiert, im ganzen mit Boraxkarmin (Färb. 8) mehrere Tage gefärbt und ebenso lange in Pikrinsäure differenziert. Nach Methode 10 (s. S. 167) wird ein Zupfpräparat hergestellt. Man kann auch in heißem 30%igem Alkohol mit einem Zusatz von 10% Glycerin fixieren, den Alkohol staubgeschützt verdunsten lassen und dann die in reinem Glycerin liegenden Nematoden in Glyzeringelatine einschließen.

Eines der „klassischen“ Objekte zum Studium der Mitose, Befruchtung und Ei-entwicklung ist der Pferdespulwurm (*Parascaris equorum*).

Man beschafft sich die Tiere, möglichst im Winter, aus Roßschlächtereien und trägt Weibchen im Pferdekot oder in einer angewärmten Thermosflasche schnellstens ein. Die Weibchen sind länger und vor allem dicker als die Männchen, deren Hinterende spiralförmig eingerollt ist.

Die weiblichen Tiere werden in erwärmter physiologischer Kochsalzlösung im Präparierbecken mit Stecknadeln so festgelegt, daß die Rückseite zum Präparator zeigt. Dann öffnet man vorsichtig mit der Schere den Wurm etwas seitlich der Rückenlinie. Die Hautteile werden zur Seite geklappt und mit Nadeln festgesteckt. Beim Öffnen frischer Spulwürmer entweichen flüchtige Stoffe, die Hautjucken, Augenstechen und Erbrechen hervorrufen können. (Vorsicht; am offenen Fenster arbeiten!) Die Geschlechtsöffnung liegt im vorderen Körperdrittel. Der Geschlechtsapparat beginnt mit einer Scheide, die sich in zwei dicke Uteri gabelt, die ihrerseits in die Eileiter und schließlich in die fadenförmigen Eierstöcke übergehen.

Die Uteri werden in 1 cm bis 2 cm lange Stücke geschnitten, die zur Fixierung für mindestens 12 Stunden in ein Gemisch von absolutem Alkohol und Eisessig 1 : 1 oder Carnoy's Gemisch kommen. Im Fixiermittel zerzupft man die Stücke und legt so die Eier frei, die von einer dicken, schwer durchlässigen Schale geschützt werden. (Vorsicht, Infektionsgefahr!) Teile des Uterus, die nahe der Scheide entnommen werden, enthalten

befruchtete, schon in Furchung befindliche Eier. Manchmal sind in den Eiern auch wurstförmige Embryonen vorhanden (s. Abb. 230/2). Näher dem Eierstock zu gelegene Uterusteile liefern noch unbeschaltete, unbefruchtete Eier und zahlreiche große, freie, keilförmige Spermien mit glänzendem Innenkörper. Die Uterusstücke werden getrennt fixiert. Wenn das Material gut durchfixiert ist, wird es 24 Stunden in Boraxkarmin gefärbt und mit 70%igem Pikrinsäurealkohol differenziert. Dann kommt es in absoluten Alkohol. Dem letzten Alkohol wird Glycerin im Verhältnis 3:1 zugesetzt. Man läßt den Alkohol an einem staubgeschützten Ort verdunsten, bis die Eier in reinem Glycerin liegen und schließt sie dann in Glyzeringelatine oder, nach üblicher Vorbereitung, in Balsam ein.

Die Eier verschiedener Entwicklungsstufen zeigen häufig Kernteilungsvorgänge (Mitose, Meiose), die auf Grund der geringen Chromosomenzahl (4) bei allerdings mindestens 500facher Vergrößerung gut zu beobachten sind. Schnittpräparate von Eiröhren, die mit Carnoy oder heißem Sublimatalkohol fixiert wurden, zeigen die geschilderten Zustände noch deutlicher, sind aber schwierig herzustellen, da sich die hartschaligen Eier schlecht schneiden lassen.

Zur Herstellung von Querschnitten durch *Ascaris* werden kurze (!) Stücke in Carnoy oder heißem Sublimatalkohol fixiert (Fix. 10, 12), in Paraffin eingebettet, geschnitten und mit Hämalun-Eosin oder Azan gefärbt (Färb. 29, 30).

Viele Nematoden schmarotzen in Wirbeltieren. *Enterobius vermicularis* lebt, vor allem bei Kindern, im Dünn- und Dickdarm, wo auch *Ascaris lumbricoides* (Spulwurm) vorkommt. Ärzte können beide Arten manchmal zur Verfügung stellen.

Die Älchen (*Anguillulidae*) treten als Schädlinge an Kulturpflanzen auf. Das Rübenälchen (*Heterodera schachtii*) lebt an den Wurzeln von Beta-Rüben, kommt aber auch an Kohlarten vor. Die Gichtkrankheit der Weizenkörner wird durch das Weizenälchen (*Anguina tritici*) verursacht. Dieses Älchen ruft in den Weizenähren Gallen hervor. In ihnen entwickeln sich die Larven. Sie können in einen scheinodartigen Zustand (Anabiose) verfallen und so viele Jahre überdauern (1 bis 2 Jahrzehnte). Gichtweizen ist nur noch relativ selten zu finden.

Wird ein von Weizenälchen befallenes Korn aufgeweicht und etwas von dem gelblichen Inhalt auf einen Objektträger gegeben, so sind die sich windenden Larven zu sehen. Jüngere Larven kann man auf dem Objektträger eintrocknen lassen. Dieses „lebende Dauerpräparat“ ist nach Wasserzusatz wieder zu Demonstrationen zu verwenden. Mehrfaches Eintrocknen schadet meist nicht. Essigälchen leben in stark verdünntem, gärendem Essig oder in sauer gewordenem Kleister.

### *Ringelwürmer (Annelida)*

Sehr instructive Bilder ergeben Querschnitte (s. Abb. 232/1) durch die mittlere Körperregion vom Regenwurm (*Lumbricus terrestris*), durch die im 9. bis 12. Segment liegenden Geschlechtsorgane sowie Längsschnitte durch die vordere Körperregion.

Da der Darm der Regenwürmer mit Erde gefüllt ist, die beim Schneiden das Mikrotommesser sowie die feinen Schnitte selbst beschädigen würde, werden die Würmer wie folgt vorbehandelt: Sie werden in ein großes Glas mit angefeuchtetem Filtrierpapier gesetzt, das täglich erneuert werden muß. Sie fressen das Filtrierpapier und geben so lange erdigen Kot ab, bis der Darm mit dem weichen Papier gefüllt ist. Dann kann der Wurm durch 10%igen Alkohol oder Chloroformwasser betäubt, in 1 cm bis 2 cm lange



Abb. 232/1 Regenwurm (*Lumbricus* sp.) im Querschnitt; Hautmuskelschlauch, Rücken- und Bauchgefäß, Darm und Ausscheidungsorgane sind deutlich zu sehen (6 : 1/15 : 1)

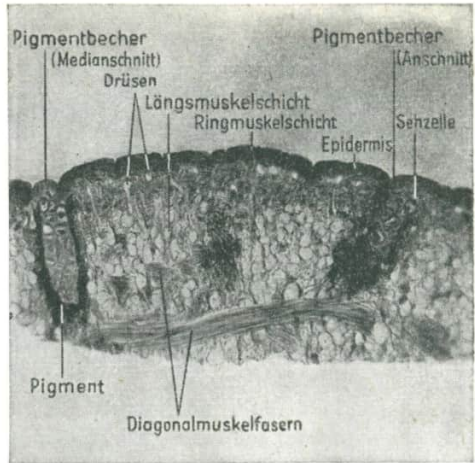


Abb. 232/2 Pferdeegel (*Haemopsis sanguisuga*); vielzellige Pigmentbecheraugen (50 : 1/80 : 1)

Stücke geschnitten und in heißem Sublimataalkohol, Susa oder Bouin (Fix. 12, 14, 11) fixiert werden. Vorher kann man, selbstverständlich äußerst vorsichtig, den Darm noch mit physiologischer Kochsalzlösung (Pipette) ausspülen und so die Fließpapierrückstände entfernen. Die aufgeklebten Schnitte werden mit Hämalaun-Eosin oder Azan gefärbt.

Auf die Untersuchung der Samenblasen im Frischpräparat wurde schon hingewiesen (s. S. 196). Sehr instruktiv ist der folgende Versuch. Man spült einen lebenden Wurm gut ab, trocknet ihn zwischen Fließpapier und legt ihn auf einen Objektträger. Wird der Wurm nun mechanisch oder durch schwache Erwärmung gereizt, so scheidet er aus den Rückenporen ein helles Sekret aus, das Lymph- und Chloragogenzellen enthält. Die ausgeschiedenen Chloragogenzellen sind gelblichbraun gefärbt und umkleiden im normalen Zustand die Darmwand. Die kleinen Lymphzellen führen amöboide Bewegungen aus und verschmelzen in den Präparaten meist bald zu Plasmodien. Auf sehr starke Reize stößt der Wurm auch länglich geformte Drüsenzellen der Epidermis aus. Die Borsten können leicht freigelegt werden, indem die Würmer in Kalilauge eingelegt oder gekocht werden (Mazerieren). Man färbt mit Kernschwarz oder Eosin (Färb. 16, 11) und schließt nach Methode 4 (s. S. 149) ein. Sehr viele Borsten findet man bei der Untersuchung des Darminhalts von Maulwürfen.

Fast alle Regenwürmer (etwa 80%) beherbergen die Larven des Fadenwurms *Pelodera pello*. Anschnitte solcher Larven in Querschnittspräparaten der Würmer führen häufig zu Trugschlüssen.

Beim Sezieren fallen bei fast allen Regenwürmern kugelige, in der Leibeshöhle liegende Gebilde auf. Sie kommen gehäuft in den letzten 8 bis 12 Segmenten vor. Diese Segmente sind an der leichten Schwellung schon rein äußerlich leicht zu erkennen. Zerdrückt man ein solches Gebilde in einem Wassertropfen, so sieht man unter dem Mikroskop, daß es aus Gregarinenzysten, abgestorbenen und in die Leibeshöhle ge-

fallenen Borsten sowie vor allen Dingen aus Nematoden besteht, die meist spiralg aufgerollt liegen, zum Teil auch schon abgestorben sind. Die Grundsubstanz dieser Gebilde besteht aus den schon genannten Lymph- und Chloragogenzellen.

Süßwasseroligochaeten leben im Schlamm stehender und langsam fließender Gewässer. Man mustert Schlammproben durch; *Chaetogaster* (an und in Süßwasserschnecken), *Stylaria* (bildet Tierketten bis zu 18 mm Länge), *Tubifex* und andere werden lebend untersucht. Zur Herstellung von Dauerpräparaten wird heißer Sublimatalkohol plötzlich von hinten über die Tiere gegossen. Man färbt mit alkoholischer Boraxkarminlösung, Alizarinviridin, Kernschwarz oder Hämalun-Eosin (Färb. 8, 9, 16, 29) und schließt nach Methode 9 ein.

Egel (*Hirudinea*) findet man in sumpfigen Gräben, Tümpeln, Teichen und Flüssen, an Wasserpflanzen und Steinen. Man nimmt die Steine auf und mustert genau ihre Unterseite. Im Frühjahr sind auch in Planktonfängen kleinere Egel zu finden. Beim Entschlammern und Entkrauten von Teichen kann besonders leicht Material gewonnen werden. Am häufigsten kommen der Pferdeegel (*Haemopsis sanguisuga*) sowie Arten der Gattungen *Nepheleis*, *Herpobdella* und *Clepsine* vor. Auf Karpfen und Schleien schmarotzen oft Fischegel (*Piscicola*).

Kleine Individuen werden lebend untersucht. Zur Herstellung von Totalpräparaten werden die Tiere in Objektträgerpressen mit Formalin, Bouin, Schaudinn oder Susa (Fix. 2, 11, 12 oder 14) behandelt und ungefärbt oder mit Boraxkarmin gefärbt (Differenzierung mit Pikrinsäure) eingeschlossen. Größere Egel werden zur Herstellung von Schnittpräparaten in 10%igem Alkohol betäubt und wie Regenwürmer weiterbehandelt. Querschnitte durch die Kopfregion treffen oft die tief eingesenkten, vielzelligen Pigmentbecheraugen (s. Abb. 232/2). Um die Kiefer der Blutegel zu gewinnen, wird das Vorderende in verdünnter Kalilauge gekocht. Die weitere Behandlung erfolgt wie bei einem Chitinpräparat.

Gemeine Blutegel (*Hirudo medicinalis*) kommen freilebend relativ selten vor. Durch Apotheken oder Zoohandlungen können sie jedoch beschafft werden.

## Gliederfüßer (*Arthropoda*)

### Krebse (*Crustacea*)

Das Plankton unserer Binnengewässer enthält in der warmen Jahreszeit verschiedene Arten von Kleinkrebsen. Fast bei jedem Fang findet man im Planktonnetz Ruderfüßer (Hüpferlinge), Blattfüßer (Wasserflöhe) und Muschelkrebse (Ostrakoden). Während der kalten Jahreszeit, auch bei Eisbedeckung, fängt man vorwiegend Hüpferlinge und deren Larven. Für den Fang von Planktonkrebsen eignen sich erfahrungsgemäß die frühen Morgen- und die späten Abendstunden am besten. Viele Arten, wie die sehr große, glasig durchsichtige *Leptodora*, können in großen Seen nur nachts gefangen werden, da diese Krebse erst dann aus größeren Tiefen an die Oberfläche steigen. In dichten Wasserpflanzenbeständen lebt *Crystallina*, in moorigen Tümpeln *Polyphemus*. Auch Muschelkrebse bevorzugen dicht bewachsene Tümpel und Ufer. Die Gattungen *Branchipus*, *Chirocephalus*, *Triops* und *Lepidurus* werden nur im Frühjahr gefunden. Man sucht lehmige Pfützen, Gräben und Tümpel in Laubwäldern nach ihnen ab und achtet dabei besonders auf Gewässer, die im Sommer austrocknen und im Winter durchfrieren. Die Tiere sind schon mit bloßem Auge gut zu erkennen. Kopfquerschnitte



Abb. 234/1 Blattfüßer (*Chirocephalus* sp.);  
Schnitt durch das Auge (55 : 1/115 : 1)

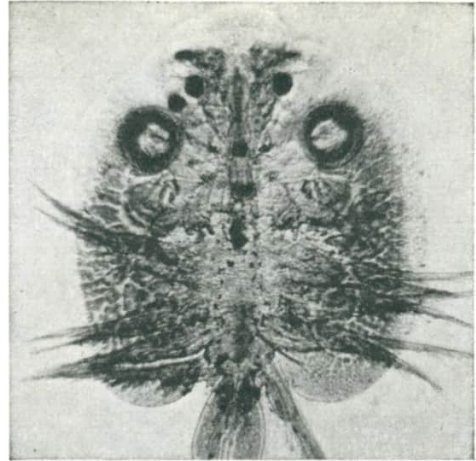


Abb. 234/2 Karpfenlaus (*Argulus foliaceus*);  
Ektoparasit an Fischen (6 : 1/18 : 1)

(Methode 12, s. S. 175) von *Chirocephalus* liefern Präparate, die den Aufbau des Komplexauges der Arthropoden mit fast schematischer Deutlichkeit zeigen (s. Abb. 234/1).

Häufig sitzen schmarotzende Krebse, wie Karpfenläuse (*Argulus*), auf den Schuppen von Karpfen, Schleien, Hechten und Barschen. Die festgesaugten Tiere werden vorsichtig mit der Lanzettnadel abgehoben und lebend untersucht. Sie weisen, ihrer parasitären Lebensweise entsprechend, starke Abwandlungen und Rückbildungen auf (s. Abb. 234/2).

Auf der Haut, vor allem aber an den Kiemen der genannten Fische, lebt *Ergasilus*, eine Gattung mit einem zyklopsähnlichen Körperbau.

Alle Kleinkrebse müssen lebend untersucht werden. Da sich viele Arten schnell bewegen, werden sie in Quittenschleim oder Gelatinelösung untersucht. Bei größeren Arten werden Deckgläser mit Wachsfüßchen verwendet. Durch allmähliches Zusammendrücken der Füßchen werden die Krebse festgeklemmt. Lebendfärbungen liefern sehr gute Ergebnisse. Man verwendet Neutralrot oder Methylenblau (Färb. 1, 2), eventuell auch Mischungen aus beiden Mitteln.

Wegen ihrer Durchsichtigkeit eignen sich die Kleinkrebse, speziell die Blattfüßer, zu Demonstrationen im Unterricht. (Mikroprojektion lebender Krebse!) An einem Wasserfloh kann man die Extremitäten, das dorsal liegende, sackartige Herz und dessen Kontraktionen, das farblose Blut mit großen Amöbozyten und seine durch Segel geleitete Strömung, das Nervensystem mit dem Zerebralganglion (Gehirn), dem optischen Ganglion und dem in ständiger zitternder Bewegung befindlichen Auge zeigen. Dabei fallen besonders die großen Kristallkegel des Auges auf; das am Zerebralganglion gelegene Nebenaugie entspricht dem Nebenaugie des Nauplius. Im dorsal gelegenen Brutraum befinden sich – je nach der Jahreszeit – kleine Sommer- oder große, befruchtete Wintereier. Oft enthält der Brutraum auch mehr oder weniger entwickelte Embryonen, die vor allem durch ihre stark pigmentierten Augen sofort auffallen. Bei vorsichtiger Präparation und ausdauernder Beobachtung kann die „Geburt“ beobachtet werden.

Fast alle niederen Süßwasserkrebse sind mit Urtieren und Pilzen bewachsen. Besonders häufig findet man Glockentierchen sowie koloniebildende peritriche Wimpertiere der Gattungen *Zoothamnium*, *Epistylis* (besonders auf Hüpfertingeln) und *Opercularia*.

Dauerpräparate von Kleinkrebsen fallen meist sehr unbefriedigend aus. Material für Dauerpräparate wird am besten gleich am Fundort mit Formalin 1 : 10, dem vor der Benutzung etwas Eisessig zugesetzt wird, fixiert. Bessere Ergebnisse bringt die Fixierung mit Chromsäure-Eisessig oder Nawaschins Gemisch (Fix. 15). Dann wird gründlich ausgewaschen und mit Boraxkarmin, Alizarinviridin, Kernschwarz, Hämalaun-Eosin oder Eisenhämatoxylin (Färb. 8, 9, 16, 29, 20) gefärbt. Auch Fuchsin oder Safranin sind geeignet. Da die Kleinkrebse äußerst zart sind, muß sehr vorsichtig ausgewaschen und entwässert werden. Über Glycerinwasser 1 : 20 (verdunsten!) wird in Glycerin-gelatine oder nach sehr langsamem Überführen nach Xylol in stark verdünntem Balsam eingeschlossen.

**Flohkrebse (*Amphipoda*).** Im Süßwasser kommt der Bachflohkrebs (*Gammarus pulex*) am häufigsten vor. Er hält sich am Grunde seichter, krautiger Seen und Teiche, vor allem aber in klaren, fließenden Gewässern auf und sitzt häufig unter großen Steinen. Die unterschiedliche Ausbildung der Beine der Flohkrebse ist ein gutes Beispiel für das Verhältnis von Bau und Funktion eines Organs.

Um die Beine untersuchen zu können, wird mit der Rasierklinge ein auf dem Rücken liegendes Tier der Länge nach halbiert, nachdem die 14 Beinpaare zuvor nach beiden Seiten gestreift wurden. Die Hälften werden in Seitenansicht untersucht.

Mikropräparate der einzelnen Beintypen werden nach Methode 9 (s. S. 163) angefertigt, mit Bouin fixiert und mit Kernschwarz oder Boraxkarmin (Färb. 16, 8) gefärbt.

Das erste Beinpaar ist mit starken, einwärts gerichteten Haken versehen und dient zum Fassen und Halten der Nahrung. Diese Beine sind also völlig in den Dienst der Ernährung getreten und unterstützen die Tätigkeit der Mundwerkzeuge. Die folgenden 7 Beinpaare sitzen an den 7 Brustringen und dienen der Fortbewegung. Allerdings müssen diese Beine noch zwei weitere Funktionen erfüllen. Ihre verbreiterten Grundglieder tragen innen feine Kiemen, die durch die ständige Bewegung der Beine immer mit frischem Wasser umspült werden. Bei weiblichen Tieren bilden Platten an den 7 Beinpaaren der Brustringe einen Brutraum für die Eier. Die letzten 3 dieser 7 Brustbeinpaare sind im Winkel nach hinten abgebogen (charakteristisches Kennzeichen der Flohkrebse). Die 6 schmalen Hinterleibsringe tragen ebenfalls 6 Beinpaare. Die ersten 3 von ihnen sind typische Spaltfüße und dienen als Schwimmbeine, die letzten 3 Paare, ebenfalls Spaltfüße, tragen starke Stemmborsten. Sie sind als Sprungfüße ausgebildet.

In feuchtem Meeressand leben Flohkrebse in großer Zahl. Beim Umwenden angespülter Pflanzenteile, Quallen, Muscheln usw. findet man häufig Sandhüpfer (*Talitrus saltator*) oder bräunliche Küstenhüpfer (*Orchestia gammarellus*), die mit den letzten 3 Sprungbeinpaaren wie Flöhe hüpfen und sich im Sande vergraben.

**Asseln (*Isopoda*).** Ein bekannter Vertreter der Asseln ist die Wasserassel (*Asellus aquaticus*), die vor allem in krautigen Tümpeln vorkommt.

Landasseln können nur in feuchter Luft atmen, sie halten sich vorwiegend an dunklen Orten auf (*Oniscus asellus*, Mauerassel; *Porcellio scaber*, Kellerassel).

Zur Lebendbeobachtung werden junge Flohkrebse oder Asseln mit Methylenblau oder Neutralrot gefärbt. Eier und Larven werden isoliert und untersucht. Zur Gewinnung von Totalpräparaten junger Tiere fixiert man mit Bouin oder Trichloressig-





Abb. 236/1 Edelkrebs (*Astacus astacus*); Querschnitt durch den Enddarm (35 : 1/105 : 1)

säure, also mit Mitteln, die gleichzeitig entkalken (Fix. 11, 6). Sie werden entweder ungefärbt oder nach Färbung mit Boraxkarmin, Alizarinviridin, Kernschwarz oder Hämalan-Eosin (Färb. 8, 9, 16, 29) in Glyzeringelatine oder Balsam nach Methode 6 oder 9 (s. S. 154, 163) eingeschlossen.

Der Edelkrebs (*Astacus astacus*) ist ein beliebtes Objekt zum Studium der Gewebe der Arthropoden. Sehr instruktive Bilder ergeben Organschnitte von Kiemen, Enddarm, Mitteldarmdrüse und Hoden (s. Abb. 236/1). Dünne Hodenschnitte zeigen häufig Mitosephasen mit deutlich ausgebildeten Teilungsspindeln (s. Abb. 187/1). Ganz junge Krebse (Juni, Juli) können mit Chloroform oder Äther betäubt (in trockenem Gefäß!) und mit Trichloressigsäure oder Bouin (Fix. 6, 11) fixiert werden. Mit der Nadel prüft man, ob der Panzer ganz entkalkt ist, bettet dann in Paraffin ein und fertigt Schnitte durch das ganze Tier an. Trennt man betäubten Tieren die Scherenspitzen ab und streicht das austretende farblose Blut aus, so zeigen sich im Frischpräparat die kernhaltigen Blutzellen. Dauerpräparate werden nach Methode 8 (s. S. 157) hergestellt. Zupfpräparate von Hoden werden in physiologischer Kochsalzlösung (Hochsommer) untersucht. Dauerpräparate der dabei sichtbar werdenden, seltsam geformten Spermien werden nach Methode 8 hergestellt (s. S. 157) und mit Hämalan-Eosin gefärbt (Färb. 29).

### Spinnentiere (Chelicerata)

**Afterskorpione (*Pseudoscorpiones*).** Der Bücherskorpion (*Chelifer cancroides*) lebt zwischen alten Büchern, in Herbarien und Sammlungen aller Art (s. Abb. 237/1). An den Beinen von Fliegen findet man öfter den augenlosen *Chelifer nodosus* und zahlreiche andere Arten, in Moospolstern (besonders im Frühling) den Mooskorpion (*Obisium muscorum*). Die Tiere fangen mit ihren Scheren Milben, Staubläuse, Springschwänze und andere Kleinlebewesen.

Die Lebendbeobachtung lohnt sehr. Für Dauerpräparate werden die Tiere mit Carnoy (Fix. 10) fixiert und ungefärbt nach Methode 6 (s. S. 154) eingeschlossen. Sehr gut läßt sich in solchen Präparaten die Anordnung der Muskulatur erkennen. (Un-

gefärbte Präparate mit gekreuzten Polarisationsfiltern beobachten; Querstreifung der Muskulatur in den Scheren!) Um reine Skelettpräparate herzustellen, werden die Tiere in Kalilauge gekocht (Methode 4, s. S. 149).

**Weberknechte (*Opiliones*).** Das Tiermaterial ist während der gesamten Vegetationsperiode leicht zu beschaffen. Weberknechte (z. B. *Phalangium*) werden in 70%igem Alkohol konserviert vorrätig gehalten. Frischpräparate lohnen kaum. Dauerpräparate werden nach Methode 4 (s. S. 149) hergestellt. Man präpariert Unterkiefer, Kieferfühler und Augenhöcker heraus oder schließt das ganze Vorderteil des Körpers ein. Stinkdrüsen liegen als dunkle, punktförmige Gebilde an der Unterseite des Leibes. Dort befinden sich auch die äußeren Fortpflanzungsorgane. Die sehr zarten Chitinteile dürfen nicht gekocht werden und müssen, wenn sie ungefärbt in Balsam nicht genug hervortreten, vor dem Einschluß mit Boraxkarmin oder Safranin (Färb. 8, 10) angefärbt werden.

**Webespinnen (*Araneae*).** Im Spätsommer und Herbst werden Weibchen und Männchen der Gemeinen Kreuzspinne (*Araneus diadematus*) gesammelt. Während die Weibchen zumeist mit dem Kopf nach unten in der Mitte des großen, radförmigen Netzes sitzen, befinden sich die viel kleineren Männchen, wenn sie kopulieren wollen, in der Nähe des Netzes. Ebenso eignen sich Winkelspinnen (*Tegenaria*), Wasserspinnen (*Argyroneta aquatica*) sowie Krabbenspinnen (*Thomisidae*) als Untersuchungsmaterial. Die Jungspinnen vieler Familien segeln, besonders an schönen Herbsttagen, an langen Fäden hängend durch die Luft (Altweibersommer).

Viele Spinnen, wie zum Beispiel manche Krabbenspinnen und Springspinnen (*Salticidae*, z. B. Harlekins- oder Zebraspinnen), eignen sich gut zur Herstellung von Totalpräparaten. Junge Kreuzspinnen, die Ende Mai ihre Eikokons verlassen, werden ganz eingeschlossen. Für Totalpräparate werden die Tiere in Alkohol-Formalin-Eisessig oder Formalin fixiert (Fix. 9, 2). Farblose Individuen behandelt man mit Boraxkarmin, Kernschwarz oder Hämalaun-Eosin (Färb. 8, 16 oder 29). Je zwei Tiere werden so eingeschlossen, daß das eine die Oberseite, das andere die Unterseite zeigt. Ganz junge Tiere lassen den Verdauungstrakt, die Atemspalten, die Fächertracheen und Spinnrüsen erkennen.

Kleine bis mittelgroße Tiere werden zur Gewinnung von Schnittpräparaten wie oben angegeben fixiert, vorsichtig entwässert und in Paraffin eingebettet. Die Schnitte müssen durch die als paarige Säcke im Anfangsteil des Hinterleibes liegenden Fächertracheen verlaufen.

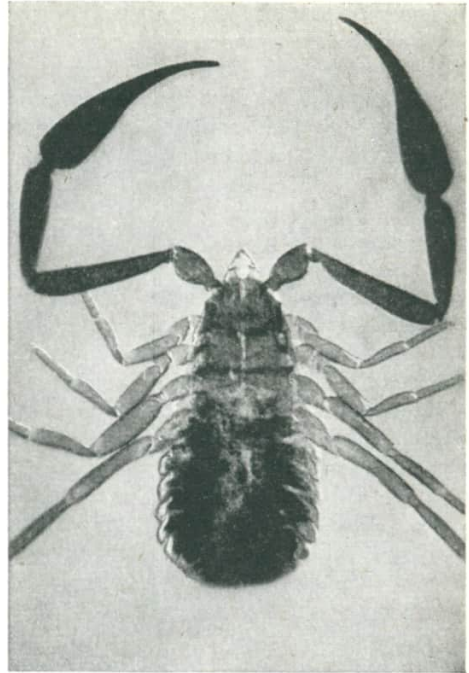


Abb. 237/1 Bücherskorpion (*Chelifer cancroides*); Hellfeld-Dunkelfeld-Übergangsbeleuchtung (8 : 1/20 : 1)

Von größeren Tieren (Weibchen) werden nach Methode 4 (s. S. 149) Chitinpräparate hergestellt. Die Beine mancher weiblicher Spinnen besitzen feine Hörhaare. An den Fußgliedern sitzen die kammartigen Klauen (s. Abb. 150/1). Das Vorderteil des Kopfbruststückes (Zephalothorax) einer weiblichen Spinne eignet sich zur Demonstration der Haupt- und Nebenaugen sowie der Mundwerkzeuge.

Das erste Extremitätenpaar sind die senkrecht nach unten gerichteten Chelizeren oder Kieferfühler, die aus einem kräftigen Basalglied (oft mit Chitinzähnnchen) und je einer nach innen gerichteten Klaue bestehen (s. Abb. 238/1). An der Spitze der Klaue endet ein Ausführungsgang, der das Sekret der Giftdrüse in das gepackte Opfer leitet. Mehrere Chelizeren werden so eingebettet, daß beide Seiten zu sehen sind. Hinter den Chelizeren liegen als zweites Extremitätenpaar die Kiefertaster (Pedipalpen), deren Grundglieder als Kauladen dienen, deren übrige Glieder aber die Taster bilden, die bei den Geschlechtern sehr verschieden ausgebildet sind (Geschlechtsdimorphismus). Während bei den Weibchen das letzte Glied eine kleine Kralle trägt, steht es bei den Männchen im Dienst der Fortpflanzung. Im einfachsten Fall trägt die Innenseite des letzten Gliedes einen gelenkig angesetzten birnenförmigen und in eine feine Spitze auslaufenden Anhang, den sogenannten Bulbus, in dem der Samenschlauch (Spermophor) liegt (s. Abb. 238/2). Diese einfachste Form tritt bei den Männchen der Zellen-spinne (*Segestria bavarica*) auf, einer mittelgroßen, braunen Art, die wie mit einem Fellüberwurf bekleidet erscheint und in beiderseits offenen Gespinnströhren unter Steinen oder Baumrinde recht häufig gefunden werden kann. Männchen anderer Arten haben die gleichen Organe, wenn auch oft viel komplizierter gebaut. Von abgetrennten Pedipalpen werden Chitinpräparate hergestellt. Die weit vor den Spinnwarzen gelegene Geschlechtsöffnung der Weibchen ist durch ihren Bau dem hochspezialisierten männlichen Begattungsorgan angepaßt. Geschlechtsöffnung und Spinnwarzen werden mit einer feinen Schere umschnitten, mit Kalilauge behandelt und mit der Oberseite zum Deckglas in Balsam eingebettet. An Totalpräparaten kleinerer Arten sind alle Organe in der natürlichen Anordnung gut zu erkennen.

**Milben (Acari).** Zum Sammeln und Fixieren der Tiere füllt man einige Gläschen mit 70%igem Alkohol. Die an ihren Wohnorten aufgestöberten Milben werden mit einem

Abb. 238/1 Spinne (*Tegenaria* sp.); Chelizeren (6 : 1/20 : 1)

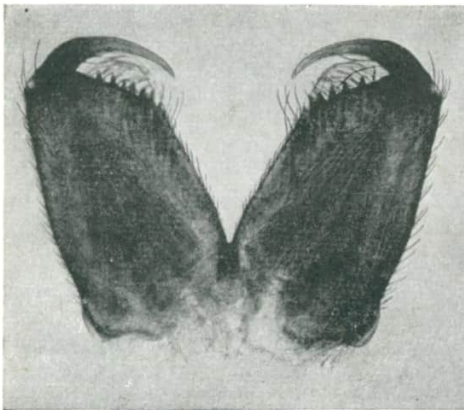
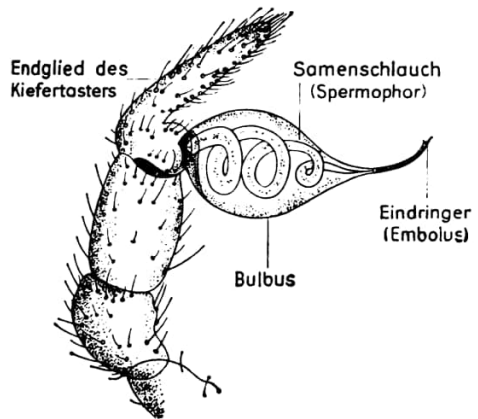


Abb. 238/2 Spinne (*Segestria* sp.); Kiefertaster eines Männchens



alkoholfeuchten Pinsel aufgetupft und so in die Röhrrchen übertragen, daß jeweils nur Tiere des gleichen Lebensraums in ein Röhrrchen kommen. Besser als Alkohol fixiert ein Gemisch aus 87 Teilen 70%igem Alkohol, 8 Teilen Eisessig und 5 Teilen Glycerin, aus dem die Tiere nach zwei bis drei Tagen in reines Glycerin übertragen werden. Der Einschluß erfolgt in Glyzeringelatine. Man kann jedoch auch in Alkohol auswaschen, vorsichtig entwässern und in Balsam einschließen.

Im Freien findet man häufig die scharlachrote, stecknadelkopfgröße Samtmilbe (*Trombidium holosericeum*). Planktonfänge enthalten oft rote Wassermilben (z. B. *Hydrachna*, *Hydrodrona*). Die Käfermilben (z. B. *Gamasus*) leben an Käfern, aber auch an anderen Insekten, sie halten sich vorwiegend auf der Unterseite an den weichen Intersegmentalhäuten (z. B. von Roßkäfer, Totengräber, Hummeln) auf.

Vogelmilben sitzen an Vögeln und in deren Nestern (z. B. Sperling, Hühner, Tauben). Die Weibchen der Krätzmilben (*Sarcoptes scabiei*) bohren sich in die Haut des Menschen ein und legen dort ihre Eier ab. Material kann eventuell aus Krankenhäusern beschafft werden. Die Haarbalgmilbe (*Demodex folliculorum*, 0,3 mm bis 0,4 mm) lebt in Talgdrüsen der menschlichen Haut, besonders an den Nasenflügeln. Man drückt einen Talgpfropfen heraus. Die Milben sitzen sehr tief! Verwandte Arten rufen die Räude der Hunde und anderer Haustiere hervor. Bei allen diesen Arten sind die Beine stummelförmig zurückgebildet.

Die Spinnmilben (*Tetranychidae*) sind Pflanzenparasiten. Die Stachelbeermilbe (*Bryobia praetiosa*) verursacht an Stachelbeersträuchern und Obstbäumen Blattschäden. Die Gemeine Spinnmilbe (*Tetranychus urticae*) kommt regelmäßig in weißen Gespinsten an den Blättern zahlreicher Pflanzen (z. B. Linde) vor.

Alle Arten werden auch lebend untersucht, möglichst mit dem Binokular oder der Präparierlupe. Dauerpräparate werden nach Methode 4 (nicht kochen!), 6 oder 9 (s. S. 149, 154, 163) hergestellt. Sehr zarte Arten werden in einem Gemisch aus 5 Teilen Glycerin, 2 Teilen Essigsäure und 3 Teilen destilliertem Wasser fixiert. Die Milben schrumpfen zunächst, strecken sich dann aber wieder nach einigen Tagen. Durch Erhöhung des Glyzeringehalts kann man die Tiere bei der Fixierung noch mehr schonen. Zur Färbung werden Boraxkarmin, Säurefuchsin oder Kernschwarz (Färb. 8, 14, 16) verwendet. Das Präparat wird in Gelatine oder Balsam eingeschlossen (Zeichnen!).

Zecken (*Ixodidae*) leben ektoparasitisch an Tieren. Die häufigste Art, der gemeine Holzbock (*Ixodes ricinus*), kommt beispielsweise in Wäldern vor. Die Tiere lassen sich von Zweigen und Ästen auf ihre Wirte niederfallen. Sie werden ebenso fixiert wie andere Milben. An Tieren festgesaugte Zecken werden vor dem Ablösen mit Öl oder Benzin, auch Tabaksaft, betupft, weil sonst der Kopf abreißt.

*Ixodes hexagonus* parasitiert beispielsweise an Igel und Füchsen, *Ixodes tenuirostris* an Mäusen und Spitzmäusen.

Saumzecken (*Argas reflexus*) kommen oft massenhaft in Taubennestern vor. Die Zecken nehmen ihre Wirte mit ihrem hochentwickelten Geruchssinn wahr. Das Geruchsorgan (Hallersches Organ) liegt gut erkennbar im Fußglied des ersten Beinpaars. Zur Demonstration wird das erste Beinpaar abgetrennt, mit Kalilauge aufgehellt und in Balsam eingeschlossen. Die saugenden Mundwerkzeuge werden nach Mazeration in Kalilauge isoliert und eingebettet. Totalpräparate kleiner Individuen werden nach Kalilaugebehandlung hergestellt.

## Tausendfüßer (Myriopoda)

Material kann im Schulgarten beim Umgraben der Beete, im Wald unter Laub und Moos, unter Steinen und unter der Rinde abgestorbener Bäume oder von Baumstümpfen gesammelt werden.

Fixiert wird in Schaudinns Gemisch (Fix. 12). Totalpräparate kleiner Arten (Zwergfüßer, *Symphyla*) werden nach Methode 4 (s. S. 149) angefertigt. Vom Steinkriecher (*Lithobius forficatus*), dessen Kutikula sich gut schneiden läßt, werden Querschnittpräparate hergestellt. Dazu wird in Zenkers Gemisch (Fix. 13) fixiert. Steinkriecher sind oft von Gregarinen befallen. Zur Demonstration werden der Kopf und das letzte Hinterleibssegment abgetrennt. Der Darm wird mit der Pinzette herausgezogen und auf dem Objektträger in physiologischer Kochsalzlösung gespalten; der austretende Inhalt wird durchgemustert. In den gleichen Tieren kommen auch Kokzidien vor.

## Insekten (Insecta)

Die Klasse der Insekten bietet mit ihrem Arten- und Formenreichtum auch dem Anfänger ein fast unübersehbares, dabei technisch im allgemeinen leicht zu meisterndes Arbeitsfeld. Selten werden für die Untersuchungen Vergrößerungen über 200:1 benötigt, so daß meist ein Schülermikroskop ausreicht. Die Herstellung von Frischpräparaten lohnt sich nur bei kleinen Formen, Dauerpräparate können nach den Methoden 4, 6 oder 9 (selten 12) leicht hergestellt werden. Dauerpräparate sind sehr haltbar und für Zwecke der Mikroprojektion gut zu verwenden.

Es ist selbstverständlich nicht möglich, im Rahmen dieser Einführung einen auch nur annähernd vollständigen Überblick über die Präparation von Insekten zu geben. Wir beschränken uns in den folgenden Darlegungen auf die häufigsten und bekanntesten Arten der wichtigsten Ordnungen und auf Arten, die besonders leicht zu finden sind oder typische Merkmale aufweisen. Besonders berücksichtigt werden die für den Unterricht wichtigen Arten und Präpariermethoden sowie einige übergreifende Untersuchungs- bzw. Arbeitsgebiete (z. B. Beintypen, Mundwerkzeuge).

Insekten und ihre Entwicklungsstadien (Eier, Larven, Puppen) können entweder lebend, sofort nach dem Abtöten, getrocknet oder in Alkohol konserviert verwendet werden. Am geeignetsten ist lebendes oder frisch getötetes Material. Getrocknete Insekten werden folgendermaßen aufgeweicht: Eine Petrischale wird mit Sand gefüllt, darauf wird Fließpapier aufgelegt und das Ganze gut mit Wasser angefeuchtet, dem einige Tropfen Karbolsäure zugesetzt worden sind. Die trockenen Insekten werden auf das Fließpapier gelegt, die Schale wird verschlossen. In Alkohol oder Formalin konservierte Tiere sollen vor der Weiterverarbeitung gut ausgewaschen werden. Insektenmaterial kann in jeder Jahreszeit, besonders im Frühjahr und im Sommer, gesammelt werden. Bei massenhaftem Auftreten von Insekten sowie bei Aktionen zur Schädlingsbekämpfung konserviert bzw. fixiert man größere Mengen von Untersuchungsmaterial (z. B. Maikäfer, Kohlweißlinge, Blattläuse, Blasenfüße, Eintagsfliegen, Heuschrecken, Federlinge). Die Tiere werden vorschriftsmäßig fixiert und erst dann in Alkohol oder Formalin konserviert, da sie sich so später für jede Präpariermethode eignen. Größere Arten werden vor dem Fixieren mit Äthyläthanat, Benzin, Chloroform oder Äthyläther betäubt. Sehr gut bewähren sich bei Sammelgängen mit dem Insektennetz Tötungsgläser mit Gips-Kalziumzyanid-Bodenfüllung (Vorsicht, Giftgesetz beachten!).

Ein einfaches Tötungsglas kann jeder Lehrer leicht selbst herstellen. Das Betäubungsmittel wird tropfenweise in eine wattegefüllte Röhre gegeben, die im durchbohrten Stopfen des benutzten Pulverglases steckt, dessen Boden Fließpapierschnitzel bedecken sollen. Im Wasser lebende Insekten und deren Larven werden mit einem feinmaschigen Kescher gefangen. Leere, abgeworfene Insektenhäute ergeben gute Präparate. Zur Lebendbeobachtung kleiner Wasserinsekten dienen Objektträger mit Hohl-schliff, feuchte Objektträgerkammern oder Küvetten. Landlebende Kleininsekten werden ebenfalls in Objektträgerkammern oder in Küvetten untersucht. Größere Insekten werden in Petrischalen mit schwächsten Vergrößerungen mit einem binokularen Mikroskop bei auffallendem Licht beobachtet. Dauerpräparate werden mit Glyzeringelatine-, besser jedoch mit Balsameinschluß hergestellt. Soweit nicht anders angegeben, werden trockene Objekte (z. B. Häute, Schuppen) nach Methode 1 (s. S. 139), reine Chitinpräparate nach Methode 4 (s. S. 149), Totalpräparate nach Methode 6 oder 9 (s. S. 154, 163) bearbeitet. Als Fixiermittel eignen sich 10%iges Formalin, Alkohol-Formalin (einige Tropfen Eisessig zusetzen!) und besonders gut Carnoysches Gemisch, heißes Schaudinn-Gemisch oder das Gemisch nach Bouin (Fix. 2, 9, 10, 12, 11). Hart chitinisierte Tiere dürfen nicht unzerteilt behandelt werden! Chitinpräparate brauchen meistens nicht künstlich gefärbt zu werden. Sollte das bei sehr durchsichtigen Teilen doch einmal notwendig sein, werden Boraxkarmin, Alizarinviridin, Safranin, Pikrinsäure (gut als Gegenfärbung für Boraxkarmin) oder Kernschwarz verwendet (Färb. 8, 9, 10, 16 und Fix. 4).

Schnittpräparate ganzer Insektenkörper oder ganzer Körperteile (s. Abb. 243/1) nach Methode 12 (s. S. 175) können mit gutem Ergebnis nur von frisch gehäuteten Tieren hergestellt werden, da sich die harte Kutikula schlecht schneiden läßt. (Aufweichen harter Chitinteile s. S. 240.) Herauspräparierte innere Organe lassen sich normal schneiden. Die aufgeklebten Schnitte werden mit Kernschwarz, Eisenhämatoxylin, Hämalaun-Eosin oder Azan (Färb. 16, 20, 29, 30) gefärbt. Die Präparation der für den Unterricht wichtigen Arten wird im folgenden kurz dargestellt.

**Ur-Insekten (*Apterygota*).** Silberfischchen, Zuckergast (*Lepisma saccharina*), etwa 1 cm lange Tiere, leben häufig in Wohnungen hinter Tapeten, in Schränken, an Vorräten usw. Als Köder zum Fang wird über Nacht ein feuchter Lappen ausgelegt.

Totalpräparate kleiner Individuen werden mit Alkohol-Formalin oder Carnoy (Fix. 9, 10) fixiert und nach Methode 6 (s. S. 154) angefertigt. Sie müssen vorsichtig behandelt werden, da sonst die silberglänzenden Schuppen verlorengehen. Ein reines Schuppenpräparat wird nach Methode 1 (s. S. 139) hergestellt.

Springschwänze (*Collembola*) bewohnen den Erdboden, Laub- und Nadelschichten unserer Wälder und freie Wasserflächen. Man kann sie auch im Winter finden; viele Arten haben überhaupt in den kalten Monaten ihre optimalen Lebensbedingungen. Allgemein bekannt sind die Wasserspringschwänze (z. B. *Podura aquatica*), die Ufer und Oberfläche stehender oder langsam fließender Gewässer oft in großen Mengen bevölkern. Die winzigen, blauschwarzen Tiere vollführen mit einer Sprunggabel am Hinterleib große Sprünge. Sie werden mit dem Planktonnetz abgeschöpft, an Ort und Stelle mit Formalin 1:10 oder Bouin (Fix. 2, 11) fixiert, vorsichtig entwässert und ungefärbt nach Methode 6 (s. S. 154) eingeschlossen.

Landbewohnende Kollembolen werden durch Betupfen mit einem alkoholfuchten Pinsel gefangen. Von fast allen Arten können Zuchten angelegt werden. Dazu füllt man ein großes, flaches Gefäß mit etwas festgedrückter Erde, auf die eine dünne Lage

möglichst humosen Waldbodens oder eine Nadelstreu kommt. Die untere Erdschicht wird feucht gehalten und das Gefäß mit einer großen Glocke abgedeckt (Luftfeuchtigkeit!). Als Futter dient das Substrat, dem die Tiere entnommen wurden; kleine Stücken gekochter Kartoffel genügen auch.

Im Unterricht der Oberstufe sollte der Lehrer diese flügellosen, mit beißenden Mundwerkzeugen ausgestatteten und sich direkt entwickelnden Ur-Insekten möglichst demonstrieren, da sich an ihnen wichtige ursprüngliche Merkmale erklären lassen.

**Eintagsfliegen (*Ephemera*).** Eintagsfliegen leben an Gewässern. Sie häuten sich nach dem Abstreifen der Larvenhaut noch einmal (Nymphen-Subimago-Imago). Leere, trockene Häute werden über Xylol in Balsam eingeschlossen. Die Larven leben im Wasser. Sie atmen durch Tracheenkiemen, die am Hinterleib (Abdomen) als blatt- oder fadenförmige Hautausstülpungen mit bloßem Auge gut zu sehen sind und in schwirrender Bewegung frisches Wasser heranwedeln (meist 7 Paar). Die Nymphen (Larven) werden mit einem Wasserflohnnetz in dichten Wasserpflanzenbeständen gefangen.

Die Larven werden mit Neutralrot, besser noch Methylenblau (Färb. 1, 2), lebend gefärbt. Kleine Nymphen werden in der feuchten Objektträgerkammer oder in Küvetten, große Individuen in Petrischalen bei schwachen Vergrößerungen lebend untersucht. Bei längerem Arbeiten muß das Wasser gewechselt werden. (Tracheenkiemen und Tracheensystem in den Körperruß einzeichnen!)

Eine Nymphe wird getötet, die Tracheenkiemen werden mit dem Rasiermesser vorsichtig an der Basis abgetrennt und frisch untersucht. Zur Herstellung von Dauerpräparaten werden die Larven in Formalin, Formalin-Alkohol oder Bouin (Fix. 2, 9, 11) fixiert, ausgewaschen und in Alkohol konserviert. Totalpräparate von Nymphen sowie von abgetrennten Tracheenkiemen werden nach Methode 6 oder 9 (s. S. 154, 163) hergestellt. Bei Methode 9 färbt man mit Hämalun oder Boraxkarmin (Färb. 6, 8). Die Mundteile werden nach Methode 4 (s. S. 149) kalt präpariert. Die Köpfe der Vollinsekten (Imagines) werden ebenfalls nach dieser Methode eingeschlossen. Die Präparate zeigen die verkümmerten Mundwerkzeuge (Imagines leben nur wenige Stunden), die allerdings auch völlig fehlen können. Männchen der Gattungen *Cloëon* und *Baëtis* haben Doppel- oder „Turbanaugen“; Vorder- und Hinterflügel (wichtig für die Bestimmung) sollten ebenfalls eingebettet werden!

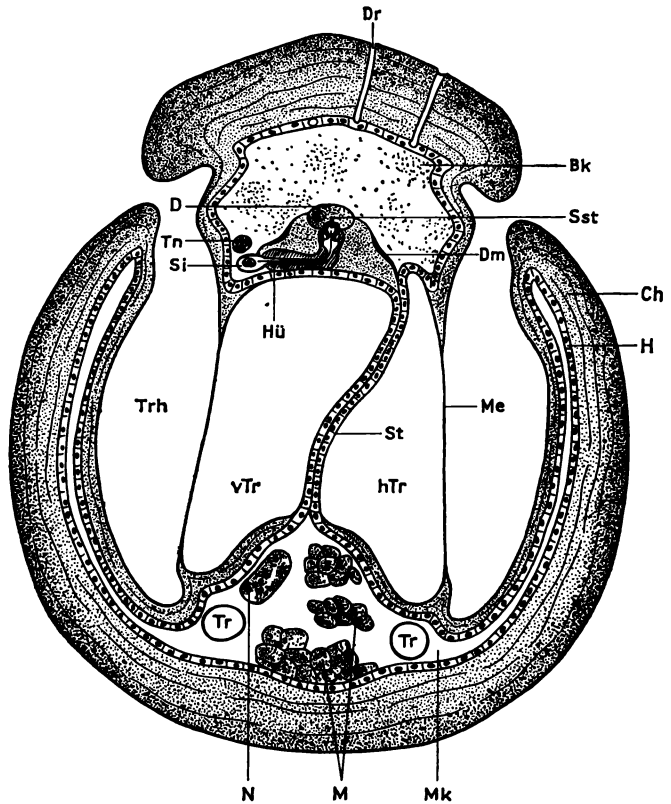
**Libellen (*Odonata*).** Die bräunlichgrünen Larven der Libellen leben in Tümpeln und Teichen zwischen Wasserpflanzen. Sie werden mit dem Netz gefangen und mit der Lupe in einer Küvette betrachtet. Dabei kann beobachtet werden, wie das Atmungswasser eingezogen und ruckartig ausgestoßen wird (Darmatmung).

Ein frisches Tier wird durch einen Längsschnitt geöffnet. Am hinteren Ende des Magen-Darm-Kanals liegt der bauchigë Kiemendarm. Seine luftgefüllten, silbrig glänzenden Tracheen münden in die gleichfalls gut sichtbaren Haupttracheenstämme an den Körperseiten. Der Kiemendarm wird herausgetrennt und längs aufgeschnitten. Mit der Pipette wird er gut ausgespült und nach Methode 6 oder 9 (s. S. 154, 163) mit Boraxkarmin, Alizarinviridin oder Kernschwarz gefärbt (Färb. 8, 9 oder 16) und eingeschlossen. Man kann ihn auch mit Formalin oder Bouin fixieren und über Glycerinwasser und Glycerin in Glyceringelatine einschließen. Bessere Bilder ergeben Enddarmquerschnitte nach Methode 12 (s. S. 175), die mit Hämalun-Eosin oder Azan (Färb. 29 oder 30) gefärbt wurden. Die Mundteile der Larven (Fangmaske) werden nach Methode 4 (s. S. 149) verarbeitet, ebenso die kauenden Mundgliedmaßen der Imagines.

Die Hornhäute der großen Komplexaugen zeigen die Sechseckfelderung sehr schön. Der Kopf einer Wasserjungfer wird in Kalilauge gekocht, dabei lösen sich die Hornhäute ab. Man fischt sie vorsichtig heraus und schließt in Glyzeringelatine oder nach Methode 9 (s. S. 163) mit Safranin- oder Kernschwarzfärbung (Färb. 10, 16) ein. Für Augenquerschnitte wird mit Carnoy oder Susa (Fix. 10, 14) fixiert und in Paraffin eingebettet. Die Schnitte sollen höchstens 10  $\mu\text{m}$  dick sein. An Schilfstengeln hängen oft leere Larvenhäute, die, nach Methode 1 (s. S. 139) eingebettet, gute Übersichtspräparate ergeben.

**Schrecken (*Saltatoria*).** Zur Herstellung von Präparaten werden Laubheuschrecken, Feldheuschrecken und Grillen eingesammelt und, in Alkohol konserviert, vorrätig gehalten.

Abb. 243/1 Grüne Laubheuschrecke (*Tettigonia viridissima*); Tibialorgan im Querschnitt Bk Blutkanal, Ch Chitin, D Deckzelle, Dm Deckmembran, Dr Drüsenkanal, H Hypodermis, Hü Hüllzelle, M Muskeln, Me Membran (Tympanum), Mk Muskelkanal, N Nerv, Si Sinneszelle, Sst Sinnesstift, St Steg, Tn Tympanalnerv, Tr Trachee, vTr vordere und hTr hintere Trachee, Trh Trommelhöhle



Beide Flügelwurzeln eines Männchens der grünen Laubheuschrecke (*Tettigonia viridissima*) werden nebeneinander eingebettet. Am linken Flügel sitzt eine gerillte Schräglader, am rechten eine scharfkantige Leiste zur Lauterzeugung; daneben befindet sich ein kreisrundes, von kräftigen Adern ausgespanntes helles Hautfeld (Tonverstärker). Bei den Grillen liegen ähnliche Verhältnisse vor.

Die Sprungbeine (s. Abb. 254/1) werden ungefärbt mit der Innenseite nach oben eingebettet. Bei allen Heuschrecken treten Tympanalorgane auf, die bei den Feldheu-



schrecken seitlich am Beginn des Abdomens, bei den Laubheuschrecken und Grillen vorn in den Schienen der Vorderbeine dicht unterhalb des „Knies“ liegen. Man erkennt sie an zwei nach vorn geöffneten Spalten. Bei grünen Laubheuschrecken werden die Schienen abgetrennt und nach Methode 4 (s. S. 149) oder – bei kleinen Individuen – nach Methode 6 (s. S. 154) eingeschlossen. Querschnittspräparate geben Aufschluß über den inneren Bau der Tympanalorgane. Die Vorderschienen von Laubheuschrecken werden abgetrennt und mit Alkohol-Formalin (einige Kubikzentimeter Eisessig zusetzen; Fix. 9) oder Carnoys Gemisch (Fix. 10) behandelt, in Paraffin eingeschlossen und in 10  $\mu\text{m}$  dicke Schnitte zerlegt (s. Abb. 243/1).

Der Hinterleib einer Heuschrecke wird durch einen Längsschnitt geöffnet. Am Ende der Speiseröhre liegt der Kaumagen, der so abgetrennt wird, daß seine Polklappen mit Speiseröhre und Darm verbunden bleiben. Der abgetrennte Kaumagen stellt also nur noch einen feinen Ring dar, der zwischen zwei Zahnchenreihen gespalten wird. Nach geringem Kochen in Kalilauge löst sich die weiche, äußere Haut ab. Die feine Innenhaut mit den Chitinzähnen bleibt übrig. In Glyzeringelatine oder Balsam wird so eingeschlossen, daß die Innenseite zum Deckglas zeigt (Kernschwarzfärbung, Färb. 16).

Der Kopf einer großen Heuschrecke wird in Kalilauge gründlich gekocht. Mit zwei Präpariernadeln werden unter der Präparierlupe die kauenden Mundwerkzeuge isoliert. Man beginnt dabei von unten, löst zuerst die verwachsene Unterlippe (2. Maxillen = Labium), dann das Unterkieferpaar (1. Maxillen) und zuletzt das Oberkieferpaar (Mandibeln). Obwohl die Oberlippe (Labrum) eigentlich nicht zu den Mundwerkzeugen, sondern zur Kopfkapsel zählt, wird sie ebenfalls mit abgeschnitten. Alle Teile müssen gut auswässern und werden in ihrer natürlichen Anordnung nach Methode 4 eingebettet. Dazu klebt man die einzelnen Stücke mit sehr dickflüssigem Balsam fest, legt ein Deckglas auf und läßt erst dann von der Seite her dünnflüssigen Balsam unter das Deckglas treten (Vorsicht, Luftblasen!).

**Ohrwürmer (*Dermaptera*).** Kleine Ohrwürmer (z. B. *Forficula auricularia*) werden als Totalpräparate nach Methode 4 (s. S. 149) behandelt; von größeren werden nur Kopf (Mundwerkzeuge) und Thorax eingebettet. Die verkürzten Vorderflügel und die gefalteten Hinterflügel müssen ausgebreitet werden. Von einem Hinterflügel und dem zangentragenden Hinterende werden Einzelpräparate angefertigt.

**Schaben (*Blattaria*).** Die bekanntesten Vertreter sind die Gemeine Küchenschabe (*Blatta orientalis*), die Deutsche Schabe (*Blattella germanica*) und die Amerikanische

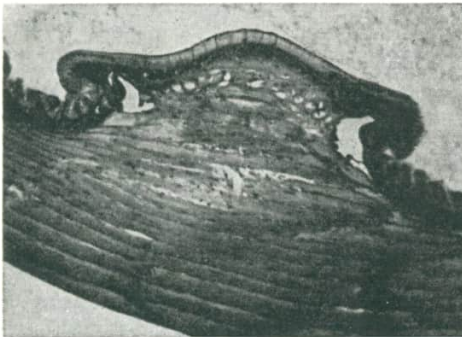


Abb. 244/1 Küchenschabe (*Blatta orientalis*); Schnitt durch den Kaumagen (28 : 1/45 : 1)  
Abb. 244/2 Blasenfuß (*Haplothrips tritici*); Totalpräparat (10 : 1/20 : 1)



Schabe (*Periplaneta americana*). Die Tiere kommen beispielsweise in Großküchen und Bäckereien vor. Schaben haben kauende Mundwerkzeuge (Präparation der Mundwerkzeuge s. S. 260). Mikrotomschnitte ergeben sehr gute Bilder des Kaumagens (s. Abb. 244/1).

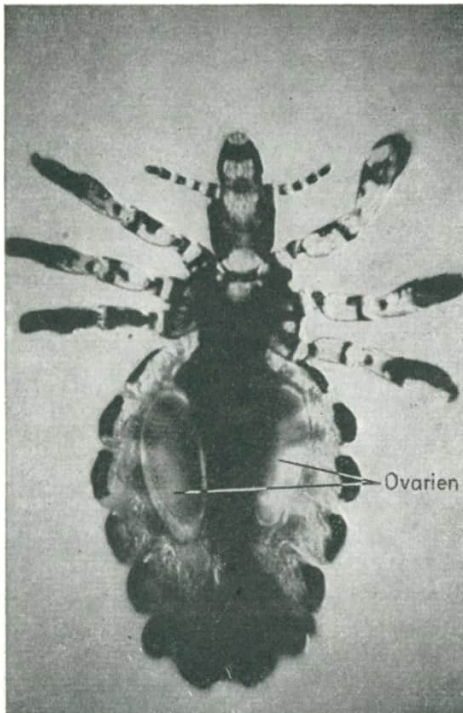
**Blasenfüße, Fransenflügler (*Thysanoptera*).** Die sehr kleinen, gelb, braun, rot oder schwarz gefärbten Blasenfüße sind Pflanzensauger (stechend-saugende Mundwerkzeuge). Sie kommen häufig in gelben Korbblüten und an Getreideähren vor (s. Abb. 244/2). Im Hochsommer kommen sie oft in Massen an die Fenster der Wohnungen. Sie werden mit einem alkoholfuchten Pinsel abgenommen und in das Fixiermittel übertragen.

Wegen ihrer geringen Größe eignen sie sich besonders gut zur Herstellung von Totalpräparaten. Helle Arten werden nach Methode 6 oder 9 (s. S. 154, 163) eingeschlossen. Man fixiert mit Alkohol-Formalin oder Carnoys Gemisch (Fix. 9, 10) und färbt mit Hämalau, Boraxkarmin oder Kernschwarz (Färb. 6, 8 oder 16). Dunkle Formen werden nach Methode 4 mit kalter Kalilauge behandelt (s. S. 149).

Die Tiere haben Blasen zwischen den Klauen der Fußglieder (Name!). Die Flügel sind sehr schmal und mit langen Haaren fransenartig besetzt. (Daher auch der Name Fransenflügler.) An den beiden Komplexaugen ist gut zu erkennen, daß sie aus vielen Einzelaugen zusammengesetzt sind.

Abb. 245/1 Schweinelaus (*Haematopinus suis*) in Übergangsbeleuchtung (8 : 1/24 : 1)

Abb. 245/2 Schamlaus (*Phthirus pubis*); am Haar befinden sich zwei Eibehälter (10 : 1/30 : 1)



**Läuslinge (*Mallophaga*).** Die flügellosen Läuslinge leben als Kommensalen (seltener als Parasiten) an Vögeln und Säugetieren. Sie besitzen stark ausgebildete Klammerbeine und ernähren sich von Haaren, Federn und sonstigen Hornteilen der Haut.

Ihre Färbung stimmt häufig mit der ihrer Wirte überein. Leicht zu beschaffen ist der Hundehaarling. Die etwa 1 mm langen, läuseähnlichen Tiere können Entwicklungsstadien (Zystizerkoide) des Hundebandwurms beherbergen. Auf Tauben und Hühnern kommen regelmäßig Federlinge vor. Fast jede Vogel- und Säugerart beherbergt spezifische Läuslinge. Material ist durch Absuchen der Wirte leicht beschaffbar. Die Tiere werden mit Formalin, Alkohol-Formalin oder Carnoys Gemisch (Fix. 2, 9 oder 10) behandelt. Man stellt Totalpräparate her. Gefärbt wird eventuell mit Boraxkarmin und Pikrinsäure oder mit Kernschwarz (Färb. 8, 16). Die Präparate zeigen, wie gut die Organe der Lebensweise angepaßt sind. Die mit einem Deckel versehenen, an Federn oder Haaren festgekitteten Eier sind ebenfalls lohnende Untersuchungsobjekte.

**Läuse (*Anoplura*).** Kopf-, Kleider- und Filzläuse kann man gelegentlich von Ärzten oder aus Krankenhäusern erhalten. An Schweinen lebt *Haematopinus suis* (s. Abb. 245/1), an Hunden *Linognathus setosus*, an Pferden *Haematopinus asini*, an Ziegen *Linognathus stenopsis*, an Rindern *Haematopinus eurysternus*, *Linognathus vituli* und *Solenopotes capillatus*. Weitere Tierläuse leben auf Mäusen, Ratten, Hasen usw.

Von den Tieren werden Totalpräparate nach Methode 4 und 6 (s. S. 149, 154) hergestellt. Fixiert wird mit Formalin, Alkohol-Formalin oder Carnoys Gemisch (Fix. 2, 9 oder 10).

Haare mit angeklebten Nissen, in denen oft schon die jungen Tiere zu erkennen sind, werden ebenfalls fixiert und bei der entsprechenden Art mit eingebettet (s. Abb. 245/2).



**Wanzen (*Heteroptera*).** Große und kleine Exemplare der Bettwanze (*Cimex lectularius*) werden nach Methode 4 (s. S. 149) total eingebettet (s. Abb. 246/1). Bei großen Individuen wird der untergeklappt getragene Saugrüssel abgetrennt und gesondert eingebettet. An Stelle von Bettwanzen können auch kleine Exemplare der schwarzen, an Baumstämmen häufigen Feuerwanze (*Pyrrhocoris apterus*) oder der braunen Beerenwanze (*Dolycoris baccarum*) präpariert werden.

An der Feuerwanze können sehr gut die rudimentären Unterflügel gezeigt werden. Das Präparat wird nach Methode 1 (s. S. 139) angefertigt. Wenn viele Tiere untersucht werden, wird man feststellen, daß die Flügelreste sehr ungleichmäßig ausgebildet

Abb. 246/1 Bettwanze (*Cimex lectularius*; 8 : 1/30 : 1)

sind. Bei einigen sind sie kaum noch zu erkennen, bei anderen dagegen gut ausgebildet. Nicht selten treten Individuen auf, bei denen ein Unterflügel kaum, der andere aber stark rückgebildet ist. Vergleichspräparate über die Variabilität der Rudimente sollten angefertigt werden. Dabei muß sehr genau auf Jugendstadien geachtet werden, damit nicht Jugendentwicklung mit Rudimentation verwechselt wird.

Kescherfänge liefern räuberisch lebende Wasserwanzen (s. Abb. 254/1). Von allen Arten werden Chitinpräparate der Mundteile, der Vorder- und Hinterbeine sowie der Fußglieder angefertigt. Im Darm fast aller Wasserskorpione leben Flagellaten (*Leptomonas jaculum*).

**Gleichflügler (Homoptera).** Die Larven der Schaumzikade (*Philaenus spumarius*) leben in den als Kuckucksspeichel bezeichneten Schaumklumpen, die sich oft an Wiesenpflanzen befinden.

Kleine Larven werden total eingebettet, von den Imagines (züchten!) werden Hinterbeine, Fühler und Mundwerkzeuge präpariert. Im Kuckucksspeichel leben häufig Protozoen, vor allem Wimpertierchen. Etwas Schaum wird im Frischpräparat bei starker Vergrößerung durchmustert.

Von Mottenläusen (z. B. Weiße Fliege, *Aleurodes*) – in Gewächshäusern, aber auch im Freien an Erdbeeren, Bohnen, Salat, Gurken und Tomaten recht häufig – wird bei der Präparation die Wachsschicht mit Alkohol oder Xylol abgelöst. Die etwa 1,5 mm langen Tiere ergeben instruktive Totalpräparate.

Den Bau der Blattläuse studiert man am besten an der relativ großen, grünen oder braunen Rosenblattlaus (*Macrosiphon rosae*). Leere Häute werden nach Methode 1 (s. S. 139) eingeschlossen. Ungeflügelte und geflügelte Weibchen sowie Männchen werden nach Methode 4 (s. S. 149) kalt präpariert. Kleine Individuen der Blutlaus (*Schizoneura lanigera*) werden mit Alkohol-Formalin oder Carnoys Gemisch (Fix. 9 oder 10) fixiert und nach Methode 6 (s. S. 154) eingeschlossen. Das Endstufenxylol wird erwärmt und mehrmals gewechselt (Farbe, Wachsüberzug).

Blasenläuse sind meist Gallerreger. Oft findet man Pappelblätter, deren Stiele eigenartig verdickt und spiralg gedreht sind. Dies wird durch *Pemphigus spirothecae* verursacht. Im Juni befinden sich in den Gallen 20 bis 30 junge, ungeflügelte Blattläuse und viele leere Häute; von August an treten geflügelte Tiere auf. Aus ihren Eiern gehen Männchen und Weibchen hervor. Im Frühjahr schlüpfen aus den Wintereiern neue Stammütter, die durch Saugen wiederum Gallen erzeugen. Vergleichspräparate der einzelnen Generationen werden nach Methode 6 (s. S. 154) zur Demonstration des Generationswechsels angefertigt. Das gelingt an dieser Art besonders gut, da sie immer an der gleichen Wirtspflanze bleibt.

**Hautflügler (Hymenoptera).** Zur Einarbeitung eignet sich die Honigbiene (*Apis mellifica*). Bei den Hautflüglern können die Vorderflügel mit den meist kleineren Hinterflügeln zu einer funktionellen Einheit verbunden werden.

Einer Arbeitsbiene werden beide Flügelpaare nicht zu dicht am Körper abgeschnitten. Dabei dürfen sich Vorder- und Hinterflügel nicht voneinander lösen. Die Flügel werden je 15 Minuten in absoluten Alkohol und Xylol gelegt und dann eingebettet. Es empfiehlt sich, zwei Präparate anzufertigen – eines mit verbundenen, ein anderes mit getrennten Vorder- und Hinterflügeln (s. Abb. 248/1). Die Beine der Honigbiene werden nach Methode 4 (s. S. 149) verarbeitet. Sie werden in Kalilauge oder Nelkenöl stark aufgehellt. Die Vorderbeine haben Putzscharten, die Mittelbeine einen Sporn und die

Abb. 248/1 Honigbiene (*Apis mellifica*); oben Verbindungshäkchen des Hinterflügels, unten Leiste des Vorderflügels

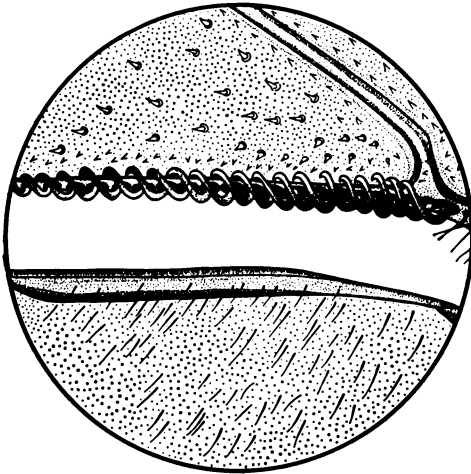
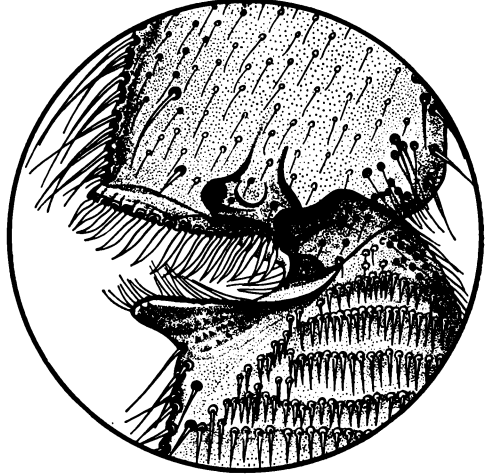


Abb. 248/2 Honigbiene (*Apis mellifica*); Hinterbein mit Körbchen, Knetzange und Borstenreihen



Hinterbeine Körbchen (Außenseite der Schiene), Knetzange oder Pollenschieber und Fersenbürste (1. Flußglied, Innenseite; s. Abb. 248/2). In einem Präparat werden ein Hinterbein mit der Innenseite und eines mit der Außenseite nach oben eingebettet.

Je ein Hinterbein einer Königin, eines Drohnen und einer Arbeitsbiene kommen zum Vergleich in ein Präparat. Auch die Fühler der genannten Formen werden in einem Präparat vereinigt. (Drohnen haben in den Fühlern wesentlich mehr Riechgruben als Arbeiterinnen.) Köpfe von Bienen und Larven werden in Kalilauge gekocht, die der Larven nur sehr kurz. Zunächst schneidet man die Mundwerkzeuge (leckend-saugend) mit einem Stück des Kopfes ab und schließt sie ausgebreitet ein. Mit einer Präpariernadel werden die großen, ovalen Hornhäute der Augen abgenommen und ungefärbt in Gelatine oder, mit Boraxkarmin oder Safranin (Färb. 8, 10) gefärbt, in Balsam eingeschlossen (Behaarung!). Mit einer spitzen Präparierschere werden die Stirnagen umschnitten und in Balsam eingebettet. Die seitlich am Abdomen liegenden Stigmen schneidet man in einem langen Kutikulastreifen aus; das unter der Flügelwurzel seitlich des Thorax liegende Stigma umschneidet man und bettet beides zusammen ein. Der Stechapparat wird herausgelöst und eingebettet (s. S. 149).

Von Ameisen werden nach Methode 4 (s. S. 149) Totalpräparate sowie Präparate der Mundwerkzeuge, Fühler, ganzer Köpfe und der Beine (Putzscharten) angefertigt.

Im Sommer sucht man Kohlweißlingsraupen, die nach Befall mit Larven der Kohlräupen-Schlupfwespe (*Microgaster glomeratus*) eingegangen sind. Die gelblichen Puppenkokons, die dicht um die tote Raupe liegen, werden im Raupenglas oder in einem mit sehr engmaschiger Drahtgaze verschlossenen Konservenglas aufbewahrt und ab und zu etwas befeuchtet. Die im Herbst oder im nächsten Frühjahr schlüpfenden Imagines werden nach Methode 4 oder 6 (s. S. 149, 154) eingebettet (Legestachel der Weibchen beobachten).

Eichengallwespen (*Cynips quercusfolii*) werden im Herbst bzw. Winter aus den Galläpfeln der Eichenblätter, Rosengallwespen (*Rhodites rosae*) aus den wie mit Moos über-

zogenen Gallen der wilden Rose (Rosen- oder Schlafäpfel) gezüchtet. Von beiden Arten werden Totalpräparate hergestellt.

**Käfer (Coleoptera).** Zur Einarbeitung eignen sich Maikäfer (*Melolontha melolontha*) und Maikäferlarven (Engerlinge) besonders gut. Es kann Frisch- oder Alkoholmaterial verwendet werden. Sämtliche Präparate werden nach Methode 4 (s. S. 149) angefertigt. Je ein ganzer Fühler eines Männchens und eines Weibchens werden in einem Präparat eingeschlossen. Einzeln eingebettete Fühlerblättchen zeigen die zahlreichen Riechgruben und Tasthärchen besonders deutlich. Stigmen (s. S. 149), Mundwerkzeuge und Beine der Imagines und Larven werden verarbeitet.

Den Hinterleib eines Maikäfers öffnet man unter Wasser, präpariert einen der silbrig glänzenden (Luftfüllung) Haupttracheenstämme vorsichtig heraus, mazeriert mit kalter Kalilauge und bettet ein. Vor dem Einbetten kann mit Boraxkarmin oder Safranin gefärbt werden (Färb. 8, 10).

Gute Studienobjekte sind Wasserkäfer und ihre Larven. Beim Gelbrandkäfer (*Dytiscus marginalis*) oder Furchenschwimmer (*Acilius sulcatus*) liegen die Stigmen unter den Flügeldecken auf der Oberseite des Abdomens (Luftblase als Atemluftreservoir). Von den Schwimmbeinen (Hinterbeinen) wird ein Präparat hergestellt (s. Abb. 254/1). Die Vorderbeine der Männchen (meist mit glatten Flügeldecken) dienen zum Festhalten der Weibchen während der Paarung. Die ersten drei der fünf Fußglieder sind stark vergrößert und scheibenartig abgeplattet. Sie tragen an der Unterfläche zwei große und viele kleine Saugnäpfe (s. Abb. 258/2). Die Mundwerkzeuge der Käfer werden herauspräpariert und eingeschlossen; der Kaumagen wird, wie auf Seite 244 beschrieben, eingebettet.

Kleine Larven des Gelbrandkäfers werden mit Kernschwarz oder Boraxkarmin gefärbt (Färb. 16, 8) und nach Methode 6 oder 9 (s. S. 154, 163) eingebettet. Von größeren Tieren werden Kopf und Hinterende (Tracheenstämme, endständiges Stigmenpaar) eingebettet. An fixierten und gefärbten Köpfen sieht man die sechs dunkel pigmentierten Augen, den Schlundring mit dem Unterschlundganglion (daneben je ein optisches Ganglion), den Schlund, die starken Oberkieferbeuger und -strecker sowie zwei starke, sich sehr fein verästelnde Tracheen. Wer die Möglichkeit dazu besitzt, sollte Mikrotomquerschnitte vom Kaumagen, Mitteldarm und Dünndarm (s. Abb. 250/1) sowie Längsschnitte durch Eiröhren eines erwachsenen Weibchens anfertigen (Oogenese). Zupfpräparate der Flügelmuskulatur zeigen sehr deutlich die Querstreifung; sie werden mit Bouin oder Formalin (Fix. 11 oder 2) fixiert, mit Hämalun, Kernschwarz oder Eisenhämatoxylin (Färb. 6, 16 oder 20) gefärbt und nach Methode 10 (s. S. 167) weiterbehandelt.

Werden Gelbrandkäferlarven in Aquarien gehalten und gut gefüttert (z. B. mit Kaulquappen, Würmern), so häuten sie sich. Leere Larvenhäute ergeben nach Alkohol- und Xylolbehandlung sehr brauchbare Totalpräparate. Zum Vergleich mit den Schwimmbeinen des Gelbrandkäfers werden die Schwimmbeine eines kleinen Taumelkäfers (*Gyrinus*) präpariert. Im Gegensatz zu den stark verlängerten Vorderbeinen (Raubbeinen) sind bei ihm die Mittel- und Hinterbeine verkürzt und zu flossenartigen Schaufeln verbreitert, die dicht behaart sind.

Weiterhin präpariert man zum Vergleich die Mundteile von Laufkäfern (*Carabidae*), kleinen Rüsselkäfern (*Curculionidae*), Leuchtkäfern (*Lampyridae*) und deren Larven. Unter den Flügeldecken vieler Laufkäferarten liegen rudimentäre Hinterflügel. Sie sind bei den einzelnen Tieren verschieden stark rückgebildet. Nach Möglichkeit wird



Abb. 250/1 Gelbrandkäfer (*Dytiscus marginalis*); Dünndarm im Querschnitt (35:1/90:1)



Abb. 250/2 Seidenspinner (*Bombyx mori*); Fühler (18:1/30:1)

das Segment, das die Hinterflügel trägt, herausgeschnitten und vorsichtig nach Methode 4 (s. S. 149) (kalte Kalilauge!) eingebettet. Man stellt mehrere Vergleichspräparate von derselben Art und von verschiedenen Arten her. In vernachlässigten Lehrmittelsammlungen, besonders in Insektenkästen, treten Kabinettkäfer (*Anthrenus museorum*, Museumskäfer) in Massen als Schädlinge auf. Leere Larvenhäute haben an zwei dichten Büscheln am Ende des Abdomens zierliche Pfeilspitzenhaare. Von einer leeren Larvenhaut wird ein Totalpräparat oder von isolierten Haaren ein Trockenpräparat hergestellt (Methode 1, s. S. 139).

**Netzflügler (*Neuroptera*).** Auf Blättern fallen ab und zu feine, weiße, aufrecht stehende Fädchen auf, die ein kleines Köpfchen tragen. Es handelt sich um die Eier der Florfliegen (*Chrysopa*), aus denen grüne Larven, die sogenannten „Blattlauslöwen“, schlüpfen. Sie ähneln den Larven der Marienkäfer und ernähren sich von Blattläusen, die sie mit ihren zangenartigen Oberkiefern aussaugen (Außenverdauung). Eier (in Glyzeringelatine), Larven und Kopfteile von größeren Larven werden zu Totalpräparaten verarbeitet. Nach Methode 4 (s. S. 149) wird ein Kopfpräparat, nach Methode 1 (s. S. 139) ein Präparat der Flügel einer Imago hergestellt. Die Imagines haben kauende Mundwerkzeuge.

Auf sonnigen Heiden findet man im trockenen Sand, am häufigsten aber unter überhängenden Böschungen, kleine Fangtrichter, die die Larven der Ameisenjungfer (*Myrmeleon formicarius*) angelegt haben. Die bis 2 cm langen, sandfarbenen Larven

(„Ameisenlöwen“) sitzen am Grund des Trichters. Sie zeigen sehr deutliche Anpassungen an ihre Lebensweise (Augen, Beine, Mundwerkzeuge).

Totalpräparate der Larve werden nach Methode 4 (s. S. 149) hergestellt; ein Kopfpräparat (s. Abb. 81/1) zeigt die großen Ober- und die schmalen Unterkiefer besonders gut.

**Köcherfliegen (*Trichoptera*).** Kleine Köcherfliegenlarven werden vorsichtig aus dem Köcher gelöst, mit kalter Kalilauge behandelt und total eingeschlossen. Von größeren Larven wird das Vorderteil präpariert.

**Schmetterlinge (*Lepidoptera*).** Die sehr umfangreiche Ordnung studiert man am besten am Kohlweißling (*Pieris brassicae*).

Die Leistungsfähigkeit eines Schülermikroskops kann an einem Präparat von Flügelschuppen eines Weibchens des Ochsenauges (*Epinephela*) geprüft werden. Die feine Querstreifung muß bei 150facher Vergrößerung deutlich zu erkennen sein. (Schuppen- bzw. Flügelpräparate s. S. 143). Fühler von Kohlweißling, Ligusterschwärmer, Stachelbeerspanner, Nonne (♂ und ♀) u. a. werden getrocknet und nach Methode 1 oder 4 eingebettet (s. Abb. 250/2).

Zum Studium der saugenden Mundwerkzeuge werden Köpfe von Kohlweißlingen und kleinen Schwärmern in Kalilauge gekocht und dann zergliedert. Die Rüsselhälften werden so in das Präparat gelegt, daß Innen- und Außenseite zu sehen sind. An den Rüsselspitzen befinden sich Tastzäpfchen.

Mikrotomschnitte durch den Kopf eines frisch geschlüpften Kohlweißlings zeigen gut den Aufbau der Facettenaugen und die Lage des dazugehörigen Ganglienkomplexes. Die Cornea eines anderen Auges wird herauspräpariert und in Gelatine eingebettet.

Zum Fang von Kleinschmetterlingen (z. B. Kleider- und Mehlmotten, Apfelwickler) werden über Nacht Schüsseln mit Wasser aufgestellt. Die mit ausgebreiteten Flügeln auf der Oberfläche schwimmenden Tiere hebt man mit einem Objektträger heraus und läßt sie staubgeschützt eintrocknen. Danach erfolgt Totaleinschluß nach Methode 1 (s. S. 139). Die Haftborsten am Vorderrand der Hinterflügel (Frenulum) sind zu beachten. Sie verbinden Vorder- und Hinterflügel zu einer funktionellen Einheit (vgl. Hautflügler S. 247).

Von ganz jungen Raupen werden Totalpräparate hergestellt. Man läßt dazu junge Larven des Ringelspinners (Gelege in Glasdosen feuchthalten) oder junge Seidenspinnerbrut vertrocknen und bettet über Alkohol, Karbolxylole (mehrere Stunden) und Xylole in Balsam ein. Stark pigmentiertes Material muß eventuell noch einige Tage in Nelkenöl oder Diaphanol aufgehellt werden (unter dem Mikroskop prüfen!).

Von großen Schmetterlingsraupen werden nach Methode 4 (s. S. 149) Präparate der Mundwerkzeuge, des Kopfes mit Punktaugen und Spinnwarzen, der Brust- und Bauchfüße, der Stigmen und Tracheen angefertigt. Zur Präparation der Tracheen werden die Raupen unter Wasser geöffnet, die silberglänzenden Tracheenstämmchen herausgelöst und kalt in Kalilauge mazeriert. Gefärbt wird mit Safranin (Färb. 10). Die Raupenhaare werden nach Methode 1 (s. S. 139) präpariert.

**Zweiflügler (*Diptera*).** Von Stubenfliegen (*Musca*, *Fannia*), Blauen Schmeißfliegen (*Calliphora erythrocephala*), Gemeinen Stechfliegen (Wadenstecher, *Stomoxys calcitrans*) und Rinderbremsen (*Tabanus bovinus*) werden Vergleichspräparate hergestellt. Die Flügel werden nach Methode 1 (s. S. 139) präpariert. Ganze Köpfe werden in Kalilauge gekocht und in Nelkenöl oder Diaphanol stark aufgehellt. Die Mundwerkzeuge trennt



man mit einem Stück des Kopfes ab. Hornhäute der Augen, Stigmen und letzte Fußglieder (Haftlappen) werden in Balsam eingebettet.

Sehr übersichtlich sind Totalpräparate kleinerer Fliegenarten. Im Spätsommer umschwärmen Fruchtfliegen (*Drosophila*) gärendes Obst in oft großen Schwärmen. Ganz kleine Individuen werden nach Methode 6 (s. S. 154), größere nach Methode 4 (s. S. 149) eingebettet (gut aufhellen!). Einzeln eingebettete Köpfe zeigen deutlich die Nebenaugen (s. Abb. 73/1). Die Männchen der Fruchtfliegen tragen an den Schienen der Vorderbeine je einen Putzkamm, der den Weibchen fehlt (Geschlechtsdimorphismus).

Stechmückenlarven fängt man im Mai und Juni am Rande stehender Gewässer mit dem Kescher und hält sie im abgedeckten Aquarium (s. Abb. 52/2). Dadurch gewinnt man viele Larven- und Puppenhäute.

Totalpräparate von Männchen und Weibchen der Stechmücke (*Culex pipiens*) und der Zuckmücke (*Chironomus*) werden nach Methode 6 (s. S. 154) angefertigt. Die Köpfe werden zur Demonstration der Mundwerkzeuge ebenfalls eingeschlossen. Flügel (Schuppen) werden nach Methode 1 verarbeitet (s. S. 139).

In Bernstein eingeschlossene Mücken, Fliegen und andere Insekten können mit schwachen Vergrößerungen untersucht werden, wenn die Oberfläche der Fundstücke einigermaßen glatt ist oder durch Bearbeitung entsprechend geglättet wird. Solche Objekte eignen sich hervorragend für vergleichende Untersuchungen und Demonstrationen.

Die gläsern durchsichtigen Mückenlarven eignen sich für Lebenduntersuchungen und Demonstrationen im Unterricht (Lebendfärbung, Projektion!). Dauerpräparate werden nach Methode 6 oder 9 (s. S. 154, 163) hergestellt. So angefertigte Präparate zeigen feinste Organisationsmerkmale. Im Kopf läßt sich zum Beispiel einwandfrei der Strudel- und Kauapparat erkennen. Ebenso deutlich sind die stark pigmentierten Augen zu sehen, die durch gut sichtbare Nervenstränge mit dem Oberschlundganglienpaar verbunden sind. Darüber hinaus zeigt das Präparat deutlich Lage und Bau des Tracheensystems.

Rote Zuckmückenlarven können, vor allem im Winter, in zoologischen Handlungen als Fischfutter gekauft werden. Sie werden zu Totalpräparaten verarbeitet. Zur Darstellung der Riesenchromosomen in den Speicheldrüsen schneidet man einer lebenden Larve das Hinterende ab und reißt dann den Kopf ruckartig mit einer Pinzette los. Bei einigem Glück bleibt der Verdauungstrakt am Kopf hängen und wird so aus dem Körper herausgezogen. Die Speicheldrüsen liegen als stecknadelkopfgroße, glänzende Bläschen beiderseits des Kopfdarms dicht hinter dem Kopf (s. Abb. 252/1).

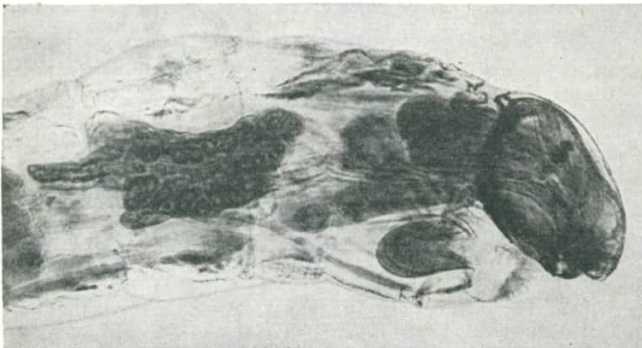


Abb. 252/1 Zuckmückenlarve (*Chironomus* sp.); Speicheldrüsen mit Riesenchromosomen (28:1/60:1)

Die Speicheldrüsen werden abgetrennt und in physiologischer Kochsalzlösung, eventuell unter leichtem Druck, untersucht. Zur Verstärkung der Kontraste wird Karminessigsäure durchgesaugt (zeichnen!). Für Dauerpräparate werden die gequetschten Speicheldrüsen unter dem Deckglas mit Bouin (Fix. 11) fixiert und nach Methode 9 (s. S. 163) verarbeitet. Zur Färbung der Präparate ist Kernschwarz (Färb. 16) besonders geeignet.

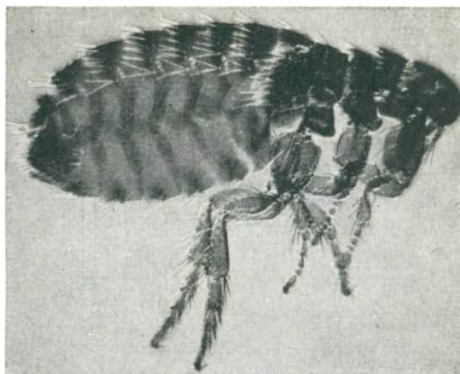


Abb. 253/1 Hundefloh (*Ctenocephalus canis*) in Übergangsbeleuchtung (8:1/16:1)

**Flöhe** (*Aphaniptera*). Menschenflöhe (*Pulex irritans*) sind nur schwer zu beschaffen, Hunde- und Katzenflöhe (*Ctenocephalus*) dagegen findet man häufiger. Auch Hühner, Mäuse, Ratten, Maulwürfe und Igel haben fast immer Flöhe. In Hundeflöhen kommen die Zystizerkoide des Hundebandwurms vor. Larven und Puppen der Flöhe kommen häufig in Mäuse- und Igelnestern vor.

Totalpräparate werden nach Methode 4 (s. S. 149), besser aber nach Methode 6 (s. S. 154) hergestellt (s. Abb. 253/1).

## Übergreifende Arbeitsgebiete und Untersuchungen bei Insekten

Obwohl die Insekten die mit Abstand artenreichste Tierklasse sind (etwa 800000 zur Zeit bekannte Arten), stimmen sie in den Grundzügen ihrer morphologischen Organisation auffallend überein. Diese Tatsache ermöglicht auch dem Anfänger viele interessante vergleichend-morphologische Untersuchungen. Auf Grund der geringen technischen Schwierigkeiten und der guten Beschaffbarkeit des Untersuchungsmaterials können Schüler der 10. Klassen und der EOS in Kursen bzw. Jahresarbeiten Themen wie die nachstehenden selbständig bearbeiten. Hier besteht eine sehr gute Möglichkeit, im Rahmen einer komplexen Leistungsanforderung den erreichten Leistungsstand zu überprüfen.

### Beintypen der Insekten

Die Gliedmaßen der Insekten gehen ontogenetisch aus seitlich gelegenen Knospen der drei Brustsegmente hervor. Phylogenetisch entstanden sie als Schreitbeine, die der Fortbewegung auf festem Boden dienten. Die Vorderbeine sind an der Vorderbrust (Prothorax), die Mittelbeine an der Mittelbrust (Mesothorax) und die Hinterbeine an der Hinterbrust (Metathorax) schräg zur Längsachse des Rumpfes eingelenkt. Jedes Bein besteht aus mehreren Gliedern (s. Abb. 254/1). Auf den obersten Beinabschnitt, Hüfte (Coxa) folgt der stets kleine Schenkelring (Trochanter). Der Oberschenkel (Femur) ist im allgemeinen der größte und kräftigste Abschnitt des Beins. Durch das scharnierartige Kniegelenk ist er mit der meist schlanken Schiene (Tibia) verbunden, die an ihrem unteren Ende oft nach unten gerichtete Sporne trägt. Die Schiene ist häufig mit Borsten oder Dornen besetzt. Auf die Schiene folgt der meist fünfgliedrige

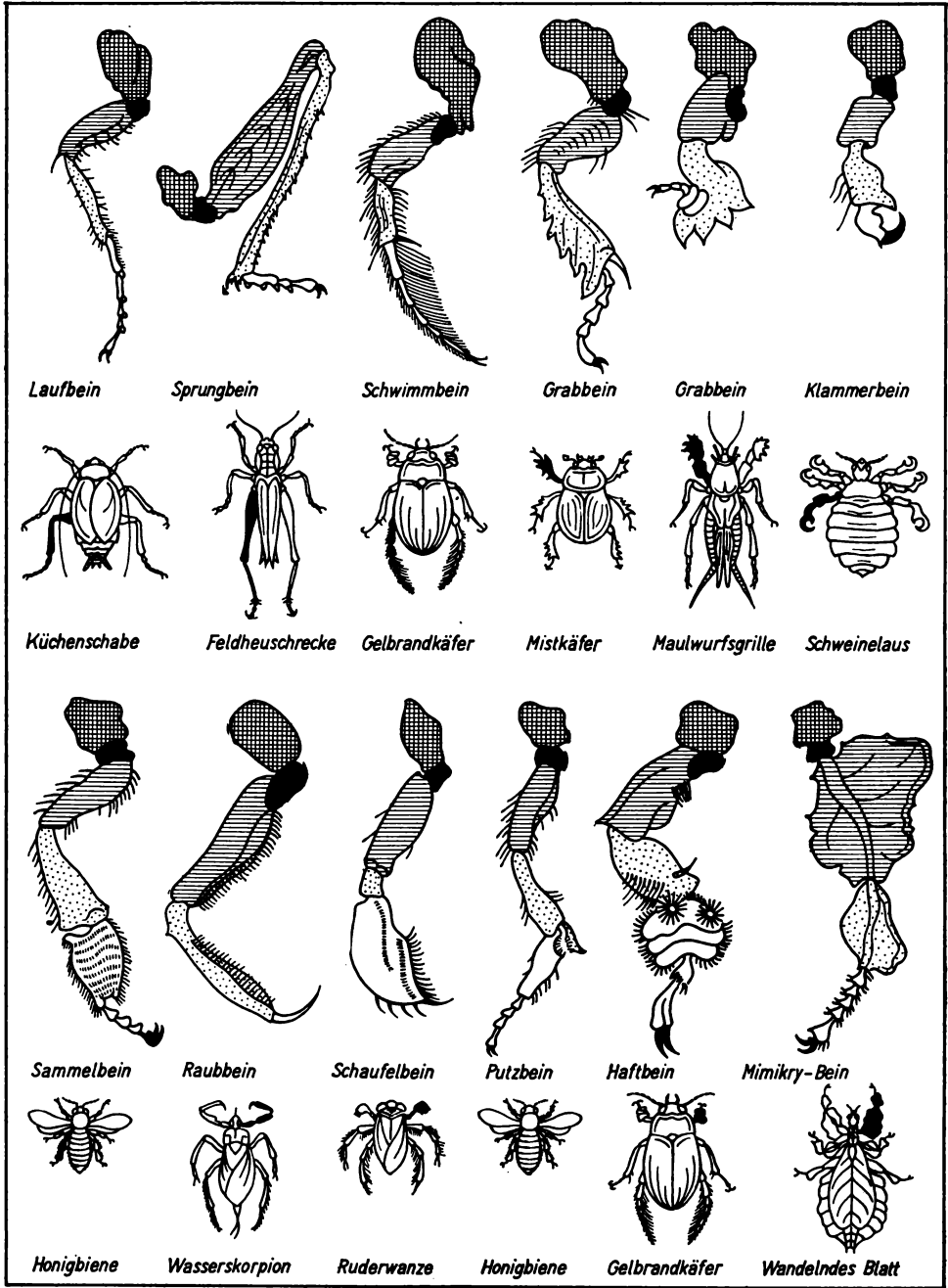


Abb. 254/1 Beintypen von Insekten

Fuß (Tarsus), dessen letztes Glied im allgemeinen einen sehr vielgestaltigen Klauen- bzw. Haftapparat (Prätarsus) besitzt. Vorwiegend paarige Klauen oder Krallen sorgen für einen festen Halt auf rauen Unterlagen. Ein unpaarer, weichhäutiger und durch Drüsenabsonderungen stets feuchter Haftlappen (Arolium) oder paarige, ebenfalls feuchte und klebrige Pulvillen (auch beides zusammen) ermöglichen festen Halt an glatten Flächen. Außerdem kann ein unpaariges Empodium als Verlängerung des letzten Tarsalgliedes hinzukommen. Zur Untersuchung des prätersalen Haftapparats eignen sich die Tarsen von Vertretern fast aller Insektenfamilien, besonders gut die der Zweiflügler (Fliegen und Mücken, s. Abb. 255/1).



Abb. 255/1 Rinderbremse (*Tabanus bovinus*); praetarsaler Haftapparat mit Krallen; Arolium und zwei Pulvillen (40 : 1/110 : 1)

**Lauf- oder Schreitbein.** Der prinzipielle Bau von typischen Lauf- oder Schreitbeinen kann an den Beinen von Schaben studiert werden (s. Abb. 254/1). Den Beinen der Schabe sehr ähnlich sind die Gliedmaßen vieler Laufkäfer (*Carabidae*).

Bei der Schabe stellt die flache, keulenförmige und relativ kleine Hüfte die gelenkige Verbindung zum Brustsegment dar, das seinerseits an dieser Stelle eine kleine Mulde, die Hüftpfanne, aufweist. Die nach hinten gerichtete Schmalseite der Hüfte besitzt eine Vertiefung, in die der Oberschenkel gelegt werden kann. Hüfte und Oberschenkel sind fest durch den kleinen, etwas seitlich gelegenen Schenkelring verbunden. Der Oberschenkel enthält kräftig ausgebildete, quergestreifte Beuge- und Streckmuskulatur. Sie läßt sich ausgezeichnet im polarisierten Licht (s. S. 59) nachweisen. Unter gekreuzten Filtern erscheinen deutlich die anisotropen und isotropen Bereiche der einzelnen, zu Muskelbündeln zusammengefaßten Muskelfasern (s. Abb. 61/1). Der Oberschenkel und der sehr schlank ausgebildete Unterschenkel sind allseitig dicht mit Dornen besetzt. Der Fuß ist fünfgliedrig. Basalglied und Endglied (Prätarsus) fallen durch ihre besondere Länge auf. Der Prätarsus trägt einen besonderen Haftapparat. Analoge Bildungen der prätersalen Haftlappen kommen als weiche Polster, sogenannte Sohlenbläschen, an den äußeren Enden der Fußglieder vor.

**Sprungbein.** Zur Untersuchung der Sprungbeine eignen sich die Schrecken (*Saltatoria*) besonders gut. Bei einem Vergleich mit den vorwiegend zum Klettern und Anklammern dienenden Vorder- und Mittelbeinen fällt die extreme Länge der zum Sprung dienenden Hinterbeine auf. Der sehr dicke Oberschenkel enthält die starke Sprungmuskulatur, während der lange, schmale Unterschenkel vorwiegend als Hebelarm dient. Er endet mit starken Sprungdornen. Während der Sprungbereitschaft stehen Oberschenkel, Schiene und Fuß z-förmig, wobei die Schienen in eine Längsfurche der Unterseite der Oberschenkel gelegt werden. Der Fuß liegt in seiner ganzen Länge dem Boden auf. Die schon erwähnten Tibialdornen, die Sohlenbläschen sowie prätersale Hafteinrichtungen sorgen dafür, daß der Fuß beim plötzlichen Strecken des Beins nicht nach

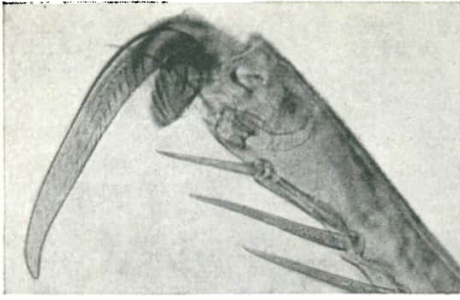


Abb. 256/1 Igelhohle (*Spilopsyllus erinaces*);  
Kralle (65: 1/140: 1)

Tarsalkralle einen für diesen Zweck besonders geeigneten Bau auf. An ihrem Grunde entspringt jeweils ein gut entwickelter Nebenzahn, der mit der Hauptkrallen einen tiefen, spitzen Winkeleinschnitt (s. Abb. 256/1) bildet, in den sich die Haare des Wirts einschließen, so daß der Fuß bei schräger Stellung zum Haar fest an ihm verankert ist.

**Schwimmbein.** Beim Braunen Teichschwimmer (*Colymbetes fuscus*) ist die Hüfte fest mit der Brust verwachsen. Schenkel und Schienen sind breit rudersförmig abgeflacht. Die mit zwei Dornen endende Schiene besitzt zwei seitliche Borstenreihen, deren äußere durch ihre besondere Länge auffällt. Der stark abgeflachte fünfgliedrige Fuß ist ebenfalls mit zwei seitlichen Borstenreihen besetzt. Hier ist allerdings die innere Borstenreihe besonders ausgeprägt. Der Krallenapparat ist wenig entwickelt. Bei der Bewegung schwingen die Schwimmbeine lediglich in der Körperebene, können dafür aber sehr weit nach vorn geschwenkt werden. Dabei wird der Hauptteil des Ruders, der mit abspreizbaren Borstenreihen besetzte Fuß, beim Vorziehen des Beins passiv abgeknickt und mit der schmalen Kante nach vorn bewegt, so daß er nur wenig Widerstand leistet. Beim Rückschlag schlägt das Ruder in voller Breite und mit abgespreizten Borstenreihen gegen das Wasser. Grundsätzlich werden beide Hinterbeine – wie Bootsruder – gleichzeitig bewegt.

Die in den verschiedensten Formen vorkommenden Schwimmbeine zeigen durchweg den gleichen grundsätzlichen Bau: Abflachung und Verbreiterung der einzelnen Beinabschnitte sowie weitgehende Vergrößerung der wirksamen Ruderfläche durch Borstenbesätze (s. Abb. 254/1).

**Grabbein.** Insektenarten, die Gänge im Erdreich graben, tiefere Bodenschichten zur Eiablage aufsuchen oder in Dunghaufen, Kot usw. wühlen, haben oft als Grabwerkzeuge ausgebildete Vorderbeine. Bei den gedrungen-kräftigen, schaufelartig verbreiterten Vorderbeinen der Maulwurfgrille (*Gryllotalpa vulgaris*) folgt einer kräftigen Hüfte ein seitlich angesetzter schmaler Schenkelring und ein verbreiteter, abgeflachter Schenkel. Die Hauptarbeit beim Graben dürfte die schaufelförmige, mit spitzen Grabzähnen besetzte und ebenfalls abgeflachte Schiene leisten (s. Abb. 254/1).

Die stark verbreiterten und gezähnten Schienen der Vorderbeine vieler Käfer – vor allem der Blatthornkäfer – zeigen, daß diese Extremitäten zum Graben benutzt werden. Typisch sind die Vorderbeine der Mistkäfer (*Geotrupes*, s. Abb. 254/1). An die Hüfte und den kräftigen Schenkel schließt die nach unten schaufelartig verbreiterte Schiene an, die an der Außenseite starke, nach unten gerichtete Grabzähne und am inneren

hinten abrutscht (s. Abb. 254/1). Die Sprungleistungen der Schrecken werden von denen der Flöhe (*Aphaniptera*) übertroffen. Als Sprungbeine dienen den Flöhen vor allem die Hinter-, aber auch die Mittelbeine. Im Gegensatz zu den Schrecken liegt die starke Sprungmuskulatur jedoch nicht nur in den deutlich verdickten Oberschenkeln. Auch die Hüften sind sehr groß und enthalten starke Sprungmuskeln. Die dichte Beborstung der Beine, unterstützt durch die langen, spitzen Tarsalkralle, dient zum Festhalten vor und nach dem Sprung (s. Abb. 253/1). Dabei weisen die

unteren Ende einen kräftigen, dolchartig gebogenen Sporn aufweist. Der fünfgliedrige Fuß ist relativ schwach ausgebildet. Ähnliche Bildungen sind bei vielen Käfern festzustellen, wenngleich gerade dieser Beintyp nach einem wenig starren Schema aufgebaut ist. So gibt es viele Arten, die graben können, ohne daß äußerlich entsprechende Veränderungen der Gliedmaßen vorhanden sind.

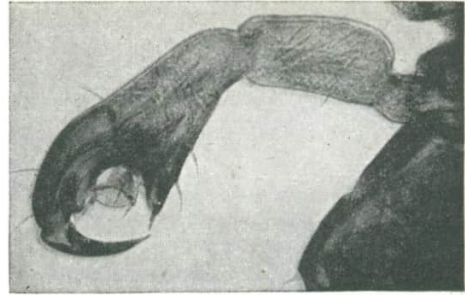


Abb. 257/1 Schweinelaus (*Haematopinus suis*); Klammerbein (36 : 1/80 : 1)

**Klammerbein.** Der Klammerbeintyp ist besonders deutlich bei Ektoparasiten ausgeprägt, die sich kletternd im Haar oder Federkleid der Wirtstiere bewegen (Anopluren, Mallophagen). Dabei sind ausnahmsweise alle drei Beinpaare betroffen. Bei der Schweinelaus (*Haematopinus suis*) (s. Abb. 254/1, 257/1) haben Schenkel und Schiene etwa gleiche Länge. Die Schiene trägt an ihrem inneren unteren Ende den für das Klammerbein typischen Daumenfortsatz. Der eingliedrige Fuß ist in seiner ganzen Breite dem Unterschenkel angewachsen und besitzt eine starke, dolchartige Kralle. Sie kann durch den Zug der Krallensehne kräftig gegen den Daumenfortsatz der Schiene eingeschlagen werden („Haarzange“). Ein zwischen Schiene und Kralle liegender, mit kurzen Dornen besetzter Haftlappen unterstützt die Haftwirkung. Derartig gestaltete Beine eignen sich vorzüglich zur Fortbewegung nach Art der Schwingkletterer, kaum aber zum Laufen auf ebener Unterlage.

**Sammelbein.** Nicht immer dienen die Extremitäten ausschließlich der Fortbewegung, sondern üben zeitweise oder ständig andere Funktionen aus (z. B. für die Nahrungsgewinnung). Bei den Arbeiterinnen der Honigbiene (*Apis mellifica*) stehen an den Längsseiten der Schiene lange Borsten. Die Schiene ist an der Außenseite muldenförmig vertieft. Das so entstehende Gebilde heißt „Körbchen“. Das erste Fußglied (Ferse) ist besonders breit ausgebildet und an der Innenseite von etwa zehn Reihen regelmäßig stehender Borsten besetzt. Mit Hilfe dieser „Bürste“ fahren die Bienen von vorn nach hinten über den Hinterleib und entfernen dabei jedes Stäubchen aus den Fiederhaaren. Mit den letzten, besonders starren Borsten der Bürste werden die an der Unterseite des Abdomens ausgeschiedenen Wachsplättchen aufgespießt und über Mittel- und Vorderbeine an die Kieferzange abgegeben. Zwischen Schiene und Ferse bleibt ein schmaler Spalt, in den eine Reihe langer, leicht gebogener, nach unten gerichteter Schienenborsten, der „Kamm“, hineinragt. Ihm gegenüber liegt die scharf ausgezogene Spitze des oberen Randes der Ferse, der „Pollenschieber“ (s. Abb. 248/2). Der am Körper der Arbeiterin haftende Pollen wird, wie schon erwähnt, von den Bürsten der Hinterbeine abgebürstet. Dann kämmt der Kamm des einen Beines den angesammelten Pollen aus der Bürste des anderen Beines heraus. Der nun im Kamm hängende Pollen gerät dann zwischen den Pollenschieber und den unteren, abgestutzten Rand der Schiene, den Pollenkneiter. In dieser „Knetzange“ werden die losen Pollenmassen zu kleinen Paketen zusammengedrückt. Beim Heben der Ferse gelangen die so entstandenen Ballen mittels des Pollenschiebers durch die Spalte der Knetzange auf die Außenseite der Schiene und werden von unten her ins Körbchen geschoben.

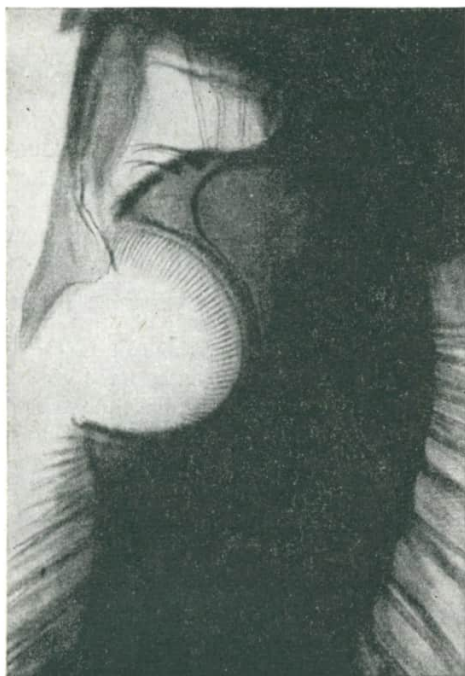
**Schaukelbein.** Die Vorderbeine der Ruderwanzen (*Corixa*) sind löffelartige Schaukelbeine mit stark verkürzter Schiene und dicht beborstetem, flächig verbreitertem eingliedrigem Fuß. Hüfte und Oberschenkel sind im Gegensatz zur Schiene gut entwickelt. Mit dem Fuß „schaufeln“ die Ruderwanzen Mikroorganismen aus dem Wasser (s. Abb. 254/1).

**Raubbein.** Bei den Raubbeinen des Wasserskorpions (*Nepa rubra*) ist die Hüfte relativ groß und nach vorn gerichtet. Der sehr muskelkräftige Oberschenkel ist so mit der schlanken Schiene verbunden, daß diese taschenmesserartig in eine tiefe Rinne des Oberschenkels geklappt werden kann. Kräftige Reihen kurzer Dorne stehen an den Innenseiten von Schenkel und Schiene und unterstützen die Wirksamkeit der Fangzange. Der eingliedrige Fuß paßt in eine tiefe Kerbe an der Basis des Schenkels. Die Länge aller Glieder sichert ein ausgedehntes Wirkungsfeld (s. Abb. 254/1). Ähnlich gebaute Raub- bzw. Greifbeine besitzen verschiedene Vertreter der Fangschrecken (*Mantodea*), der Netzflügler (*Neuroptera*) und Wanzen (*Heteroptera*).

**Putzbein.** Fast alle Insekten verwenden ihre sehr beweglichen Beine zur Reinigung des Körpers. Eine zierliche tibiotarsale Putzvorrichtung befindet sich an den Vorderbeinen vieler Hautflügler. So zeigt das erste, stark verlängerte und als Ferse bezeichnete

Abb. 258/1 Honigbiene (*Apis mellifica*); Vorderbein mit Putzscharte und Dorn (35 : 1/80 : 1)

Abb. 258/2 Gelbrandkäfer (*Dytiscus marginalis*); Vorderbein des Männchens (22 : 1/70 : 1)



Fußglied der Vorderbeine einer Honigbiene nahe der Ansatzstelle der Schiene an der Innenkante einen halbmondförmigen Ausschnitt, der mit dicht aneinandergereihten, feinen Borsten ähnlich den Zähnen eines Kammes besetzt ist. Hinzu kommt ein dreilappiger Sporn, der am unteren Ende der Schiene entspringt. Er schließt beim Beugen des Beines genau passend den Ausschnitt der Putzscharte (s. Abb. 254/1, 258/1). Zum Putzen legt die Biene den mit Pollen bestäubten Fühler in die Putzscharte, die dann vom Sporn verschlossen wird. Beim wiederholten Hindurchziehen wird der Fühler durch den Kamm gereinigt.

Weitere empfehlenswerte Untersuchungsobjekte sind die Vorderbeine der Ameisen, die mit einem Putzsporn versehenen Vorderbeine der Schmetterlinge (z. B. vom Schwalbenschwanz) oder die völlig zu krallenlosen Putzbeinen umgebildeten und zu sonstigen Funktionen untauglichen Vorderbeine vieler Tagfalter.

**Paarungsbein.** Die Vorderbeine der Männchen des Gelbrandkäfers (*Dytiscus marginalis*) sind als Paarungsbeine ausgebildet (s. Abb. 254/1, 258/2). Das ganze Vorderbein ist sehr kräftig gebaut. Die ersten drei Fußglieder bilden durch extrem starke Verbreiterung ein dicht von Borsten besetztes, scheibenartiges Gebilde, dessen Unterseite zwei große und 150 kleine, aus Saughaaren entstandene Saugnäpfe trägt. Bei genauer Untersuchung erkennt man, daß die kleinen Saugnäpfe aus einem kurzen Stiel und einem daraufsitzenen, glockenförmig gewölbten und durch feine Radiärfasern verstärkten Saugteller bestehen. Wird dieser Haftapparat auf den Halsschild des Weibchens gepreßt, so platten sich die dünnen Saugnäpfe ab, um beim Nachlassen des Anpreßdrucks, unterstützt durch die radiären Fasern, sofort wieder glockenähnliche Form anzunehmen. Ein fetthaltiges Sekret dichtet ab und schützt vor Benetzung. Dadurch entsteht unter jedem Saugnapf ein luftverdünnter Raum.

Bei *Dytiscus marginalis* unterstützen auch die Mittelbeine mit ihren länglichen, zu plattenartigen Gebilden umgeformten und unterseits mit je etwa 1000 kleinen Saugnäpfen besetzten drei ersten Fußgliedern das Anklammern. Sie werden auf die Flügeldecken gepreßt. Sowohl Hinter- als auch Mittelbeine besitzen normal ausgebildete Fußglieder.

Die Herstellung aller Präparate erfolgt nach Methode 4; Nachfärben ist nicht erforderlich.

### Mundwerkzeuge der Insekten

Sehr aufschlußreich sind Untersuchungen zur Homologie der Mundwerkzeuge der Insekten. Vom Grundtyp der beißend-kauenden Mundwerkzeuge (z. B. Schaben, Käfer, Geradflügler, Netzflügler, Libellen, Steinfliegen, viele Insektenlarven) lassen sich die speziellen Anpassungsformen der leckend-saugenden Mundwerkzeuge (z. B. höhere Hautflügler), der schlüpfend-saugenden Mundwerkzeuge (z. B. höhere Schmetterlinge) und der stechend-saugenden Mundwerkzeuge (z. B. Tierläuse, viele Zweiflügler, Wanzen, Flöhe, Blasenfüße) ableiten.

Die Mundwerkzeuge sind stets in drei Paaren vorhanden. Sie sind jedoch, der sehr unterschiedlichen Nahrung und Nahrungsaufnahme entsprechend, verschieden gestaltet. Teile der Mundwerkzeuge können reduziert sein, selten fehlen sie ganz. Über den Mundwerkzeugen liegt als Abschluß nach oben die Oberlippe (Labrum), die jedoch als unpaarig ausgebildeter Fortsatz der Kopfkapsel nicht zu den eigentlichen Mundgliedmaßen gehört. Die Oberkiefer (Mandibeln) sind als eingliedrige, kräftig chitinisierte Beißzangen ausgebildet, während die Unterkiefer (1. Maxillen) mehrgliedrig gebaut



und mit Innen- und Außenladen (Kauladen; Lobus internus, Lobus externus) sowie Kiefertastern (Palpus maxillaris) ausgerüstet sind. Die Unterlippe (Labium, 2. Maxillen) ist meist ebenfalls stark gegliedert, ihre Teile sind jedoch einander genähert und basal oder auch ganz miteinander verwachsen. Sie verschließt die Mundhöhle nach unten. Die Innenlippe (Hypopharynx) gehört als unpaarer Fortsatz des Mundhöhlenbodens ebenfalls nicht zu den eigentlichen Mundwerkzeugen.

Voraussetzung für gute und auswertbare Präparate ist eine saubere Präparation der Mundwerkzeuge. Am leichtesten lassen sich frisch getötete Insekten verarbeiten. Alkoholmaterial wird kurz in kochendes Wasser gebracht, um die harten Chitinteile und ihre Verbindungen etwas aufzulockern. Getrocknete Exemplare müssen vor der Präparation einige Tage auf feuchten Sand gelegt und dann eventuell kurz gekocht werden.

Die Zergliederung der Mundwerkzeuge wird mittels Präparier- und Lanzettnadel vorgenommen. Die Benutzung einer Kopfbandlupe, eines Präparierlupenstativs oder eines binokularen Präpariermikroskops (schwächste Vergrößerung) empfiehlt sich sehr. Bei Präparationen mit dem bloßen Auge ist zumindest eine Lupenkontrolle jeweils vor dem Herausnehmen der einzelnen Teile notwendig.

Die Zergliederung beginnt damit, daß die Oberlippe durch einen flachen Schnitt von der Kopfkapsel getrennt, mit einer Pinzette abgehoben und auf einen Objektträger in einen Tropfen Wasser gebracht wird. Danach präpariert man vorsichtig die Mandibeln heraus und legt sie ebenfalls in richtiger Lagebeziehung auf den Objektträger. In gleicher Weise werden erste und zweite Maxillen herauspräpariert und aufgelegt. Bei Arten mit stechend-saugenden Mundwerkzeugen genügt es, den Kopf des Insekts abzutrennen und – bei ständiger Lupenkontrolle – die Stechborsten etwas auseinanderzuziehen. Eine weitere Zerlegung ist nur schwer möglich und auch kaum erforderlich. Ähnliches gilt von den als Rüssel ausgebildeten Mundwerkzeugen der Fliegen, bei denen Mandibeln und 1. Maxillen fehlen. Die Herstellung von Dauerpräparaten wird sehr empfohlen (Zeitfaktor!). Sie erfolgt nach Methode 4 (s. S. 149). Die Köpfe der Insekten werden abgetrennt, in Kalilauge gekocht (Köpfe von Mücken nur kurz in heiße Kalilauge bringen!), zergliedert und entsprechend weiterbehandelt. Kurz vor der Herstellung der Dauerpräparate werden die Objektträger mit einer dünnen Schicht Balsam in Deckglasgröße beschichtet, die staubgeschützt etwas antrocknen soll. Gut entwässerte und aufgehellte (Nelkenöl) Mundteile werden aus Xylol in den angedickten Balsam übertragen. Die Teile der Mundwerkzeuge werden vorsichtig so mit einem Tröpfchen Balsam überdeckt, daß keine Luft eindringen kann (Lupenkontrolle oder Kontrolle unter dem Mikroskop auf richtige Lage und Anordnung der Teile!). Die Präparate müssen staubgeschützt etwas antrocknen. Nach 1 bis 2 Tagen wird die Balsamschicht vorsichtig so ergänzt, daß ein Deckglas aufgelegt werden kann. Diese Arbeitsweise verhindert, daß die sorgfältig angeordneten Teile beim Einschluß in Balsam durcheinanderschwimmen. Das Deckglas muß, falls erforderlich (bei beißend-kauenden Mundwerkzeugen immer) mit Füßchen abgestützt werden. Die Präparate sollen 2 bis 3 Monate waagrecht lagern.

Schnitte durch saugende Mundwerkzeuge (bei Honigbiene nur durch 2. Maxillen in Höhe der Nebenzunge) sind eine sehr instruktive Ergänzung der Totalpräparate. Die Herstellung (Methode 12) ist recht schwierig (Hinweise auf S. 244 beachten; s. Abb. 82/1).

Für weitere übergreifende Untersuchungen sind z. B. Antennentypen, Haarformen, Stigmentypen, Flügelformen und Flügelgäde sowie die Verdauungsorgane geeignet.

## Weichtiere (Mollusca)

### Schnecken (Gastropoda)

Sehr lohnend sind Beobachtungen über die Embryonalentwicklung der Schnecken, die man an Eiern der Tellerschnecken (Posthornschncke, *Planorbis*) vornimmt. Posthornschncken leben in Gräben, Altwässern, Sümpfen, stark verkrauteten Teichen und Tümpeln. Alle Tellerschnecken halten sich vorzüglich in Aquarien, so daß der Mikroskopierende zu jeder Zeit über frischen Laich, der in kleinen, rundlichen Platten an Wasserpflanzen abgelegt wird, verfügen kann.

Ganz frisch abgelegte Laichplatten bringt man zur Lebenduntersuchung mit reichlich Wasser auf einen hohl geschliffenen Objektträger, besser noch in eine entsprechend große Küvette, und untersucht mit 50- bis 200facher Vergrößerung. Dieselbe Untersuchung muß täglich wiederholt werden. In der Zwischenzeit kommt der betreffende Laichklumpen in ein kleines Kulturgefäß. Durch diese täglichen Untersuchungen ergibt sich ein fast lückenloses Bild von der Ontogenese dieser Schnecken. Das Auftreten der Richtungskörperchen und die ersten Furchungen können beobachtet werden. Es empfiehlt sich, Zeichen- oder Fotoreihen anzulegen und genau Protokoll zu führen. Der Embryo der Tellerschnecken (z. B. *Planorbis*) trägt im Ei einen Wimperapparat, mit dem er innerhalb der Eischale rotierende Bewegungen ausführt. (Dies erinnert daran, daß bei vielen Mollusken im Laufe der Ontogenese Larvenstadien auftreten, die mit Wimpern frei im Wasser umherschwimmen.) Nach dem Gastrulastadium wird bei den wasserlebenden Lungenschnecken (Pulmonaten) der Wimperapparat rückgebildet. Statt Rotationsbewegungen werden mit dem Fuß Kriechbewegungen ausgeführt. Bei genauer Untersuchung sieht man sehr deutlich an der jungen Schnecke die Ausbildung der ersten Umgänge des Hauses, das Pulsieren des Herzens sowie am Grunde der Fühler die dunkel pigmentierten Augen. Die relativ großen Objekte eignen sich hervorragend zur Lebendprojektion. Sollen Dauerpräparate entstehen, so fixiert man mit Zenker, Schaudinn oder Alkohol-Formalin (Fix. 13, 12, 9). Gefärbt wird mit Methyleneblau, Alizarinviridin oder Kernschwarz (Färb. 2, 9 oder 16), eingebettet nach Methode 9 (s. S. 163).

Den Bau der Schnecken studiert man am besten an der Weinbergschnecke (*Helix pomatia*; Naturschutzbestimmungen beachten!). Da sich die Tiere bei Behandlung mit Chemikalien sehr schnell zusammenziehen, zur Untersuchung aber ausgestreckt sein müssen, werden sie auf folgende Weise getötet: Man legt die Schnecken in Gläser, die bis an den Rand mit gut abgekochtem Wasser gefüllt sind und so verschlossen werden, daß keine Luft mehr unter dem Deckel bleibt. Die Tiere ersticken dann (2 Tage) und strecken sich dabei völlig aus. Zusatz von etwas Chloralhydrat kürzt die Zeit ab. Leider treten bei dieser Methode sehr starke Veränderungen in den Geweben auf. Für mikroskopische Zwecke wirft man daher ausgestreckte Tiere in kochendes Wasser und läßt sie einige Minuten darin. Sie werden dann aus der Schale herausgedreht; bei kleineren Formen wird die Schale vorsichtig mit der Pinzette abgetragen. Durch kurzes Einlegen in schwachen Alkohol werden die Tiere von dem reichlich ausgetretenen Schleim gesäubert.

Herauspräparierte Organe können nun mit Zenker, Schaudinn oder Alkohol-Formalin (Fix. 13, 12 oder 9) behandelt werden. Besonders instruktiv sind Querschnitte durch den Fuß und die Zwitterdrüse. Schnitte der Zwitterdrüse zeigen die Entwicklung der Ei- und Samenzellen in einem Präparat (Zwitterdrüse im Juli entnehmen). Mediane Längs-

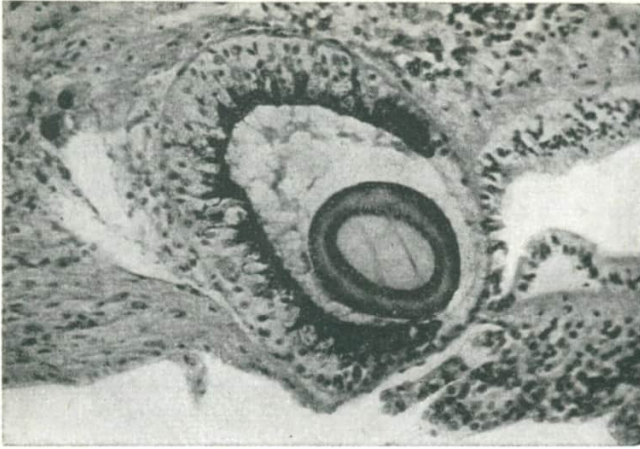


Abb. 262/1 Weinberg-  
schnecke (*Helix pomatia*);  
Längsschnitt durch den  
Fühler und das primitive  
Linsenauge (50 : 1/150 : 1)

schnitte durch den Schlundkopf (Pharynx) zeigen Kiefer und Reibplatte (Radula), die beiden wichtigsten Organe der Nahrungsaufnahme.

Um Präparate der primitiven Linsenaugen herzustellen, wird einer kriechenden Schnecke mit der Schere ein Fühler nahe der Basis abgeschnitten und in eine schwache Chromsäurelösung gelegt, in der er sich völlig streckt. Mit Nawaschin oder Alkohol-Formalin (Fix. 15, 9) wird durchfixiert. Längsschnitte zeigen das blasenförmige, unmittelbar unter dem Epithel des Fühlers gelegene Auge (s. Abb. 262/1).

Um die hornigen Reibplatten, Kiefer und Liebespfeile der Schnecke zu isolieren, wird aus getöteten Tieren vorsichtig der Schlundkopf bzw. der Pfeilsack herauspräpariert; kleine Tiere bleiben unzerlegt. Die Weichteile werden durch Kochen in Kalilauge mazeriert. Nach Auflösung der Weichteile verdünnt man die Lauge stark, gießt das Ganze in eine Petrischale und sucht, eventuell über einer schwarzen Präparierplatte, die zurückgebliebenen Hornteile heraus, die gut mit Wasser ausgewaschen werden müssen. Die Liebespfeile werden getrocknet und nach Methode 1 (s. S. 139) in Luft eingebettet. Radula (mit den Zähnen nach oben) und Kiefer werden in Glycerin-gelatine eingebettet. Sie können auch mit Boraxkarmin (Pikrinsäure-Gegenfärbung) oder Kernschwarz (Färb. 8, 16) gefärbt und in Balsam eingeschlossen werden.

## Muscheln (Bivalvia)

Teichmuscheln (*Anodonta*) leben vorwiegend in ruhigen stehenden Gewässern, Fluß-muscheln (*Unio*) in fließenden Gewässern sowie in größeren Seen und Teichen. Die Larven (Glochidien) der Teichmuschel findet man in den Sommermonaten in den Kiemen der weiblichen Tiere, die an der stärkeren Wölbung der Schale von den Männchen unterschieden werden können.

Lebende Muscheln öffnet man, indem man eine Rasierklinge auf der dem Schloß abgekehrten Seite von den Schalenspitzen her einführt und so die beiden Schalenschließmuskeln zertrennt und die Schalen auseinanderklappt. Den Schalen liegt beider-seits der Mantel des Tieres an, dem wiederum jederseits zwei Kiemenblätter folgen. Der innere Teil ist der eigentliche Körper.

Aus der lebenden Muschel werden kleine Kiemenrandstücke herausgeschnitten und in physiologischer Kochsalzlösung oder Wasser untersucht. Ebenso werden Darmstücke (s. Abb. 210/2) präpariert. Die Bewegung der Flimmerhärchen ist sehr gut zu sehen. Sehr kleine Exemplare eignen sich zur Anfertigung von Totalquerschnitten. Die Tiere werden in niedrigprozentigem Alkohol betäubt und mit Trichloressigsäure, Bouin (Fix. 6, 11) oder Pikrin-Salpetersäure (100 cm<sup>3</sup> gesättigte wäßrige Pikrinsäure + 20 cm<sup>3</sup> 65%ige Salpetersäure) fixiert und entkalkt (Entkalkung durch Einstechen mit einer Nadel prüfen). Querschnitte durch die Körpermitte werden mit Hämalaun-Eosin, Azan oder Kernschwarz (Färb. 29, 30 oder 16; Gegenfärbung mit Safranin) gefärbt und nach Methode 12 (s. S. 175) präpariert. Die Larven werden lebend untersucht. Überschüssiges Material wird mit 90%igem Alkohol, Alkohol-Formalin oder Nawaschins Gemisch fixiert (Fix. 1, 9, 15) und in 70%igem Alkohol konserviert. Zur Herstellung von Dauerpräparaten wird mit Boraxkarmin (Differenzieren mit Pikrinsäure), Kernschwarz oder Hämalaun-Eosin (Färb. 8, 16, 29) gefärbt. Dünnschliffe der Schale werden nach Methode 15 (s. S. 181) angefertigt.

### *Chordatiere (Chordata)*

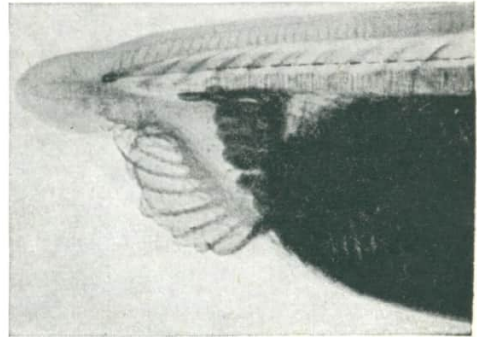
Als Untersuchungsmaterial dienen Aquarienfische, Lurche und deren Larven, Eidechsen, Schlangen, Sperlinge, Tauben, Hühner, junge Katzen und Hunde, kleine Säugetiere (z. B. Mäuse, Meerschweinchen, Ratten, Goldhamster) sowie Teile von Schlachttieren; Untersuchungen an menschlichem Material sollten ebenfalls durchgeführt werden. Fixiertes Material oder fertige Paraffinblöcke sind über Universitätsinstitute beschaffbar. Pathologisches Material gehört nicht in den Arbeitsbereich der allgemeinbildenden Schule!

Kleine Tiere werden durch Köpfen getötet, größere vorher betäubt. Den frisch getöteten Tieren werden Blut, Knochenmark, Epithelien, Nerven und Spermatozoen zur Lebenduntersuchung entnommen. Das andere Material wird sofort fixiert; es sollten möglichst alle Organe verwendet werden. Das fixierte Material wird in 70- bis 90%igem Alkohol konserviert. Als Färbungen für die Schnitte kommen Eisenhämatoxilin, Hämalaun-Eosin oder Azan (Färb. 20, 29, 30) in Frage.

Abb. 263/1 Junge Flunder (*Pleuronectes flesus*); Kopf quer (5 : 1/9 : 1)



Abb. 263/2 Lanzettierchen (*Branchiostoma lanceolatum*); Vorderende im polarisierten Licht (10 : 1/18 : 1)



Übersichtspräparate geben Einblick in den Gesamtaufbau der Tiere. Von kleinen Fischen, Lurchlarven und Reptilien werden Querschnitte der Köpfe (s. Abb. 263/1), Extremitäten usw. hergestellt. Von Embryonen fertigt man Längs- und Querschnitte, von Fischen und Lurchlarven bis zu 1 cm Länge Totalpräparate an. Die Tiere müssen vor dem Fixieren mit Alkohol betäubt werden, da sie sich sonst stark verkrümmen. Im folgenden sind die für die Schule wichtigsten Präparationen zusammengestellt.

Das Lanzettierchen (*Branchiostoma lanceolatum*) sollte unbedingt untersucht werden. Von zoologischen Stationen kann man konservierte Tiere bekommen. Kleine Exemplare werden total eingebettet und mit Boraxkarmin gefärbt (s. Abb. 263/2). Man stellt Querschnitte durch die Kiemendarmregion her. Längsschnitte zeigen den Aufbau der Chorda besonders gut. Die Pigmentbecheraugen im Neuralrohr sind zu beachten (s. Abb. 76/2).

**Haut.** Hautschnitte von Fischen, möglichst aus der Seitenlinie, zeigen die Einlagerung von Schuppen in die lockere Kutikula (Korium). Die Fischschuppen kommen als Rund- oder Zykloidschuppen und als Kamm- oder Ktenoidschuppen vor. Rundschuppen haben beispielsweise Hering, Goldfisch, Karpfen, Schleie, Hecht; Kamm- schuppen Barsch, Plattfische. Zur Herstellung von Dauerpräparaten wird die schleimige Epidermis abgerieben, mit der Pinzette werden einige Schuppen herausgezogen und in absolutem Alkohol fixiert. Sie werden mit Eosin oder Boraxkarmin (Färb. 11, 8) gefärbt und in Balsam eingeschlossen. Die Schuppen wölben sich stark, deshalb wird mit einer Wäscheklammer eine Deckglaspresse hergestellt. Die konzentrischen Zuwachszonen und die Chromatophoren sind deutlich zu sehen. Typische Amphibienhaut mit zahlreichen Drüsen kann am Frosch beobachtet werden; sie wird mit Zenker fixiert (s. Abb. 264/1). Von den Giftdrüsen an den Kopfseiten (Ohrdrüsen) des Feuersalamanders werden Schnitte angefertigt und mit Zenker oder Bouin fixiert. Längsschnitte durch ältere Schlangenen embryonen zeigen die Anlage und Verteilung der Schuppen sehr gut (s. Abb. 264/2).

Die sehr einheitlich gebaute Haut der Säugetiere besteht aus der epithelialen Oberhaut (Epidermis), der widerstandsfähigen bindegewebigen Lederhaut (Korium) und der locker gebauten bindegewebigen Unterhaut (Subkutis). Die Epidermis ist aus geschichtetem Plattenepithel aufgebaut, das in zwei Lagen angeordnet ist. Die oberste, verhornte Lage heißt Hornschicht. Die untere, deutlich abgesetzte Schicht, heißt

Abb. 264/1 Wasserfrosch (*Rana esculenta*); Schnitt durch die Haut (32 : 4/170 : 1)

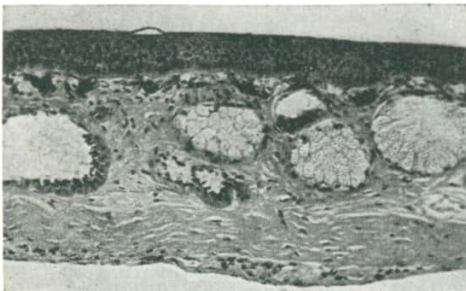


Abb. 264/2 Ringelnatter (*Natrix natrix*); Embryo, Hautquerschnitt mit Schuppen (28 : 1/50 : 1)



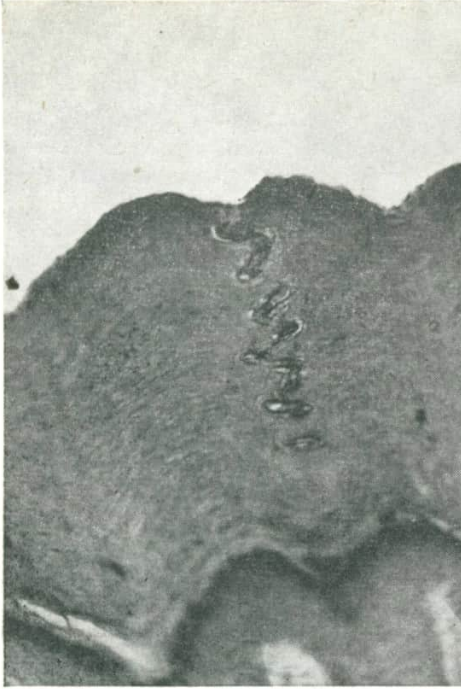


Abb. 265/1 Mensch (*Homo sapiens*); Schweißdrüsenkanal in der Hornschicht der Fingerkuppenhaut (40 : 1/110 : 1)



Abb. 265/2 Mensch (*Homo sapiens*); Schnitt durch die Haut der Fingerkuppe (10 : 1/25 : 1)

Keimschicht und schiebt ständig durch lebhaft Teilungen neue Zellen in Richtung zur Hornschicht vor. Die Lederhaut besteht aus kollagenen und elastischen Fasern bzw. Fasernetzen. Die Grenze zwischen Korium und Epidermis verläuft nicht glatt, sondern es springen bindegewebige Koriumpapillen in die Epidermis vor. Dadurch wird eine mechanisch feste Verzahnung beider Schichten erreicht. In einigen Papillen liegen Meißnersche Tastkörperchen. Das Korium wird von vielen kleinen Gefäßen durchzogen, die zum Teil der Ernährung der Epidermis dienen. Ferner durchziehen die gewundenen Ausführungsgänge der Knäuel- oder Schweißdrüsen das Korium und treten aus ihm als Schweißdrüsenkanälchen in die Epidermis über (s. Abb. 265/1). Die Schweißdrüsen selbst liegen an der Grenze von Korium und Subkutis. Die Subkutis dient als Verschiebeschicht gegenüber der meist muskulösen Unterlage und ist mit großen Fettabläppchen durchsetzt, die durch bindegewebige Membranen gegeneinander abgegrenzt sind. Neben Gefäßen treten noch Nerven und Nervenendapparate (Vater-Pacinische Lamellenkörperchen, s. Abb. 277/1) auf. Je nach Beanspruchung und Aufgabe variiert die Ausbildung der beschriebenen Schichten.

Zur Untersuchung der Säugerhaut eignen sich Schnauzenstücke von Mäusen, Lippenstücke von Kaninchen, Ballenstücke von jungen Katzen oder Hunden und Schnitte durch die Haut der Fingerkuppen des Menschen (s. Abb. 265/2).

Behaarte Stücke müssen vor dem Fixieren enthaart werden. Die Hautstücke werden

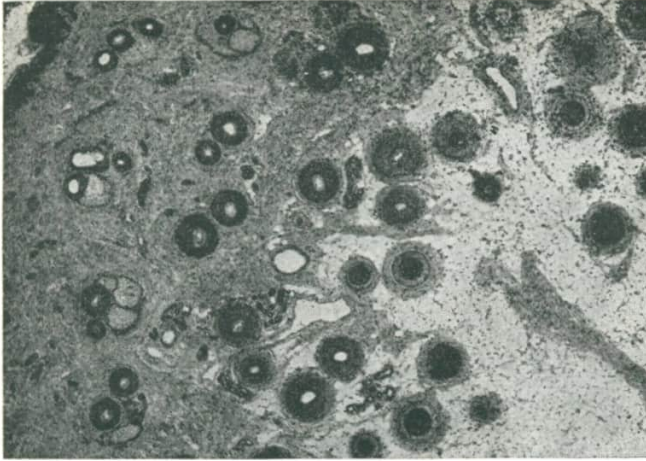


Abb. 266/1 Mensch (*Homo sapiens*); Kopfhaut im Flachschnitt (6 : 1/12 : 1)

auf Korken oder Paraffinplatten mit Stecknadeln aufgespannt. Fixiert wird in absolutem Alkohol, Zenker oder Formalin (Fix. 1, 13, 2).

Stark gehärtete Stücke können nach Methode 11 (s. S. 170) verarbeitet werden, sonst wählt man Methode 12 (s. S. 175) mit Schnittrichtung längs und quer (Flachschnitt) zu den Haaren. Sehr instruktiv sind in sehr spitzem Winkel zur Hautfläche geführte Flachschnitte durch die Kopfhaut des Menschen (s. Abb. 266/1) oder entsprechende Säugerhaut. Die gruppenweise angeordneten Haarwurzeln erscheinen im Querschnitt. Deutlich kann der bindegewebige Haarbalg (nur bis in Höhe der Haarbalgdrüsen) vom Haarschaft unterschieden werden. Da die Haarwurzeln bis weit in die Unterhaut reichen, liegen in deren Bereich Querschnitte durch das untere bis mittlere Drittel der Wurzeln, während im Bereich des Koriums Querschnitte durch das mittlere bzw. durch das obere Drittel der Wurzeln liegen. Bei den im oberen Drittel getroffenen Wurzeln sind deutlich die Haarbalgdrüsen sowie die aus glatten Muskelzellen aufgebauten Haarbalgmuskeln zu erkennen.

Haare von Säugern werden in absolutem Alkohol entfettet und nach Methode 1 (s. S. 139) eingeschlossen. (Tütenhaare der Fledermäuse, polarisiertes Licht!) Um isolierte Querschnitte durch den Haarschaft des Menschenhaares zu erhalten, wird nach dem Rasieren nochmals eingeseift und mit frischem Wasser nachrasiert. Das Abgeschabte wird mit Aqua destillata verdünnt und in ein Reagenz- oder Kelchglas übertragen. Die feinen Querschnitte sammeln sich am Boden. Sie werden nach Methode 9 (s. S. 163) eventuell mit Boraxkarmin-Pikrinsäure-Färbung eingeschlossen.

Mit dem Skalpell werden möglichst dünne Querschnitte durch trockene Igelstacheln angefertigt (Methode 1, s. S. 139). Schafwolle, Dunen und Ausschnitte aus der Fahne von Schwungfedern (Taube, Huhn) werden ebenfalls nach Methode 1 eingeschlossen.

**Magen.** Stücke aus dem Magengrund und aus der Pförtnergegend (besonders instruktiv!) eines kleinen Säugetiers werden fixiert und nach Methode 12 in Schnitte zerlegt. Die Schnitte zeigen deutlich die für den Magen-Darm-Kanal typische Gliederung in Schleimhaut, Submukosa und Muskelschicht.

Die Magenschleimhaut besitzt sehr dicht stehende Magengrübchen, die zwei Drittel der Schleimhauthöhle einnehmen. Sie tragen einschichtiges Zylinderepithel. In die

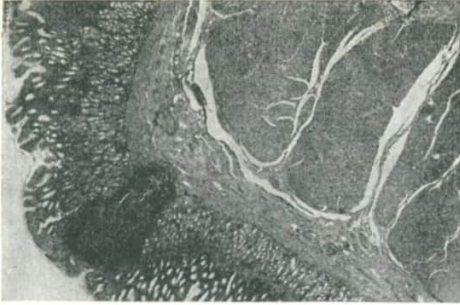


Abb. 267/1 Mensch (*Homo sapiens*); Längs-  
schnitt durch den Magenausgang (7 : 1/25 : 1)



Abb. 267/2 Mensch (*Homo sapiens*); Quer-  
schnitt durch den Dünndarm (7 : 1/25 : 1)

Magengrübchen münden die Pylorusdrüsen, die ein Drittel der Schleimhaut ausmachen. Es handelt sich um vielfach gewundene, aufgeknauelte Drüsen. In die Schleimhaut eingestreut sind Lymphknötchen. Die Schleimhaut wird nach unten durch die Schleimhautmuskulatur begrenzt. Unter der Schleimhaut liegt die aus lockerem Gewebe bestehende, Nerven und Gefäße führende Submukosa. Die am Magenausgang besonders starke Muskelschicht ist aus mächtiger innerer Ring- und äußerer Längsmuskulatur aufgebaut (s. Abb. 267/1).

Der Muskelmagen vom Sperling oder von jungen Tauben wird wie folgt untersucht: Der Magen wird gespalten, mit physiologischer Kochsalzlösung ausgespült, mit Alkohol oder Alkohol-Formalin (Fix. 1 oder 9) fixiert und in Querschnitte zerlegt.

**Darm.** Darmabschnitte des Frosches, eines Reptils und eines Säugers (besonders geeignet junge Katze oder Mensch) werden untersucht. Man spült den Zwölffingerdarm, den unteren Abschnitt des Dünndarms und den Dickdarm gut mit physiologischer Kochsalzlösung aus, spaltet sie und fixiert sie ausgespannt (auf Kork, Paraffin) mit Alkohol, Formalin oder Zenker (Fix. 1, 2 oder 13).

Ein Querschnitt durch den Dünndarm des Menschen (s. Abb. 267/2) oder eines anderen Säugers zeigt, daß die Muskelschicht aus einer äußeren Längs- und einer inneren Ringmuskelschicht besteht. Im übrigen spiegelt sich im Bau des Dünndarms als beherrschendes Prinzip die Tendenz zur Oberflächen- und damit Resorptionsflächenvergrößerung wider. Grundlage hierfür sind ringförmig angeordnete Schleimhautfalten (Ringfalten) und Schleimhautausstülpungen (Zotten).

Injektionspräparate zeigen die Gefäßversorgung des Darms (Aufbau des Dickdarms s. Abb. 80/1, 211/1). Etwa 10  $\mu$ m dicke Schnitte durch den Wurmfortsatz des Kaninchens sind sehr instruktiv. (Isolierung von Darmepithel s. S. 209.)

**Mundspeicheldrüsen und Bauchspeicheldrüse.** Von Lurchen oder kleinen Säugern (z. B. Meerschweinchen, Maus) werden Mund- und Bauchspeicheldrüsen noch warm fixiert, in Paraffin eingebettet, geschnitten und mit Hämalaun-Eosin, Azan oder Eisenhämatoxylin gefärbt (Färb. 29, 30, 20). Die Schnittdicke darf 10  $\mu$ m nicht überschreiten, weil dickere Schnitte von Drüsengewebe die typische Drüsenstruktur nicht mehr erkennen lassen.

Ein Schnitt durch die Ohrspeicheldrüse des Menschen (s. Abb. 268/1) zeigt, daß sie durch bindegewebige Septen in einzelne Läppchen gegliedert ist. Die einzelnen Läppchen werden ebenfalls von Bindegewebe durchzogen, in das – besonders charakte-



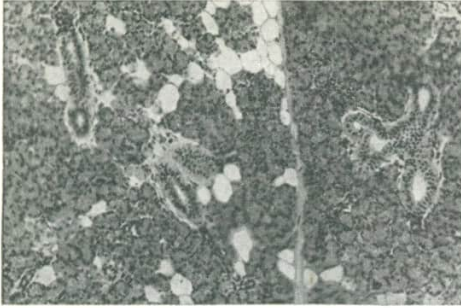


Abb. 268/1 Mensch (*Homo sapiens*); Schnitt durch die Ohrspeicheldrüse (34 : 1/60 : 1)

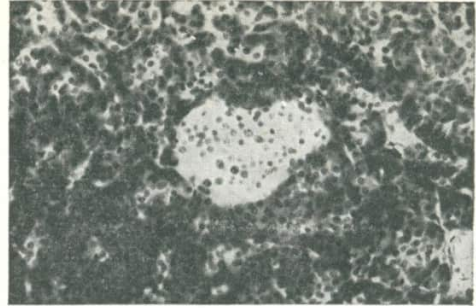


Abb. 268/2 Mensch (*Homo sapiens*); Langerhansche Insel in der Bauchspeicheldrüse (46 : 1/90 : 1)

ristisch für die Ohrspeicheldrüse – zahlreiche Fettzellen eingelagert sind. Die den wäßrigen Anteil des Speichels produzierenden serösen Drüsenendkammern liegen dicht beieinander. Durch zwischenzellige Sekretkapillaren wird der Speichel über langgestreckte Schaltstücke in die Sekrettröhren abgeführt. Diese vereinigen sich zunächst zu größeren Ausführgängen, die schließlich den Ohrspeicheldrüsengang bilden, der in die Mundhöhle mündet.

Schnitte durch das Pankreas des Menschen (s. Abb. 268/2) oder eines kleinen Säugers zeigen, daß in der Bauchspeicheldrüse zwei Drüsen räumlich vereint sind. Ein Drüsenanteil sondert den für die Verdauung wichtigen Pankreassaft ab, der über Ausführgänge in den Darm gelangt. Ein zweiter Drüsenanteil (Langerhansche Inseln) produziert das Hormon Insulin. Es wird direkt in die Blutbahn abgegeben und reguliert den Blutzuckerspiegel.

**Leber.** Vom Schwein fixiert man erbsengroße Leberstücke in Formalin, läßt sie in Alkohol wochenlang härten und fertigt Hand- oder Mikrotomschnitte an.

Einen Querschnitt durch die Leber zeigt Abbildung 269/1.

Die Leber ist, wie alle Drüsen, lappig gegliedert und besteht aus einer großen Zahl von prismenförmigen, vieleckigen Leberläppchen. Dieser Läppchenbau ist an Schnitten durch die Leber des Menschen schlecht zu sehen, da die Läppchen mehr oder weniger miteinander verschmelzen. Dagegen zeigen Schnitte durch die Schweineleber deutlich die Leberläppchen (Lobuli) und das sie trennende interlobuläre Bindegewebe. Die vieleckigen, gelegentlich mehrkernigen Leberzellen liegen in radiär angeordneten Leberzellbalken, die durch Seitenverbindungen Maschennetze bilden, in denen ebenfalls radiär angeordnete Kapillaren verlaufen. In den Leberzellen wird u. a. der Gallensaft gebildet, der durch Gallenkapillaren (s. Abb. 269/2) in die interlobulären Gallengänge fließt.

Um die venösen Blutgefäße der Leber deutlich darzustellen, wird in die Leber eines kleinen Säugers oder des Menschen von der Pfortader her erwärmte Karmin-Gelatine injiziert, die bei Gelingen der Präparation bis in die feinsten Kapillaren vordringt und sie kontrastreich darstellt. Die Leberläppchen sind in Abbildung 269/2, da es sich um menschliche Leber handelt, nur sehr undeutlich voneinander getrennt, obwohl man sie auch an der Lage der Zentralvenen und an der radiären Anordnung der Kapillaren erkennen kann. Die Schnitte können mit der Hand (nach ausreichender

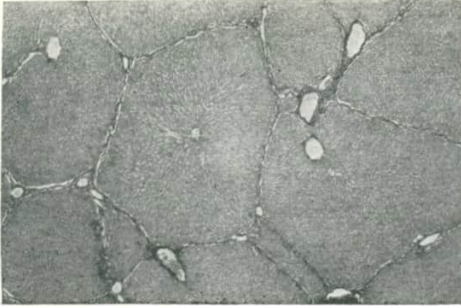


Abb. 269/1 Hausschwein (*Sus scrofa*); Leberquerschnitt (9 : 1/25 : 1)

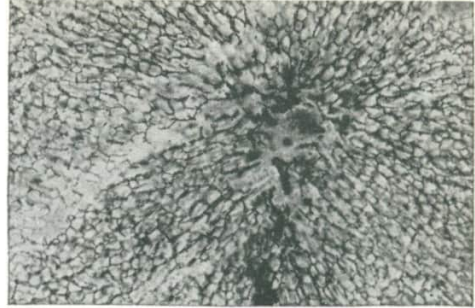


Abb. 269/2 Mensch (*Homo sapiens*); Darstellung der Gallenkapillaren der Leber durch Silberimprägnation nach Cajal (40 : 1/90 : 1)

Härtung, s. o.) hergestellt werden, da Schnittdicken von 20  $\mu\text{m}$  bis 30  $\mu\text{m}$  völlig ausreichen.

Nach Behandlung von fixierten Leberstücken mit Silbersalzen (Präparation s. S. 179) erscheinen die Gallenkapillaren schwarzbraun imprägniert (s. Abb. 269/2). Sie liegen jeweils zwischen zwei Leberzellen, verlaufen in verzweigten Zickzacklinien in den Leberzellbalken und münden in die ableitenden Gallengänge. Leberschnitte von Molchen zeigen die Gallenkapillaren auch ohne Versilberung einigermaßen gut. (Herstellung von Präparaten isolierter Leberzellen s. S. 185.)

**Niere.** Quer- und Längsschnitte durch die Niere der Maus werden (unbedingt frisch!) mit Carnoy (Fix. 10) fixiert und mit Eisenhämatoxylin (Färb. 20) gefärbt. Ähnlich gute Übersichtspräparate geben Schnitte durch embryonale Nieren von Säugern oder von Menschen. In der Niere lassen sich deutlich zwei Anteile unterscheiden: Rinde und Mark.

Wird die Nierenrinde mit stärkerer Vergrößerung untersucht, so sieht man, daß

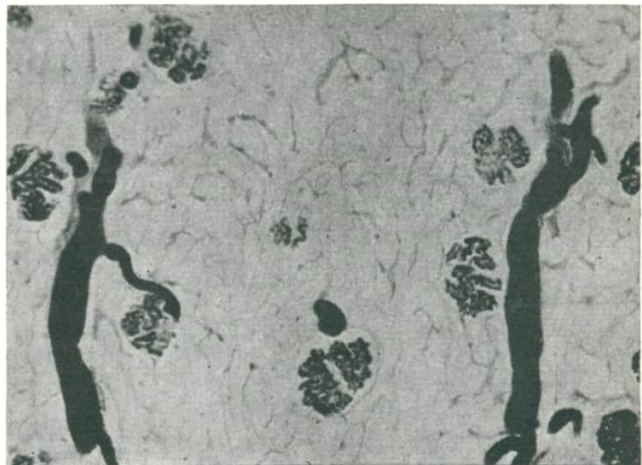


Abb. 269/3 Mensch (*Homo sapiens*); Niere, Gefäßinjektion (40 : 1/70 : 1)

jedes Harnkanälchen mit einem Malpighischen Körperchen beginnt. Dieses besteht aus einem Glomerulus (vielfach gewundene, aufgeknäuelte arterielle Kapillaren) und aus der Bowmanschen Kapsel, die den Anfangsteil eines Harnkanälchens darstellt und in die Kapillarschlingen eingestülpt ist.

Zur Isolierung der Harnkanäle werden kleine Stücke frischer Niere unfixiert in konzentrierte Salzsäure gelegt (2 bis 4 Stunden) und warm gehalten, dann mit Aqua destillata ausgewaschen und mit Eosin total gefärbt. Sie werden in einem Tropfen Glycerinwasser auf dem Objektträger zerzupft und in Glyzeringelatine eingebettet.

Sehr instruktiv sind Injektionspräparate der Niere (Methode 14). Abbildung 269/3 zeigt einen Ausschnitt aus einer Nierenrinde, deren Gefäße durch Einspritzen eines Farbstoffs in die Nierenarterie sichtbar gemacht worden sind. An den farbstoffgefüllten Arterienstämmchen sitzen die Glomeruli. Die aufgeknäuelten, vielfach gewundenen arteriellen Kapillaren der Glomeruli treten deutlich hervor.

**Lufttröhre und Lunge.** Das Epithel der Schleimhaut einer Pferde- oder Rindertrachea wird abgelöst, in Drittelalkohol mazeriert, in Glycerinwasser zerzupft und in Gelatine eingebettet. Die Lufttröhre eines Vogels oder eines Säugers wird mit Alkohol oder Pikrinsäure (Fix. 1 oder 4) behandelt und in Querschnitte von  $10\ \mu\text{m}$  zerlegt. Die Lunge eines kleinen Säugers wird von der Lufttröhre her mit absolutem Alkohol gefüllt, abgebunden, herausgenommen und total in absolutem Alkohol fixiert. Danach werden  $20\ \mu\text{m}$  bis  $30\ \mu\text{m}$  dicke Paraffinschnitte angefertigt. Eine andere fixierte Lunge wird aufgeblasen, an der Luft getrocknet und mit dem Rasiermesser in etwa  $30\ \mu\text{m}$  bis  $40\ \mu\text{m}$  dicke Schnitte zerlegt. Die trockenen Schnitte werden nach Methode 1 eingebettet. Eine Kaninchenlunge wird vom Herzen her (Lungenarterie) injiziert und in Paraffin eingeschlossen.  $50\ \mu\text{m}$  dicke Schnitte liefern instructive Bilder der starken Kapillarverzweigungen in den Alveolen. Zum Vergleich werden Längsschnitte durch die Lunge von Fröschen, Reptilien (Zauneidechse), Vögeln und Säugern hergestellt. Querschnitte durch etwa 2 cm lange Molchlarven zeigen das Nebeneinander von Kiemen und Lungen.

**Kiemen.** Kiemenbögen sehr kleiner Fische werden isoliert und in absolutem Alkohol fixiert. Eingebettet wird nach Methode 9 (s. S. 163), gefärbt mit Boraxkarmin-, Alizarinviridin- oder Kernschwarzfärbung (Färb. 8, 9 oder 16). Die Kiemen von Lurchlarven werden abgetrennt, mit Alkohol oder Bouin (Fix. 1 oder 11) behandelt und wie Fischkiemen gefärbt. Durch die Kiemenregion kleiner Fische (Köpfe in Bouin fixieren und entkalken) werden Querschnitte nach Methode 12 (s. S. 175) hergestellt und mit Kernschwarz, Hämalun-Eosin oder Azan (Färb. 16, 29 oder 30) gefärbt.

**Knochenmark** (s. S. 188). Im Mark des menschlichen Brustbeins treten regelmäßig Mitosen auf. Durch Krankenhäuser oder Ärzte kann man eventuell Sternalmarkausstriche eines an einer Blutkrankheit (perniziöse Anämie) leidenden Menschen bekommen. Sie werden nach Methode 8 (s. S. 157) behandelt.

**Blut.** Die Arbeitstechniken zur Gewinnung und Untersuchung des Blutes sind auf Seite 159 beschrieben. Aufschluß über das Verhalten der Blutzellen innerhalb der Gefäße vermitteln Untersuchungen des strömenden Blutes. Das ist allerdings nur in den Haargefäßen (Kapillaren) möglich. An jungen lebenden Lurchlarven läßt sich schon mit verhältnismäßig schwachen Vergrößerungen (Projektion) das Strömen des Blutes in den Kapillaren beobachten. Auf das Vorderteil einer möglichst kleinen Larve wird ein nasses Läppchen oder angefeuchtetes Fließpapier gelegt. Der Schwanz muß frei bleiben und wird mit einem Deckglas bedeckt. Man bringt Wasser unter das Deckglas, bei längeren Untersuchungen wird Wasser auf das Fließpapier getropft. Auch an den

Kiemens der genannten Tiere oder in den Schwanzflossen kleiner Fische kann die Blutströmung demonstriert werden. Lurchlarven können vor der Untersuchung in einem Gemisch von 100 cm<sup>3</sup> Wasser und 2 Tropfen Chloroform betäubt werden. Stehen Lurchlarven nicht zur Verfügung, so chloroformiert man einen kleinen (!) Frosch und untersucht die aufgespannten Schwimmhäute im Durchlicht. Ein Nagelfalz der menschlichen Hand eignet sich ebenfalls zur Beobachtung. Man bringt einen Tropfen Immersionsöl auf den Nagelfalz des kleinen Fingers, legt ein Deckglas auf und beobachtet die Kapillarschlingen mit schwacher Vergrößerung im Auflicht (evtl. noch Sammellinse vor eine starke künstliche Lichtquelle schalten). Damit der Finger stillliegt, drückt man ihn in Plastilin ein und stützt den Arm durch Kissen oder Bücher. Beobachtet werden: Axial- und Randstrom, kontinuierliche Strömung trotz rhythmischen Herzschlags, Verengung und Erweiterung von Kapillaren. (Zeichnen! Salzgehalt des Blutes s. S. 159.)

Zur Darstellung von Hämoglobinkristallen (Blutfarbstoff) wird frisches Blut eines Säugetiers in einem Glasgefäß aufgefangen und sofort mit einem möglichst rauhen Holzstab geschlagen. An dem Schlagholz sammelt sich das Fibrin (Blutfaserstoff) in Fäden an. Nach beendeter Defibrinierung wird das Blut durch Leinwand filtriert, jeweils ein Tropfen in die Mitte eines Ringes aus Balsam (Lackringdrehscheibe, s. S. 141) gebracht und mit einem Deckglas verschlossen. Das Ganze muß einige Stunden waagrecht liegen; dann haben sich im Präparat viele Hämoglobinkristalle gebildet. Am besten eignet sich Blut von Meerschweinchen, das Kristalle in Tetraederform bildet. Auch das Blut anderer Säuger kann untersucht werden. Hamster, Pferd, Hund und Katze eignen sich gut.

Häminkristalle (salzsaures Hämatin) erhält man aus jedem eingetrockneten Blutrest. Eintrocknete Blutreste werden abgeschabt und auf einem Objektträger mit Kochsalz-Eisessig-Lösung (5%ige NaCl-Lösung + Eisessig, 1 : 3) verrührt. Über kleiner Flamme wird vorsichtig bis zur Blasenbildung erhitzt; dann läßt man langsam abkühlen und eintrocknen, spült Objektträger und Deckgläser in Xylol ab und bettet schließlich in Balsam ein. Dieses Verfahren war früher als gerichtlicher Blutnachweis wichtig. Man kann auch kleine Stoffstücke mit Blutflecken in wenig Eisessig mit etwas Kochsalzzusatz vorsichtig kochen; einzelne Tropfen der noch warmen Flüssigkeit werden auf angewärmte Objektträger gebracht und wie oben weiterbehandelt. Blut wird auf Grund des Vorhandenseins von Häminkristallen nachgewiesen.

**Blutgefäße.** Blutgefäße kommen in jedem Organ- oder Gewebeschnitt vor. Stücke der Aorta und der großen Körperhohlvene werden oberflächlich herausgelöst, an Streichhölzer gebunden und in absolutem Alkohol oder Formalin (Fix. 1, 2) fixiert. Nicht festgebundene Gefäße krümmen sich zu stark. Paraffinschnitte von 20 µm werden angefertigt und in Alizarinviridin mit Pikrinsäure (Färb. 9) oder Hämalaun-Eosin (Färb. 29; beste Färbung Elastin oder Resorzin-Fuchsin) behandelt. Abbildung 272/1 zeigt eine Arterie und eine Vene im Querschnitt.

Gute Übersichtspräparate werden gewonnen, wenn man von einem ganz frischen Schweinehirn mit der Pinzette ein Stück der weichen Hirnhaut (den Windungen anliegend) abhebt. Aus ihr können leicht einige feine Adern herausgezogen, in Formalin fixiert und nach Methode 9 (s. S. 163) in Boraxkarmin mit Pikrinsäure, Kernschwarz oder Eisenhämatoxylin (Färb. 8, 16, 20) gefärbt und eingeschlossen werden. Wenn dieses Totalpräparat unter ständiger Drehung des Feintriebs schichtweise durchgemustert wird, erkennt man ebenfalls, daß die Aderwand aus drei Schichten aufgebaut ist.

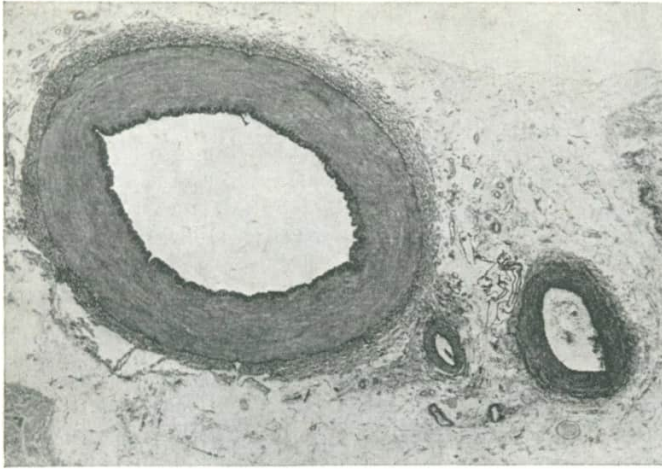


Abb. 272/1 Mensch (*Homo sapiens*); Querschnitt durch Blutgefäße (8 : 1/28 : 1)

**Herz.** Das Herz von Fischen, Fröschen, Reptilien und kleinen Säugern wird mit physiologischer Kochsalzlösung durchgespült und in absolutem Alkohol (mehrmals wechseln!) oder Formalin (Fix. 1, 2) fixiert. Man schneidet längs frontal durch Basis und Spitze, quer durch die Kammern. Die Schnitte werden nach Methode 12 (s. S. 175) behandelt und mit Hämalaun-Eosin (Färb. 29) gefärbt. (Herzmuskelgewebe s. S. 219.)

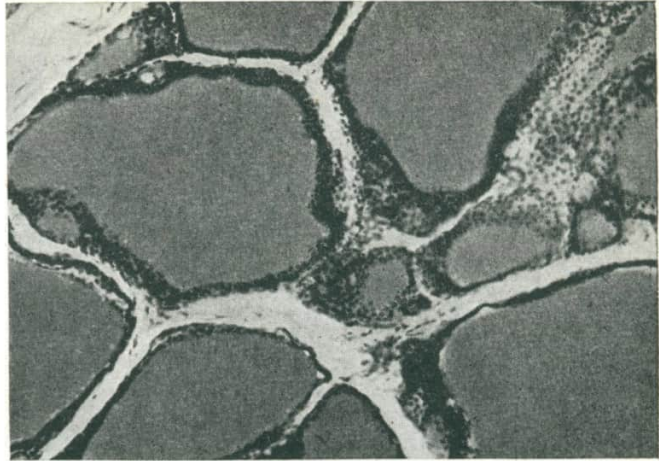
**Innersekretorische Drüsen.** Drüsen mit innerer Sekretion sind schwierig zu präparieren. Die Schilddrüse eines Kaninchens, einer Katze oder eines Hundes wird frisch in Formalin (Fix. 2) fixiert (kleine Stücke!). Schnitte von  $10\ \mu\text{m}$  werden mit Eisenhämatoxylin (Färb. 20, Gegenfärbung Orange G), Azan oder Hämalaun-Eosin (Färb. 30 oder 29) gefärbt. Das Lumen der aus Epithelien gebildeten Drüsenfollikel ist mehr oder weniger stark mit Drüsenkolloid gefüllt; auffallend ist der Reichtum an Blut- und Lymphgefäßen (s. Abb. 273/1).

**Keimdrüsen und Geschlechtszellen.** Lebende Spermien werden dem Hoden oder der Samenblase eines Frosches während der Laichzeit entnommen (s. S. 204). Zugabe von physiologischer Kochsalzlösung regt die Bewegungen der Spermien an. Nebenhoden von Ratten, Mäusen und Kaninchen (zu jeder Jahreszeit geeignet) werden in physiologischer Kochsalzlösung zerzupft. Das Präparat wird bei enger Blende und stärkster Vergrößerung im Dunkelfeld untersucht. Dauerpräparate werden nach Methode 8 (s. S. 157) hergestellt. Sehr brauchbare Ausstrichpräparate liefert auch die Opalblau-methode (s. S. 156). Ein Spermotropfen (möglichst aus dem Nebenhoden) wird mit einem gleich großen Opalblautropfen verrührt und dünn ausgestrichen. Nach Luft-trocknung wird in Balsam eingeschlossen.

Spermien von Fröschen kann man sich zu jeder Jahreszeit beschaffen. Einem Männchen werden  $2\ \text{cm}^3$  bis  $4\ \text{cm}^3$  Schwangerenharn unter die Haut oder in die Leibeshöhle injiziert. Etwa 2 Stunden nach der Injektion befinden sich große Mengen beweglicher Spermien in der Kloakenflüssigkeit und können von dort mit einer Pipette entnommen werden. Die gleiche Wirkung läßt sich mit Lösungen erreichen, die gonadotropes Hormon enthalten. Untersucht wird im hängenden Tropfen (Vitalfärbung mit Neutralrot).

Ratten- oder Mäusehoden werden in Formalin oder Nawaschins Gemisch (Fix. 2

Abb. 273/1 Mensch (*Homo sapiens*); Follikel der Schilddrüse (40 : 1/110 : 1)



oder 15) gebracht, nach 1 bis 2 Stunden mehrmals tief eingeschnitten und 2 bis 4 Tage durchfixiert. Dann werden Paraffinschnitte von 5  $\mu\text{m}$  bis 10  $\mu\text{m}$  hergestellt und mit Eisenhämatoxylin, Hämalaun-Eosin oder Azan (Färb. 20, 29 oder 30) gefärbt.

Eierstöcke (Ovarien) von Fröschen (Juli bis August), jungen Hühnern, Mäusen, Ratten, Kaninchen werden mit Zenker fixiert und in Schnitte von 15  $\mu\text{m}$  zerlegt (s. Farbtafel 3, Abb. c). Sie werden entweder wie Hoden oder mit Safranin-Lichtgrün (Färb. 25) gefärbt.

#### Zentrales Nervensystem. (Nervengewebe s. S. 219.)

Die Zellformen werden am Groß- und Kleinhirn der Katze demonstriert. Eine Übersicht über den Bau des Wirbeltiergehirns geben Längsschnitte durch den Kopf größerer Embryonen. Man fixiert total in Bouin (Fix. 11) oder nimmt das Gehirn heraus und behandelt es mit Formalin (Fix. 2). Senkrechte Schnitte durch die Großhirnrinde erwachsener Säuger geben gute Übersichtsbilder. Besonders instruktives Studienmaterial gewinnt man, wenn Schnitte vom gleichen Paraffinblock sowohl mit einer Zellfärbung (z. B. Hämalaun-Eosin, Eisenhämatoxylin) als auch, zum Vergleich, mit einer Markscheidenfärbung behandelt werden. Die Durchführung der Markscheidenfärbung ist schwierig und setzt das Studium von Spezialliteratur voraus.

Querschnitte durch das Rückenmark werden nach Methode 12 hergestellt; Fixierung und Färbung erfolgen wie beim Großhirn. Besonders wertvoll sind auch bei diesem Objekt Markscheidenfärbungen. Abbildung 274/1 zeigt einen Querschnitt durch das Brustmark des Menschen. Die beim Rückenmark zentral gelegene graue Substanz hat im Querschnitt die Form eines Schmetterlings und wird lückenlos von der weißen Substanz umschlossen. Die graue Substanz besteht vorwiegend aus Nervenzellen, die weiße Substanz besteht aus markscheidenhaltigen Nervenfasern.

**Sinnesorgane.** Die Augen eines kleinen Säugers, eines Vogels, eines Amphibiums und eines Fisches werden so herausgenommen, daß ein Stück des Sehnervs am Auge bleibt. Eine Auge wird total fixiert, seitlich wird ein Fenster eingeschnitten. Das Auge kommt für mindestens 10 Tage in Formalin. Es wird für Übersichtspräparate 20  $\mu\text{m}$  bis 30  $\mu\text{m}$  dick geschnitten. Der Block muß nach jedem Schnitt mit geschmolzenem Paraffin überzogen werden. Trotzdem kommt es oft vor, daß die Linse splittert. Ein anderes



Abb. 274/1 Mensch (*Homo sapiens*); Querschnitt durch das Rückenmark; Markscheidenfärbung (3 : 1/8 : 1)

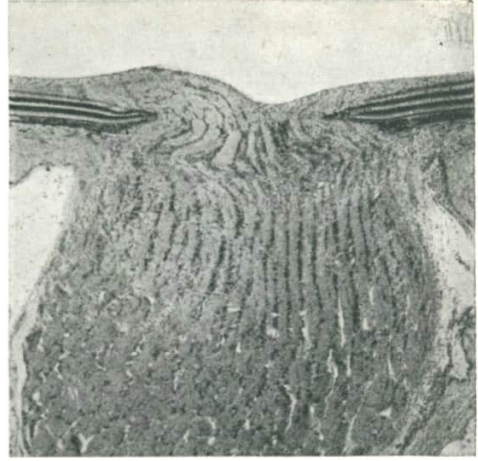


Abb. 274/2 Mensch (*Homo sapiens*); Eintritt des Sehnervs in die Netzhaut (blinder Fleck; 7 : 1/24 : 1)

Auge wird durch einen Schnitt in eine vordere und eine hintere Hälfte zerlegt; man läßt den Glaskörper ausfließen und entfernt vorsichtig die Linse (schlecht schneidbar). Beide Hälften werden in Zenker oder Susa (Fix. 13, 14) fixiert, sehr vorsichtig entwässert, in Paraffin eingebettet und in 5  $\mu\text{m}$  bis 10  $\mu\text{m}$  dicke Schnitte zerlegt. (Aufbau der Netzhaut s. Abb. 211/3, 275/1.) Sehr wertvoll sind Schnitte, die den Eintritt des Sehnervs in das Auge zeigen (s. Abb. 274/2).

Schnitte durch Köpfe kleiner Tiere ergeben instructive Übersichtspräparate (s. Abb. 263/1). Die Unterschiede zwischen Hell- und Dunkeladaptation der Augen (retinomotorische Verschiebung des Pigments) können gut demonstriert werden. Dazu werden die Netzhäute der Augen eines Frosches, der vor dem Töten 2 Stunden lang im Dunkeln gehalten wurde, und eines Frosches, der im Hellen saß, präpariert (s. Abb. 275/1).

Die Entwicklung des Auges verläuft bei allen Wirbeltieren im Prinzip gleichartig. Zur Demonstration werden Hühnerembryonen verarbeitet. Von Entwicklungsstadien werden nach 24, 36, 48 und 72 Stunden Fixierung Kopfquerschnitte angefertigt. Man kann auch Lurchlarven in verschiedenen Stadien aus dem Laich herausnehmen (s. S. 204f.) und von ihnen Kopfquerschnitte herstellen.

Der wichtigste Teil des Gehörorgans ist die Hörschnecke, die mikroskopisch sehr schwer zu verarbeiten ist. Man wählt den Kopf eines ganz jungen Kaninchens oder Meerschweinchens (Knochenteil z. T. noch knorpelig!), zieht die Haut ab, löst die Felsenbeine heraus und öffnet sie vorsichtig mit einem starken Skalpell (flach anschneiden). Die Schnecke ragt frei in die Lichtung des Felsenbeins hinein. Man muß möglichst viel Knochensubstanz wegbrechen und nur die Schnecke mit den sie unmittelbar umgebenden Knochenteilen in Trichloressigsäure oder Bouin (Fix. 6, 11) entkalken und fixieren. Sie kann auch in Formalin oder Chromsäure-Eisessig fixiert und danach mit verdünnter Salpetersäure entkalkt werden (s. S. 175). Die Paraffinschnitte (10  $\mu\text{m}$  dick) müssen längs der Spindel liegen und diese treffen. Jede Schnecke liefert nur wenige gute Schnitte, die das Cortische Organ, einen die Hörzellen tragenden

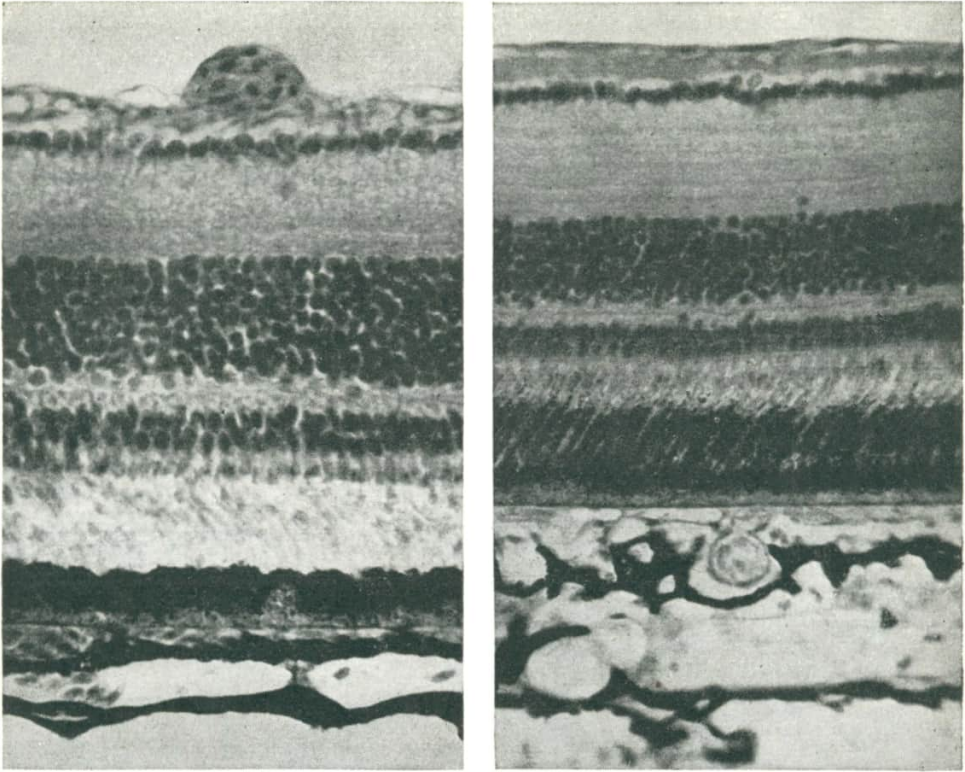


Abb. 275/1 Wasserfrosch (*Rana esculenta*); Netzhaut links dunkel, rechts hell adaptiert (120 : 1/300 : 1)

Epithelwulst, klar zeigen (s. Abb. 276/1). Sie werden mit Hämalaun-Eosin oder Azan (Färb. 29 oder 30) gefärbt.

Zur Darstellung der **Riechzellen** wird der enthäutete Kopf eines kleinen Säugers längs gespalten, kleine Stücke der bräunlich gefärbten Riechschleimhaut werden zur Mazeration für einige Stunden in Drittelalkohol gebracht, dann 10 Minuten in schwache Formalinlösung gelegt und auf dem Objektträger in Glycerinwasser zerzupft. Anschließend wird Methylenblau oder Eosin durchgesaugt. Ein weiteres Stück der bräunlichen Nasenschleimhaut wird in Pikrinsäure oder Nawaschins Gemisch (Fix. 4 oder 15) gelegt; 10  $\mu\text{m}$  dicke Paraffinschnitte werden angefertigt (s. Abb. 276/2) und mit Eisenhämatoxylin, Hämalaun-Eosin oder Azan gefärbt (Färb. 20, 29 oder 30). Für Übersichtspräparate fertigt man Längsschnitte durch den Kopf eines Molches an, fixiert sie mit Zenker (Fix. 13) und entkalkt sie anschließend mit Trichloressigsäure (Fix. 6) oder verdünnter Salpetersäure. Auch Querschnitte durch die Schnauzenregion der Embryonen von Katze, Hund oder Schaf sind geeignet.

Zur Darstellung der **Geschmacksknospen** werden die blättrigen Papillen der hinteren Seitenränder der Zunge eines Kaninchens in Zenker oder Susa fixiert, quer zur Blatt- richtung 10  $\mu\text{m}$  stark geschnitten und wie Riechzellen gefärbt (Färb. 20, 29 oder 30;



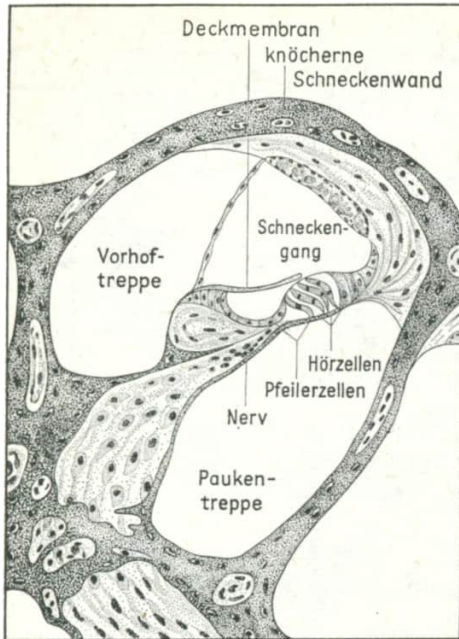


Abb. 276/1 Hausmaus (*Mus musculus*); Querschnitt durch einen Umgang der Gehör-schnecke

Lamellenkörperchen sind auch in Querschnitten durch die Bauchspeicheldrüse zu finden (s. Abb. 277/1).

Es handelt sich um elliptische, bis zu 4 mm lange und 2 mm dicke Endkolben, die aus Achsenzylinder, Innenkolben und Hülle bestehen. Die Hülle wird von einer großen

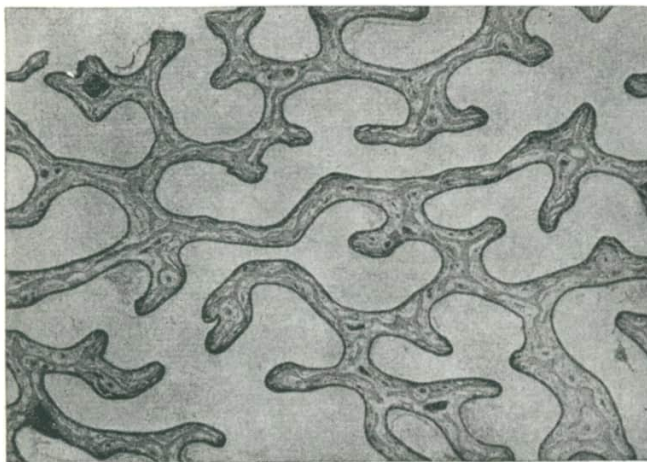


Abb. 276/2 Kaninchen (*Oryctolagus cuniculus*); Riechschleimhaut (6:1/18:1)

s. Abb. 80/2). Bei anderen Säugern wird die Zunge in Querschnitte zerlegt. Umwallte und blättrige Papillen stehen stets am Zungengrund, die pilzförmigen Papillen sind über Fläche und Rand der Zunge verteilt.

Bei Fischen stehen die Geschmacksknospen auch auf der Körperoberfläche, vorwiegend an den Lippen und auf den Bartfäden. Bartfäden von Karpfen, Schleien und Barben werden fixiert, eingebettet und in Quer- und Längsschnitte zerlegt. Die Zunge eines Frosches wird vorsichtig herausgelöst, fixiert und gefärbt. Längsschnitte zeigen auf dem Zungenrücken zahlreiche Papillen.

Vater-Pacinische Körperchen (Lamellenkörperchen) sieht man mit bloßem Auge im Gekröse (Mesenterium) einer jungen Katze in der Gegend des Blinddarms und der Bauchspeicheldrüse liegen. Sie werden umschnitten und frisch in Methylenblau untersucht. Dauerpräparate werden nach Methode 9 (s. S. 163) mit Alkohol oder Formalin fixiert (Fix. 1 oder 2) und mit Methylenblau, Kernschwarz oder Eisenhämatoxylin (Färb. 2, 16 oder 20) gefärbt.

Anzahl ineinandergeschachtelter konzentrischer Lamellen gebildet, die aus flachen Bindegewebszellen (Kerne!) bestehen. Die von den einzelnen Lamellen gebildeten Kapseln sind mit einer eiweißreichen Flüssigkeit gefüllt. Die in das Lamellenkörperchen eintretende Nervenfasern füllt mit vielen feinsten Verästelungen den Innenkolben aus. Die Lamellenkörperchen übermitteln Druckempfindungen und Spannungszustände.

**Herbstsche und Gandrysche Körperchen** befinden sich beispielsweise in der gelben Schnabelwachshaut junger Enten oder in der Rüsselscheibe von Schweinen (s. S. 175 und Abb. 179/1).

Kleine Stücke von der Rüsselscheibe eines Schweins werden in 10%igem Formalin oder in Susa (Fix. 2, 14) fixiert, in 20 µm dicke Schnitte zerlegt und mit Eisenhämatoxylin, Hämalan oder Azan (Färb. 20, 29, 30) gefärbt.

**Meißnersche Körperchen** sieht man auf Schnitten durch die Fingerkuppe des Menschen. Abbildung 277/2 zeigt, daß das Tastkörperchen in einer Lederhautpapille der Fingerkuppe dicht unter der Keimschicht der Epidermis liegt. Es hat elliptische Form und wird aus vielen keilförmigen Tastzellen aufgebaut, die schraubig quer zur Längsachse stehen. Jede Tastzelle wird von feinsten Nervenfasern umspinnen. Eine bindegewebige Hülle umgibt das druckempfindliche Körperchen, das die aufgenommenen Reize über einen ableitenden Nerv weitergibt.

Abb. 277/1 Hauskatze (*Felis catus*); Bauchspeicheldrüse im Querschnitt mit Vater-Pacinischem Lamellenkörperchen (40 : 1/140 : 1)



Abb. 277/2 Mensch (*Homo sapiens*); Meißnersches Tastkörperchen in der Haut der Fingerkuppe (50 : 1/150 : 1)



## Spezielle Anweisungen zur Herstellung botanischer Präparate

Ein botanisches Praktikum setzt bei weitem nicht so viele Hilfsmittel und Techniken voraus wie ein zoologisches. Komplizierte Schnitt- und Einbettungstechniken brauchen in den meisten Fällen nicht angewendet zu werden, da das Material für histologische Untersuchungen fast durchweg mit dem Rasiermesser geschnitten werden kann.

Die erforderlichen Objekte – man wählt möglichst bekannte und verbreitete Arten – können beispielsweise auf Exkursionen, im Schulgarten oder durch Kultur in der Biologischen Ecke meist leicht gewonnen werden. Material, das nicht sofort verwendet wird, sondern beispielsweise für später durchzuführende Praktika dienen soll, muß konserviert werden.

Als **Konservierungsflüssigkeiten** dienen für kräftige Objekte 90%iger Alkohol, für zarte Objekte 3- bis 4%ige Formalinlösung. Beide Mittel härten stark, das stört aber meist nicht. Von Natur aus harte Pflanzenteile werden besser in einem Gemisch von absolutem Alkohol, Glycerin und destilliertem Wasser (1:1:1) konserviert. Alle Objekte müssen vor dem Einlegen gut gesäubert und von überflüssigen Teilen befreit werden. Konservierte Teile werden vor der weiteren Verwendung kurz, aber gründlich ausgewaschen.

Alle Pflanzenteile sind vor dem Konservieren sorgfältig zu fixieren.

Als **Fixierflüssigkeiten** dienen vor allem Alkohol, Formalin, Chromsäure-Eisessig, Alkohol-Formalin, Alkohol-Eisessig und Nawaschins Gemisch (Fix. 1, 2, 7, 9, 10, 15). In hochprozentigem Alkohol treten bei zarten Objekten Schrumpfungen und Zerreißungen auf, deshalb dürfen in ihm nur widerstandsfähige Teile, zum Beispiel verholzte Sproßstücke, fixiert werden.

Speziell für Algen eignet sich das Pfeiffersche Fixiergemisch (Formalin, Essigsäure und Methylalkohol im Verhältnis 1:1:1). In diesem Gemisch können Algen auch aufbewahrt werden. Ausgewaschen wird mit 40- bis 50%igem Alkohol. Das Pfeiffersche Gemisch löst Kalk; Armluchteralgen werden besser nicht damit fixiert.

Beim Fixieren botanischer Objekte ist folgendes zu beachten: Da pflanzliche Gewebe vielfach Luft enthalten, dringen Fixierflüssigkeiten ohne Alkohol nur langsam oder unvollständig ein. Man fixiert in Reagenzgläsern und pumpt mit der Wasserstrahlpumpe (s. S. 38) so lange vorsichtig aus, bis die Objekte untersinken.

Fast sämtliche Fixierflüssigkeiten ziehen Chlorophyll aus. Sollen Pflanzenteile ihre natürliche Farbe auch in den fertigen Präparaten behalten, so fixiert man in Kupferlaktophenol (Culactol) und schließt in Kupferlaktophenolglyzeringelatine (Culactol-gelatine) ein.

Culactol wird folgendermaßen hergestellt: 20 g Phenol (Karbolsäure, kristallisiert), 20 g Milchsäure, 20 g Aqua destillata und 40 g Glycerin werden gemischt. Dieses Gemisch heißt Laktophenol. 0,2 g Kupferchlorid werden in 50 cm<sup>3</sup> destilliertem Wasser

und 0,2 g Kupferazetat in 45 cm<sup>3</sup> destilliertem Wasser gelöst. Beide Lösungen werden miteinander vermischt. Diesem Gemisch werden 5 cm<sup>3</sup> Laktophenol zugesetzt. Culactol ist nur 3 bis 4 Wochen haltbar; wenn es sich grünlich färbt, ist es nicht mehr brauchbar.

In Culactol werden die Pflanzen, zum Beispiel Algen, schon am Sammelort eingelegt und mindestens 5 bis 6 Stunden lang fixiert. Für sehr zarte Objekte wird besser zunächst 5 : 1 mit Wasser verdünnt. Nach einigen Stunden können die Objekte dann in reines Culactol übertragen werden.

Zur Herstellung von Culactolgelatine werden 4 g feinste Gelatine in 22 cm<sup>3</sup> erwärmtem destilliertem Wasser aufgequollen und 15 g Glyzerin zugesetzt. Das Ganze wird im Wasserbad aufgekocht (5 g Laktophenol zufügen und heiß filtrieren!). In diesem vorzüglichen Einschlußmittel behalten beispielsweise grüne Algen, Moosblätter sowie Blätter der Wasserpest ihre grüne Farbe (Decklasringe ziehen!).

## Pflanzliche Zellen

### *Protoplasma*

Zur Demonstration des lebenden Protoplasmas sind die Staubfadenhaare aus der Blüte der Tradeskantien (*Tradescantia virginica*) oder der nahe verwandten Ampelpflanze (*Zebrina pendula*) gut geeignet. Aus einer jungen Blüte wird ein Staubblatt (Staubbeutel entfernen!) mit der Pinzette dicht über der Basis abgerissen und mit den Staubfadenhaaren in einem Tropfen Wasser auf den Objektträger gelegt. Mit einem weichen, feuchten Pinsel streicht man von der Basis her über die feinen Härchen, um Luftblasen zu entfernen und legt das Deckglas auf. Noch besser wird ein Büschel Haare von der Basis des Staubblattes entfernt und allein auf den Objektträger gebracht.

Bei etwa 400facher Vergrößerung sieht man deutlich wandständiges Plasma und Plasmastränge, die den Hohlraum der Zelle durchziehen. Das Plasma befindet sich in ständiger lebhafter Plasmaströmung (Zirkulation). Die Zirkulation findet in jeder Zelle selbständig statt und wechselt häufig ihre Bahnen. In Zwischenräumen von 5 Minuten werden Zustandsbilder gezeichnet (Strömungsrichtung angeben!). Der Zellkern fällt als stark lichtbrechende Kugel deutlich auf (s. Abb. 279/1). Junge Blätter der Wasserpest (*Elodea canadensis* oder *E. densa*) lassen die Plasmaströmung auch schon bei schwächeren Vergrößerungen an den Lageänderungen der vom Plasma mitgetragenen Chloroplasten erkennen. Ein Blatt aus der Sproßspitze wird in Wasser liegend (Unterseite zum Deckglas!) entlang der Mittelrippe untersucht. Da die Zellen hier relativ arm an Chloroplasten sind, treten Zellkern und Plasma besser hervor (s. Abb. 280/1). Die Plasmaströmung setzt oftmals erst 10 bis 15 Minuten nach Anfertigung des Präparats

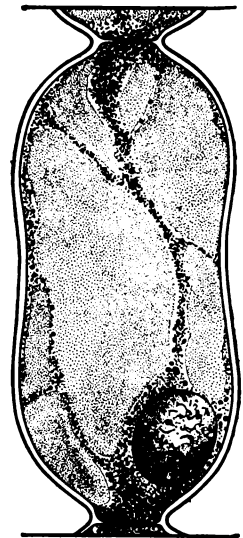


Abb. 279/1 *Tradescantia virginica*; Zelle aus einem Staubfadenhaar

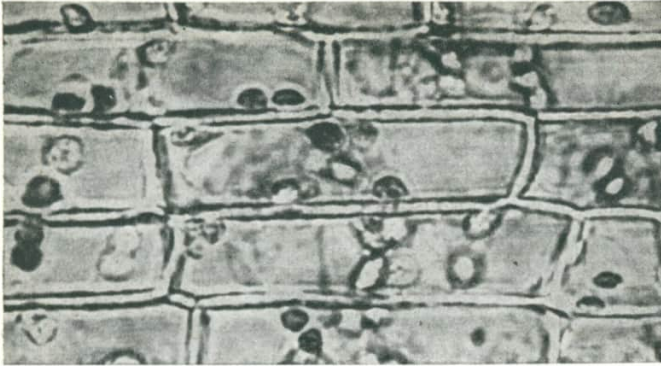


Abb. 280/1 Lebende Zellen der Wasserpest (*Elodea* sp.; 80 : 1/250 : 1)

(Wundreiz) ein. Durch leichtes Erwärmen des Objektträgers oder durch Zusatz von 0,005%iger Schwefelsäure läßt sich der Vorgang stark beschleunigen. Die Zellen in den Blättern der Wasserpest lassen meist die typische Bewegung des randständigen Plasmas, die sogenannte Rotation, erkennen.

Plasmaströmung zeigen ferner die Haare von jungen Sprossen des Kürbis (*Cucurbita*). Sie werden mit dem Rasiermesser an der Basis abgetrennt und frisch untersucht. Weitere günstige Objekte sind die Haare vom Schöllkraut (*Chelidonium majus*), Brennhare der Brennnessel (*Urtica*; s. Abb. 314/1), Drüsenhaare von den Stengeln der Weißen Nachtnelke (*Melandrium album*), Haare von jungen Blattstielen der Vogel-Sternmiere (*Stellaria media*) sowie Wurzelhaare vom Gemeinen Froschbiß (*Hydrocharis morsuranae*; man wählt junge Wurzeln mit steifen Haaren aus und bringt am besten die ganze Wurzelspitze ins Präparat). Rotation des Plasmas kann auch in Blättern der Sumpfschraube (*Vallisneria spiralis*), einer häufig kultivierten Aquarienpflanze, beobachtet werden. Dünne Flachschnitte durch die Blätter werden mit der Epidermis nach unten untersucht.

Die Kronröhren eben erst geöffneter Taubnesselblüten (*Lamium*) werden in dünne Ringe zerlegt und die Ringe gespalten. Man beobachtet die Plasmaströmung in den feinen, einzelligen Innenhaaren. Sehr deutlich kann die Plasmaströmung auch in Pollenschläuchen beobachtet werden (s. S. 328).

Zur Feststellung des osmotischen Drucks in der lebenden Zelle dient die **Plasmolyse**. Zu Plasmolyseversuchen eignen sich alle bei der Plasmaströmung genannten Objekte sowie Moosblättchen (s. Abb. 281/1), Algen, Zwiebelhäutchen, Epidermiszellen gefärbter Blüten, Oberflächenschnitte von der Blattunterseite der Ampelpflanze (*Zebrina pendula*) und Fruchtfleisch von Beeren des Ligusters (*Ligustrum*). Bei der Zwiebel (*Allium cepa*) ist die obere Schuppenblattepidermis besonders für Plasmolyseversuche geeignet. Die verschiedenen Plasmolyseformen und Hechtsche Fäden (stark abblenden) sind deutlich zu erkennen. Nur lebende Zellen lassen sich verwenden. (Glyzerinwasser 1 : 1, konzentrierte Zuckerlösung oder andere hypertonische Lösungen durchsaugen; Konkav-, Konkav- und Krampfplasmolyse zeichnen! Mehrmals Wasser durchsaugen!) Die Zugabe hypotonischer Lösungen bewirkt Deplasmolyse.

Bei vielen aktiv beweglichen Pflanzen oder Zellen treten aus dem Ektoplasma gebildete Geißeln und Wimpern auf. Bakterien, Geißelträger, Schwärmsporen und Spermatozoiden werden lebend bei schiefer Beleuchtung und im Dunkelfeld untersucht.

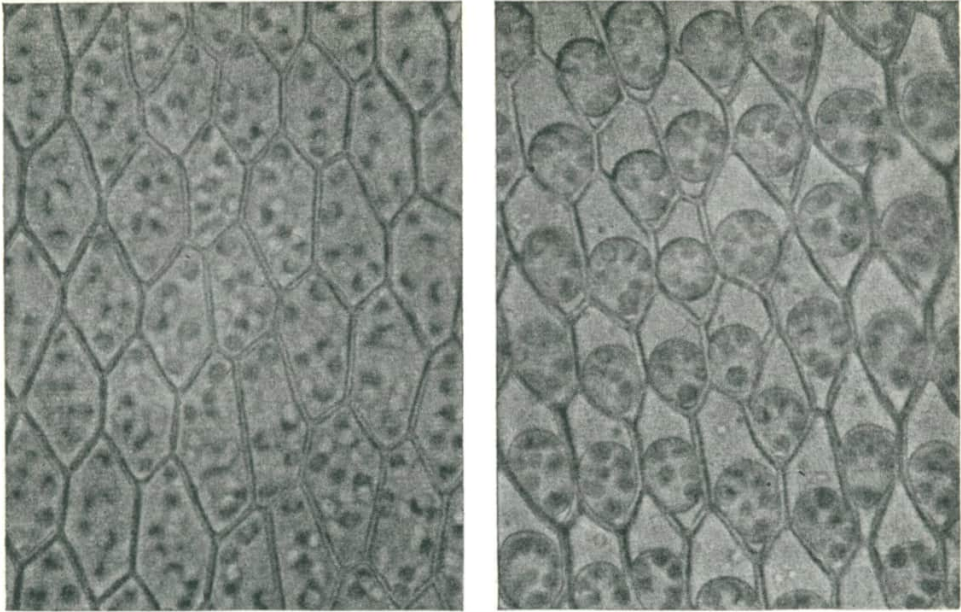


Abb. 281/1 Moosblattzellen; links normal, rechts plasmolysiert

Der **Zellkern** erscheint bei vielen Objekten bereits im Frischpräparat bei enger Blende als heller Fleck. Um seinen Feinbau studieren zu können, muß man fixieren und färben oder im Phasenkontrast untersuchen. Zellkerne sind in allen lebenden Zellen vorhanden, nur bei Bakterien und Blaualgen fehlen ausgesprochene, morphologisch zusammenhängende Zellkerne (diffus verteiltes Kernmaterial). Die Größe der Zellkerne schwankt stark. Die Kernmembran grenzt den Zellkern vom Plasma ab. Nukleolen sind meist in Ein- oder Mehrzahl vorhanden. In der Kernsubstanz liegen die Träger der Erbanlagen (Chromatin).

Eine Küchenzwiebel (*Allium cepa*) durchschneidet man längs in 2 Teile und zieht von der Konvexseite einer der fleischigen Schuppenblätter die Epidermis ab.

Ein Stück der Epidermis kommt in einen Wassertropfen und wird frisch untersucht. Zur Fixierung und Färbung wird Karminessigsäure oder Methylgrün-Essigsäure (Färb. 3, 4) durchgesaugt. Einige andere Hautstücke werden mit Formalin oder Pikrinsäure (Fix. 2 oder 4) fixiert, mit Kernschwarz oder Gentianaviolett (Färb. 16 oder 17) gefärbt und nach Methode 9 (s. S. 163) eingeschlossen. (Achromatin, Chromatin und Nukleolen s. S. 185!)

Durch frische Früchte der Schneebeere (*Symphoricarpus albus*) werden Schnitte angefertigt, leicht gequetscht und mit Karminessigsäure oder Methylgrün-Essigsäure (Färb. 3, 4) gefärbt.

In der Regel enthält jede Zelle einen Kern. Die Tapetenzellen, die den Pollensack umkleiden, besitzen häufig zwei Kerne. Die Staubbeutel werden quer geschnitten und untersucht (s. Farbtafel 4, Abb. a). Auch Bastzellen sind oft zweikernig. Schlauchalgen (*Vaucheria*) und Algenpilze (Phykomyzeten) haben viele Kerne in einer einheitlichen Plasmamasse.

Die Kerne sind im allgemeinen kugelig gebaut, doch kommen auch linsenförmige und anders geformte Kerne vor. Die Stengelepidermis des Gemeinen Hirtentäschels (*Cap-sella bursa-pastoris*) wird abgezogen und nach Methope<sup>9</sup> (s. S. 163) präpariert. Die Zellen enthalten spindelförmige Kerne. Ganz allgemein lassen sich die Kerne in jungen Zellen wesentlich besser untersuchen als in gealterten.

**Chloroplasten** werden in frischen Blättern der Wasserpest (*Elodea*, s. Abb. 280/1), in Blättern von Laubmoosen und in Vorkeimen von Farnpflanzen untersucht. In den meisten Zellen befinden sich Teilungsstadien der Chloroplasten. Schnitte durch Blätter der Blutbuche und Bluthasel (*Fagus sylvatica*; *Corylus maxima*) sind für Untersuchungen geeignet. Zellen der Schraubenalge (*Spirogyra*) enthalten spiralförmige Chlorophyllbänder, Zellen der Sternalgen (*Zygnema*) sternförmige Chloroplasten (s. Abb. 282/1).

Um die phototaktischen Bewegungen der Chloroplasten zu zeigen, werden Blättchen der Wasserpest (*Elodea*), des Drehmooses (*Funaria hygrometrica*) oder der Untergetauchten Wasserlinse (*Lemna trisulca*) in zerstreutem Tageslicht gehalten. Sie werden im Frischpräparat schnell untersucht; Form und Lage der Chloroplasten werden gezeichnet. Dann werden die Objekte starkem durchfallendem Licht (Sonnenlicht oder einer starken Mikroskopierleuchte) ausgesetzt. Nach etwa einer Viertelstunde kann man feststellen, daß die Chloroplasten eine negativ-phototaktische Bewegung durchgeführt haben, denn sie liegen nun den senkrechten Wänden an. Dabei ist nur ihre Schmalseite dem einfallenden Licht zugekehrt (Vergleichszeichnungen anfertigen!).

Die Chloroplasten gut belichteter Moosblättchen enthalten kleine, lichtbrechende Stärkekörnchen (Assimilationsstärke). Man legt Moosblättchen (z. B. von *Mnium*) in warmen Alkohol und läßt das Chlorophyll mehrere Tage lang ausziehen. Die Chloroplasten erscheinen dann unter dem Mikroskop farblos. Wird Jodlösung oder Jod-Kaliumjodid-Lösung durchgesaugt, färben sich die Stärkekörnchen blauviolett bis schwarz. Soll Stärke schnell nachgewiesen werden, so kommen frische Moosblättchen oder frische dünne Blattquerschnitte (gut belichtetes Material, am besten nachmittags oder abends gesammelt) in einen Tropfen Chloralhydratlösung (Chloralhydrat und Wasser im Verhältnis 5 : 2), dem etwas Jod-Kaliumjodid-Lösung zugesetzt wird. Die Blättchen entfärben sich sofort, die Chloroplasten quellen, die Stärkekörnchen treten blauviolett bis schwarz hervor. Zur Darstellung nur geringer Spuren von Assimilations-

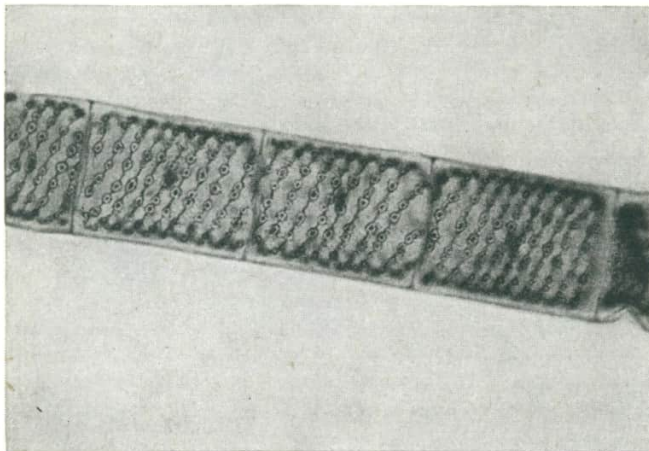


Abb. 282/1 Schraubenalge (*Spirogyra* sp.); Zellkern und spiralförmig angeordneter Chloroplast mit Pyrenoiden sind deutlich zu erkennen (40 : 1/185 : 1)

stärke verwendet man Alkoholmaterial und saugt Kalilauge durch. Wenn die Chloroplasten quellen, wird Jod-Kaliumjodid-Lösung durchgesaugt. (Durch Jod hervorgerufene Färbungen halten sich in Dauerpräparaten kaum!)

Fixierte Chloroplasten können nur haltbar gefärbt werden, wenn das Chlorophyll vorher restlos durch Alkohol oder Azeton ausgezogen worden ist.

Neben Chlorophyll a und b treten auch gelbe oder rötliche Assimilationsfarbstoffe (Xanthophylle, Karotine) auf.

Besonders gut lassen sich Chloroplasten mit Methylviolett (Mine eines Kopierstiftes auflösen!) färben. Um Lage und Farbe der Chloroplasten in Dauerpräparaten naturgetreu zu erhalten, muß mit Culactol fixiert und in Culactolgelatine eingeschlossen werden (s. S. 278).

**Chromoplasten** sind Träger roter oder gelber Farbstoffe. Sie kommen in Blütenblättern, Früchten und Wurzeln vor.

Chromoplasten untersucht man zunächst in den Kelchblättern der Kapuzinerkresse (*Tropaeolum majus*). Flächenschnitte oder von der Oberseite der gelblich gefärbten Kelchblätter abgezogene Hautstücke ergeben gute Frischpräparate. Sie müssen mit der Epidermis nach oben schnell untersucht werden, da sich durch die Einwirkung des Wassers die Gestalt der drei- bis viereckigen oder spindelförmigen, gelborange gefärbten Chromoplasten verändert. Die Ränder der Blumenblätter werden total untersucht (Zeichnen!). Schnitte durch reife Spargelbeeren (*Asparagus officinalis*), Quetschpräparate vom Fruchtfleisch der Tomate (*Lycopersicon esculentum*), des Weißdorns (*Crataegus*) und der Rosen (*Rosa*) werden durchgemustert (Hagebutten können nur verwendet werden, wenn sie zwar schon rötlich, aber noch nicht vollreif sind). Wenn Jod-Kaliumjodid-Lösung durchgesaugt wird, färben sich die Chromoplasten dunkelgrün. Auch reife Früchte der Eberesche (*Sorbus aucuparia*) oder der Zaunrebe (*Parthenocissus*) und Blütenblätter des Kürbis (*Cucurbita*) sind für Untersuchungen geeignet. Ein sehr günstiges Objekt zur Demonstration der Chromoplasten ist die Möhre (*Daucus sativus*). Ihre Farbkörper sind kristallförmig. Querschnitte durch frische Wurzeln werden als Frischpräparate in polarisiertem Licht untersucht. Man saugt konzentrierte Schwefelsäure (Blaufärbung der Chromoplasten) oder Jodlösung (Dunkelgrünfärbung) durch.

Die farblosen **Leukoplasten** werden am besten an älteren Rhizomen der Schwertlilie (*Iris*) demonstriert. Dicht unter der Rinde des Wurzelstockes werden dünne Längsschnitte entnommen und in 1,5%iger Salpetersäure untersucht. Man saugt Jod-Kaliumjodid-Lösung durch; die Leukoplasten färben sich dadurch gelb, die Stärkekörner blau. Glycerinzusatz läßt die Leukoplasten noch deutlicher hervortreten. Die Schnitte können auch in 5%ige Zuckerlösung übertragen werden. Die Präparate müssen schnell untersucht werden, da die Leukoplasten in den Schnitten bald zerfallen. Zur Herstellung von Dauerpräparaten werden dünne, direkt unter der Korkschicht entnommene Schnitte der Kartoffelknolle in Sublimat-Pikrinsäure (gesättigte wäßrige Sublimatlösung und gesättigte wäßrige Pikrinsäurelösung im Verhältnis 1 : 1) 24 Stunden fixiert, ohne Jodierung in fließendem Wasser ausgewaschen, 24 Stunden in 0,2%iger Säure-Fuchsin-Lösung gefärbt, entwässert und in Balsam eingeschlossen. Das Ergebnis ist jedoch nicht immer zufriedenstellend.

**Zelleinschlüsse** (ergastische Gebilde). Große Stärkekörner von Kartoffeln (Speicherstärke) zeigen sehr gut die typischen konzentrischen Streifen, die um das Stärkebildungszentrum liegen. Man zerschneidet eine Kartoffel und fährt ganz leicht mit einem Messerchen oder einer Lanzettadel über die Schnittfläche. Ein kleines Tröpfchen



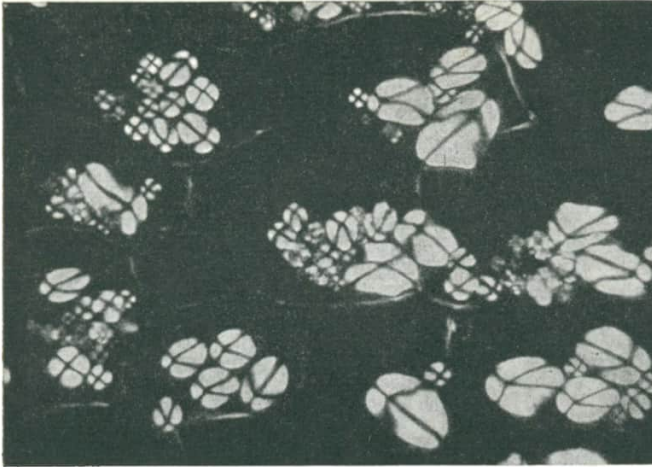


Abb. 284/1 Kartoffel (*Solanum tuberosum*); Speichersstärke der Knolle im polarisierten Licht mit Stärkekrenz (70 : 1/210 : 1)

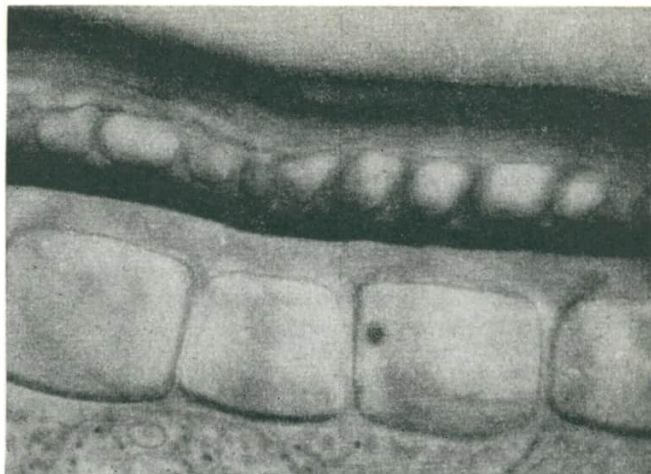
der abgeschabten trüben Flüssigkeit wird im Frischpräparat untersucht. Bei Anwendung von polarisiertem Licht tritt bei gekreuzten Polarisationsfiltern das für Stärkekörner typische Kreuz auf (s. Abb. 284/1). Wird Jod- oder Jod-Kaliumjodid-Lösung durchgesaugt, tritt Blauviolett färbung ein. Nach Durchsaugen von Kalilauge oder Chloralhydrat schwindet die Färbung, die Körnchen quellen stark und zeigen vorübergehend den Schichtenbau besonders deutlich. Frische Stärkekörner werden in verdünntem Speichel untersucht (Abbau der Stärke beobachten!).

Bohnen-, Erbsen-, Mais-, Gersten-, Hafer-, Weizen- oder Roggenkörner werden für einige Stunden in Wasser gelegt. Die Samen werden gespalten. Von der Schnittfläche (mit Glycerin benetzen!) werden dünne Schnitte hergestellt und untersucht. Schnitte von reifen Samen der Eiche (*Quercus*), Buche (*Fagus*) und Roßkastanie (*Aesculus*) werden in Glycerinwasser untersucht. In keimenden Gerstenkörnern und gekeimten Kartoffelknollen kommen „korrodierte“ Stärkekörner vor.

Stäbchenförmige Stärkekörner findet man im Milchsafte von Wolfsmilchgewächsen, Stalolithenstärke in den Halmknoten der Gräser und in den Wurzelhauben der Keimwurzel der Gerste (*Hordeum*), der Pferdebohne (*Vicia faba*), der Gartenbohne (*Phaseolus vulgaris*) und des Kürbis (*Cucurbita*). Man untersucht dünne Schnitte im Frischpräparat und saugt Jodlösung durch. Zur Herstellung von Dauerpräparaten werden Stärkekörner auf einem Objektträger ausgestrichen. Dann setzt man einen Tropfen stark verdünnter Jodlösung zu, läßt das Ganze eintrocknen und schließt in Balsam ein. Die Färbung verblaßt mit der Zeit, daher wird zunächst stark überfärbt.

Die Schnitte werden vorsichtig (Stärke darf nicht herausgespült werden) in wäßriger Pikrinsäure (Fix. 4) fixiert, mit Fuchsin kräftig durchgefärbt und in Glyzeringelatine eingebettet. Alkoholeinwirkung verändert die Form der Stärkekörner. Zur Darstellung des Polysaccharids Inulin, das bei Korbblütengewächsen vorkommt, werden zerschnittene Dahlienknollen etwa 2 Monate lang in absolutem Alkohol aufbewahrt und dann in feine Schnitte zerlegt. Das normalerweise im Zellsafte gelöste Inulin ist durch den Alkohol ausgefällt worden und zeigt sich in großen, sehr schönen Sphärokrystallen (im polarisierten Licht untersuchen!). Wurzelstücke der Gemeinen Kuhblume (*Taraxacum officinale*), der Wegwarte (*Cichorium intybus*) sowie Knollen- und Stengelstücke

Abb. 285/1 Saat-Weizen (*Triticum aestivum*); ruhendes Korn im Querschnitt (Randzone); Stärkespeicherzellen des Endosperms und Kleberschicht sind zu erkennen (schiefe Beleuchtung; 140 : 1/200 : 1)



des Topinambur (*Helianthus tuberosus*) werden monatelang in absolutem Alkohol aufbewahrt. Für Dauerpräparate ist der Einschluß in Caedax besonders günstig.

Zur Darstellung der Aleuronkörner (Kleber, Protein) werden Schnitte von Getreidekörnern, Erbsen oder Bohnen in Glycerinwasser gelegt. Bei der Untersuchung der Randzone wird Jod-Kaliumjodid-Lösung durchgesaugt. Stärke wird violett, Aleuronkörner und Grundsubstanz werden gelbbraun gefärbt (s. Abb. 285/1). Andere Schnitte werden mit Boraxkarmin gefärbt (Färb. 8) und in verdünntem Glycerin untersucht. Aleuron und Grundsubstanz haben sich leuchtend rot gefärbt, die Stärke ist farblos geblieben. Die Präparate werden in Glyzeringelatine eingeschlossen. Im Samen des Rizinus (*Ricinus communis*) kommen Aleuronkörner mit großen Kristalloiden vor. Man holt sich in einer Apotheke oder in einem botanischen Garten einige Samen. Die harte äußere Schale wird abgebrochen, das weiße, ölhaltige Endospermgewebe mit einem trockenen Messer in dünne Schnitte zerlegt. Die Schnitte werden in Wasser untersucht. In jeder Zelle sind mehrere relativ große, eiförmige bis runde Aleuronkörner zu sehen, die jeweils ein Eiweißkristall und ein sogenanntes Globoid einschließen. Bei der Untersuchung muß schnell gearbeitet werden, weil Öl austritt und das Bild unübersichtlich macht. Dünne Schnitte werden in einer konzentrierten Lösung von Pikrinsäure in absolutem Alkohol oder nur in 5%igem Alkohol (Fix. 1) fixiert. Nach mehrstündiger Einwirkung werden die Schnitte in absolutem Alkohol ausgewaschen, einige Minuten mit einer Lösung von Eosin (Färb. 11) in absolutem Alkohol gefärbt und in Balsam eingeschlossen. Die Grundsubstanz erscheint dunkelrot, die Aleuronkörner erscheinen gelblich bis orange (s. Abb. 285/1). Am gleichen Objekt läßt sich Fett gut zeigen. Durchgesaugter Äther oder Schwefelkohlenstoff löst die fetten Öle. Feine Schnitte durch die Samen der Sonnenblume (*Helianthus annuus*) werden in einer Lösung von Sudan III (Färb. 19, Fettfarbstoff) in 5%igem Alkohol etwa eine halbe Stunde gefärbt, mit Alkohol ausgewaschen und in Glycerin untersucht. Die Präparate werden in Glyzeringelatine eingeschlossen. Rizinussamen können nicht so gefärbt werden, da das Rizinusöl in Alkohol löslich ist.

Zur Darstellung von Gerbstoffen werden dünne Schnitte durch Rosenstengel, durch Blätter des Mauerpfeffers (*Sedum*) oder durch Farnstengel (Umgebung des Siebteils)

in Wasser untersucht (Kaliumbichromatlösung durchsaugen!). Der rötlichgelbe Niederschlag zeigt Gerbstoff an. Nach dem Durchsaugen von Eisenchloridlösung entsteht ein schwärzlicher Niederschlag (Zeichen!).

Öldrüsen, in denen ätherische Öle gebildet werden, können an feinen Schnitten durch Apfelsinen- oder Zitronenschalen bzw. -sprosse demonstriert werden (s. Abb. 79/1). Sudan III (Färb. 19) färbt auch diese Öle. Dauerpräparate werden nicht mit Alkohol behandelt; sie werden über Glycerin in Glyzeringelatine eingeschlossen.

Gut sichtbare Kristalle aus Kalziumoxalat sind zahlreich in den trockenen, gelben Schalen der Küchenzwiebel vorhanden (s. Abb. 142/1). Kalilauge hellt auf, durchgesaugte Schwefelsäure läßt sehr schnell Gipsnadeln deutlich sichtbar hervortreten. Salzsäure löst die Kristalle ohne Gasentwicklung. Blattstücke der Zaunrebe (*Parthenocissus*) werden für einige Minuten in kochendes Wasser gelegt, in heißem Alkohol vom Chlorophyll befreit, in Chloralhydratlösung (Chloralhydrat und Wasser im Verhältnis 8 : 5) oder Kalilauge (nicht in Eau de Javelle!) aufgehellt und dann untersucht. In gleicher Weise werden Blätter, Blattstiele und Stengel des Echten Seifenkrauts (*Saponaria officinalis*) oder einer Begonienart untersucht. Beide zeigen besonders große, schöne Drusen (s. Abb. 43/1); *Iris germanica* hat in den Blättern einzelne große Nadeln, ab und zu auch Zwillingskristalle in besonders langgestreckten Zellen. Von Blattstielen der Magnolie (*Magnolia*), des Rhabarbers (*Rheum*), des Sauerklees (*Oxalis*), der Windenden Osterluzei (*Aristolochia macrophylla*) sowie der Roßkastanie (*Aesculus*) stellt man sich dünne Schnitte her. Besonders gut geeignet ist die Roßkastanie kurz vor dem Blattfall. Nadeln, Tafeln, Drusen, Oktaeder und Zwillingskristalle findet man im Blütenblatt (besonders im Sporn!) des Gemeinen Leinkrauts (*Linaria vulgaris*). Die Kronblätter der Skabiosen (*Skabiosa*) enthalten ebenfalls Kristalle. Raphiden, beiderseits zugespitzte Kristallnadeln, kommen in schleimigen Säften vor. Von Blaustern (*Scilla*), Träubel (*Muscari*), Amaryllis (*Hippeastrum*) u. a. werden die Blätter oder Stengelstücke ausgedrückt (Präparate s. S. 146). Besonders lange, schlauchartige Zellen mit Raphidenbündeln kommen in den Kronblättern der Gemeinen Nachtkerze (*Oenothera biennis*) vor. Auch Schnitte durch Stengel der Zaunrebe (*Parthenocissus*) enthalten Raphiden. Schnitte von Blattrippen und dünnen Stengeln Weißer Teichrosen (*Nymphaea alba*) zeigen Luftkammern und -kanäle. An den Wänden dieser Hohlräume stehen sternförmig angeordnete Grundgewebshaare, die mit einer rauhen Kristallkruste bedeckt sind. Präparate werden nach Methode 11 hergestellt (Fix. 2; Färb. 10, 22 oder 26). Die meisten Sproßpflanzen enthalten in ihren Geweben Kristalle. In den Blättern des Gummibaums (*Ficus elastica*) sind Zystolithen enthalten, die aus einem Zellulosegerüst mit Kalkauflagerungen bestehen. Mit der Technik des Verkohlens und Veraschens können sehr schnell brauchbare Kristallpräparate hergestellt werden (s. S. 147). Im übrigen wird nach den Methoden 2, 3, 6, 9 und 11 gearbeitet. Einschluß in Gelatine ist dem Einschluß in Balsam auf Grund der Lichtbrechungsverhältnisse vorzuziehen. Alle Kristallbildungen sollen mit schiefer Beleuchtung, im Dunkelfeld und vor allem im polarisierten Licht beobachtet werden.

## Zellsaft

Im Zellplasma wachsender und erwachsener Zellen befinden sich Hohlräume, die Vakuolen, die mit wäßrigem Zellsaft gefüllt sind (Safträume). Der Zellsaft enthält gelöste Salze, Zucker, Alkaloide, Eiweißbausteine, Vitamine, organische Säuren u. a.

wasserlösliche Stoffe. Im Zellsaft (z. B. von Früchten) sind oft blaue und rote Farbstoffe gelöst.

Zur Demonstration des Zellsafts wird einer reifen Ligusterbeere mit der Lanzettnadel ein wenig Fruchtfleisch entnommen und in einen Wassertropfen übertragen. Deckglas auflegen; Zellen durch vorsichtiges Klopfen auf das Deckglas voneinander trennen. Um die Zellen flach zu pressen, wird etwas Wasser abgesaugt.

Ein frisches Kronblatt einer Pelargonie wird in Längsrichtung durchrissen, kleine Fetzen der Epidermis werden abgezogen und im Frischpräparat untersucht. Dabei ist der rote Zellsaft in den stark verzahnten Zellen und das tapetenartig den Wänden anliegende Plasma zu beachten.

Auskristallisiertes Anthozyan ist im Zellsaft der Blätter von *Begonia maculata* enthalten (Flächenschnitt der Blattunterseite).

### *Zellgrenzschicht (Zellmembran, Zellwand)*

Die vom Plasma abgeschiedene Zellmembran schützt und umgrenzt die Zelle. Ihr Aufbau konnte mit Hilfe des Elektronenmikroskops erforscht werden. Daß die Bestandteile der Membranen in regelmäßiger Anordnung liegen, zeigen schon Beobachtungen im polarisierten Licht.

Die zunächst nackte pflanzliche Eizelle bildet erst nach der Befruchtung eine dünne, die Zelle nach außen abschließende Membran aus. Diese Zellmembran ist bei jungen Zellen äußerst dünn und besteht hauptsächlich aus Lipiden und Proteinen. Gewisse Zellen (z. B. Schwärmsporen von Algen, Geschlechtszellen) haben nur solche Membranen („nackte Zellen“). Bei den meisten Zellen wird außerdem eine Zellwand ausgebildet. Dabei tritt oft eine deutlich erkennbare Schichtung auf. An die Mittellamelle (Pektinlamelle; s. S. 169) werden nach außen (zentrifugal) und innen (zentripetal) Verdickungsschichten aus Zellulose, Lignin und anderen Stoffen angelagert. Zentrifugale Verdickungen kommen oft bei Zellen vor, die an Luft grenzen (z. B. bei Epidermiszellen, Pollenkörnern, Sporen). Zentripetale Verdickungen sind in typischer Ausbildung bei Kollenchymzellen und Tracheen zu finden. In verdickten Zellwänden bleiben zur Ermöglichung des Stofftransports oft Stellen ausgespart, die als Tüpfel (z. B. Hoftüpfel) bezeichnet werden (s. Abb. 147/1).

Der wichtigste Bestandteil der Zellwände ist die Zellulose. Zum Zellulosenachweis werden Samenhaare von Pappeln, Weiden und besonders Baumwolle (Baumwollwatte) in Wasser untersucht. Zunächst wird Jod-Kaliumjodid-Lösung durchgesaugt, dann verdünnte Schwefelsäure (2 Teile Säure auf 1 Teil Wasser). Die Zellulose färbt sich blau. Durchsaugen von Chlorzinkjodlösung bewirkt Violettfärbung. (Auch in polarisiertem Licht untersuchen!) Dünne Schnitte von Sonnenblumen- oder Holundermark werden in Chlorzinkjodlösungen untersucht. Die Membranen quellen meist etwas. Wird frisch zubereitetes Schweizers Reagens (Lösung von Kupferhydroxid in Ammoniaklösung) durchgesaugt, löst sich die Zellulose auf. Membranen der Pilze (Hemizellulosen und Chitin) werden nicht angegriffen und ergeben auch mit Jod keine Farbreaktion. Verholzte und verkorkte Zellulose wird kaum angegriffen. Auch Reservezellulose (z. B. in Samen) reagiert abweichend. Fast alle Anilinfarben, aber auch Hämalaun und Hämatoxylin färben Zellulose.

Um Kutin nachzuweisen, werden dünne Schnitte von Blättern der Schwertlilie, des Gummibaums oder des Efeus mit Chlorzinkjodlösung behandelt, die Kutikula färbt

sich dabei gelbbraun. Nach Zusatz von Schwefelsäure verfärbt sich die Kutikula braunschwarz. Die Zellulose wird aufgelöst. Alkoholmaterial wird mit Sudan-III-Alkohol gefärbt; die Kutikula nimmt dadurch rote Farbe an. Das Präparat wird in Glycerin-gelatine oder Balsam eingeschlossen. Sehr dünne, gut gelungene Schnitte werden nach Methode 11 (s. S. 170) mit Hämalaun-Sudan III (Färb. 24) gefärbt und in Balsam eingeschlossen. Gut gelingt auch folgende Färbung: Ein Schnitt wird 5 Minuten mit Karbolfuchsin (Färb. 14) gefärbt, in 10%iger Salzsäure differenziert, bis das Fuchsin aus den inneren Geweben entwichen ist, ausgewaschen, mit wäßriger Methylenblau-lösung (Färb. 2) kräftig gegengefärbt und in Gelatine eingeschlossen. Die Gewebe sind blau, die Kutikula ist leuchtend rot gefärbt. Zum Nachweis von Korkstoff (Suberin) werden feine Schnitte von Flaschenkork oder Kartoffelschale unter Zusatz von Chlorzinkjodlösung in Wasser untersucht. Nach dem Durchsaugen von konzentrierter Schwefelsäure bleibt nur das Korkgewebe unbeschädigt. Gefärbt wird wie bei Kutin, eingeschlossen in Glyzerin-gelatine.

Holzstoff (Lignin) wird in dünnen Schnitten von Nadelhölzern untersucht (Randzone von Hobelspänen). Man saugt alkoholische Phlorogluzinlösung durch, läßt sie einige Minuten einwirken und ersetzt dann durch Salzsäure. Holzstoff färbt sich leuchtend rot. Bei einem anderen Verfahren werden die Schnitte für 5 Minuten in 1%ige wäßrige Kaliumpermanganatlösung gelegt und mit destilliertem Wasser ausgewaschen. Man läßt dann einige Minuten Salzsäure einwirken und untersucht in Wasser. Lignine sind rot gefärbt. Beide Färbungen sind nicht haltbar! Verholzung kann beispielsweise an Querschnitten durch junge Stengel von Linden und Pappeln, vor allem aber an Stengel-querschnitten der Windenden Osterluzei (*Aristolochia macrophylla*) untersucht werden. Dauerpräparate werden nach Methode 11 (s. S. 170) angefertigt. Verholzte Zellulose gibt ganz typische Farbreaktionen. Safranin, Methylgrün, Chrysoidin und Lichtgrün färben Lignine sehr stark. Darauf beruht das Wesen der Doppelfärbungen 22 bis 28 (s. S. 125), die in Präparaten ganz hervorragend unverholzte, verholzende und verholzte Mem-branen unterscheiden lassen (s. Farbtafel 3, Abb. b). Zur Mazeration verholzter Gewebe wird das Schulzesche Gemisch verwendet (s. S. 168). Besondere Formen und Anordnungen der Zellen sind häufig anzutreffen. Kegelförmige Zellen findet man in sehr vielen Kronblättern mit samtartigem Aussehen. Zum Beispiel können Blüten vom Acker-Stiefmütterchen (*Viola tricolor*) untersucht werden. Die Haare in den Blüten vom Acker-Stiefmütterchen, Garten-Löwenmaul (*Antirrhinum majus*) u. a. haben keulenförmige Zellen. Ring- und Spiralzellen können in Wänden von Staubbeuteln (Tulpen, Lilien, Kürbis) in Torfmoosblättern (s. Abb. 76/1), in Sporenkapseln und Elateren bei Lebermoosen untersucht werden.

Das Mark junger Zweige des Goldregens (*Laburnum anagyroides*) und der Schwert-lilien (*Iris*) enthält punktierte Zellen. Großporige Zellen findet man im Stengel von Wolfsmilcharten (*Euphorbia*), in der Samenschale der Großen Kapuzinerkresse (*Tro-paeolum majus*) und in den Luftwurzeln von *Philodendron*. Tüpfelzellen können in Längsschnitten durch Nadelhölzer (in Reihen angeordnete, behöft Tüpfel) demon-striert werden. Man mazeriert oder verascht. Dünne Schnitte vom Mark der Weißen Waldrebe (*Clematis vitalba*) durchmustern!

Steinzellen mit stark verdickten Wänden können in Schnitten durch das Steinzellen-lager harter Birnen untersucht werden (s. Abb. 77/1). Chlorzinkjodlösung durchsaugen!

Ein sehr günstiges Objekt für die Untersuchung von Steinzellen ist das Perikarp der Walnuß (*Juglans regia*). An Querschnitten sind Mittellamelle, Sekundärwand und Tüpfelkanäle zu erkennen.

Birkenrinde wird in Schnitte zerlegt oder mazeriert. Faser- und Bastzellen werden durch Fäulnis aus Flachs, Hanf oder Nesseln isoliert. Der Bast der Linde wird in Schulzes Gemisch mazeriert (s. S. 168).

Wellige Zellmembranen sind sehr häufig in Blättern des Bauern-Tabaks (*Nicotiana rustica*), des Maises (*Zea mays*), der Pelargonie (*Pelargonium*), des Fleißigen Lieschens (*Begonia*) oder des Alpenveilchens (*Cyclamen*) zu finden. Die Epidermis wird abgezogen, mit Safranin oder Gentianaviolett gefärbt (Färb. 10 oder 17) und nach Methode 9 (s. S. 163) eingeschlossen.

Sternförmige Zellen bilden das Mark der Binsen (*Juncus*). Querschnitte müssen sehr vorsichtig behandelt werden (s. Abb. 289/1). Zellfäden und Zellflächen lassen sich an Algen und Moosen studieren.

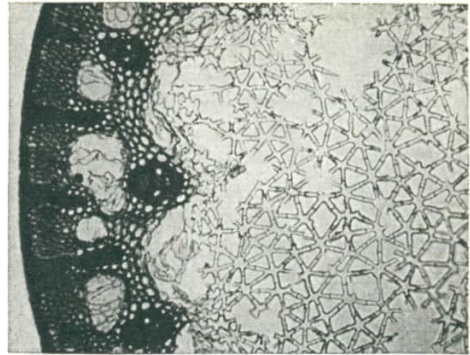


Abb. 289/1 Binse (*Juncus* sp.); Sternzellen im Stengelmark (35 : 1/50 : 1)

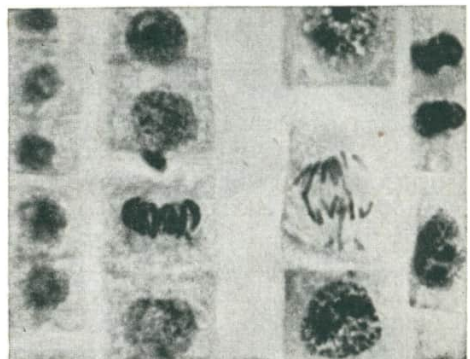
### Kern- und Zellteilung

Die Kern- und Zellteilung tritt bei Pflanzen vorwiegend in der Form der mitotischen Kernteilung auf (s. Abb. 289/2). Sie unterscheidet sich nicht prinzipiell von der Teilung tierischer Zellen. Amitosen treten äußerst selten auf.

Ein gut geeignetes Objekt zur Lebendbeobachtung der Teilungsvorgänge sind die Staubfadenhaare der Blütenknospen von *Tradescantia* oder *Zebrina*. Man öffnet 5 mm bis 6 mm lange Knospen und nimmt die Staubfadenhaare, wie auf Seite 279 geschildert, heraus. Die Spitzenzellen werden in 3%iger Zuckerlösung untersucht. Besser als die Betrachtung auf dem normalen Objektträger ist die langfristige Untersuchung in flachen, hängenden Tropfen in der feuchten Objektträgerkammer. Die Lebendbeobachtung kann dann über Stunden ausgedehnt werden. Untersucht wird bei schiefer Beleuchtung, eventuell im Dunkelfeld. Die einzelnen Phasen sollten gezeichnet werden. Vor allem muß auch die Bildung der Zellplatte in der Äquatorialebene beobachtet werden, die die Tochterzellen trennt (Unterschied zu den tierischen Zellen!). Die gesamte Teilung dauert etwa 2 Stunden.

Während feinere Chromosomen- und Teilungsstadien früher fast ausschließlich an Mikrotomschnitten untersucht wurden, können wir heute durch das Karminessigsäure- oder das Methylgrün-Essigsäure-Verfahren sehr einfach und in kürzester

Abb. 289/2 Zwiebel (*Allium cepa*); Wurzelmeristem im Längsschnitt mit Mitosen in verschiedenen Phasen (200 : 1/540 : 1)



Zeit Aufschlüsse bekommen. Diese Verfahren können jedoch nur bei Frischpräparaten angewendet werden. Liegt Material vor, das nicht zerkleinert zu werden braucht oder von dem leicht Ausstriche gewonnen werden können, so kann man das Farbfixiergemisch kalt einwirken lassen. Material, das geschnitten werden muß, wird in Carnoy (Fix. 10, auch zur Konservierung geeignet!) vorfixiert (geeignet auch Alkohol-Eisessig 3:1). Die Schnitte werden dann in der Farbfixierlösung auf dem Objektträger bei aufgelegtem Deckglas erhitzt, bis die Lösung schwach Blasen wirft, ohne dabei auszutrocknen.

Staubfadenhaare von *Tradescantia* legt man in Karminessigsäure oder Methylgrün-Essigsäure und läßt kalt einwirken. Pollenausstriche werden von Schnitt-Lauch (*Allium schoenoprasum*), Bären-Lauch (*Allium ursinum*), Lilien (*Lilium*) oder Kaiserkrone (*Fritillaria imperialis*) hergestellt. Die Antheren nimmt man aus jungen Knospen; der Schleim des Staubbeutel-faches darf erst bei Druck herausquellen. Die Ausstriche werden sofort mit Karminessigsäure oder Methylgrün-Essigsäure (Färb. 3 und 4) gefärbt. Bis zur vollständigen Durchfärbung vergeht oft eine halbe Stunde. Mit dem Rasiermesser werden feine Quer- und Längsschnitte durch Keimwurzeln (Wurzelmerteme) der Küchenzwiebel (*Allium cepa*), der Pferde-Bohne (*Vicia faba*), der Garten-Bohne (*Phaseolus vulgaris*) oder der Garten-Erbse (*Pisum sativum*) angefertigt. Querschnitte zeigen meist Polansichten (Aster und Diaster), Längsschnitte Seitenansichten der Mitosen. Die Zwiebeln sollen in Tulpengläsern Wurzeln treiben; die Samen läßt man in feuchten Sägespänen oder in Fließpapier keimen. Wurzelspitzen von etwa 0,5 cm Länge werden in Schnitte zerlegt, vorfixiert (s. o.) und in Karminessigsäure oder Methylgrün-Essigsäure (Färb. 3 oder 4) erhitzt. Durch schwachen Druck auf das Deckglas werden die Zellen getrennt. Die meisten Teilungen erfolgen in den frühen Morgenstunden; Material dann entnehmen und sofort verarbeiten.

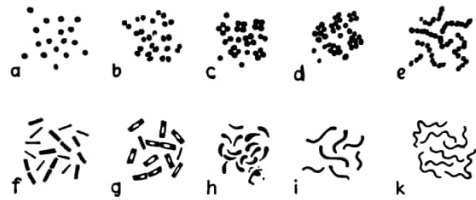
Für feinste Untersuchungen genügt dieses Schnellverfahren nicht mehr. In diesem Falle müssen Wurzelspitzen oder Antheren, auch Fruchtblätter, in Nawaschins Gemisch (Fix. 15) fixiert und nach Methode 12 (s. S. 175) vorsichtig in Paraffin eingebettet werden. Man stellt Schnitte von 10 µm her und färbt sie mit Eisenhämatoxylin, Hämalaun-Chrysoidin oder Kernschwarz-Chrysoidin (Färb. 20, 23 oder 26) (s. Abb. 312/2). Bei der Untersuchung ist zu beachten, daß in den Wurzelschnitten Mitosen, in den Schnitten durch die Antheren jedoch Stadien der Meiose vorliegen (Reduktion der Chromosomenzahl, Tetradenstadien; s. Farbtafel 4, Abb. a).

## Spaltpflanzen (Schizophyta)

### *Bakterien (Schizomycetes)*

Bakterien sind stets einzellige Lebewesen. Sie kommen in drei Grundformen vor (s. Abb. 291/1). Viele Versuche mit Bakterien lassen sich ohne Mikroskop durchführen; genau untersucht werden können Bakterien jedoch nur mit Mikroskopen, die sehr stark vergrößern und ein hohes Auflösungsvermögen besitzen. Mit Vergrößerungen unter 600:1 sind Feinheiten kaum zu erkennen, sie genügen aber, die Bewegungen lebender Bakterien im Dunkelfeld zu demonstrieren. Darauf wird sich der Lehrer in der polytechnischen Oberschule auch beschränken müssen. In der erweiterten Oberschule können die Schüler schon selbständig gute Ausstriche untersuchen und die Beobachtungsergebnisse in Zeichnungen festhalten.

Abb. 291/1 Die wichtigsten Bakterienformen  
a Kokken, b Diplokokken, c Tetrakokken,  
d Staphylokokken, e Streptokokken, f Bak-  
terien (Stäbchen ohne Sporenbildung), g Ba-  
zillen (Stäbchen mit Sporenbildung), h Vi-  
brionen, i Spirillen, k Spirochaeten



Pathogene Bakterien (s. Abb. 291/2) dürfen lediglich im Dauerpräparat gezeigt werden; für Lebendpräparate verwendet der Lehrer ausschließlich Material von Fäulnis- und Gärungserregern, dessen Herkunft ihm genau bekannt ist. Kulturen auf Nährböden (z. B. von Straßenstaub, Luftkeimen, Auswurf, Fliegen) sollten in der Schule nicht mikroskopisch untersucht werden, da es keinem Lehrer ohne weiteres möglich ist, aus der Wuchsform der Kolonien auf die Virulenz der Bakterien zu schließen. Bakteriologische Arbeiten sind sehr wertvoll für den Unterricht, vor allem im Hinblick auf die wichtige Rolle, die die Bakterien im Gesamthaushalt der Natur spielen. Der Fachlehrer muß sich dabei jedoch seiner Verantwortung für die Gesundheit der Schüler voll bewußt sein.

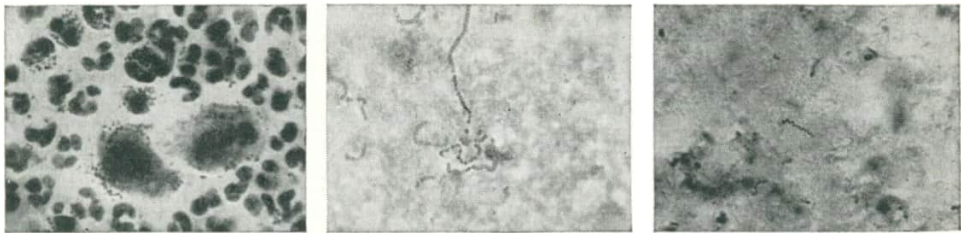


Abb. 291/2 Für den Menschen pathogene Bakterien; links Gonokokken (360 : 1/450 : 1), Mitte Streptokokken (360 : 1/450 : 1), rechts Spirochaeten (*Spirochaeta pallida*, Versilberung; 360 : 1/450 : 1)

Über die Methoden der Anzucht, Sterilisation, Reinkultur und über die dazu notwendigen Arbeitsmittel gibt die Fachliteratur Auskunft.

Man beginnt die Demonstration mit den Bakterien des Zahnbelags, die lebend, möglichst im Dunkelfeld, gezeigt werden (s. S. 158, Abb. 158/2). Ein sehr dankbares Untersuchungsobjekt sind auch die Bakterien aus der Kahmhaut von Aufgüssen. An ihnen lassen sich viele wichtige Formen am günstigsten zeigen. Ausstriche und Dauerpräparate werden nach Methode 8 (s. S. 157) angefertigt.

Die Bakterienzelle ist meist von einer Kapsel umgeben. Unter der Kapsel befinden sich die Zellwand und eine Zytoplasmamembran. Die Kernsubstanzen sind in einem Kernäquivalent (Nukleoid) im Zytoplasma vorhanden.

Beobachtet man lebende Bakterien in einem wäßrigen Medium, so fallen „wimmelnde“ Bewegungen auf. Es handelt sich jedoch im allgemeinen nicht um aktive Bewegungen. Die Bakterien werden durch die Eigenbewegung der Wassermoleküle hin- und hergestoßen (Brownsche Molekularbewegung). Nur wenn Bakterien „zieltrebig“ durch das Gesichtsfeld schwimmen, handelt es sich um aktive Bewegungen mittels Geißeln. Es gelingt im Frischpräparat kaum, Geißeln zu sehen. Sie werden durch komplizierte



Färbe-, Beiz- und Imprägnationsmethoden sichtbar gemacht. Die Geißeln sind Bildungen des Zellplasmas.

Im folgenden wird auf einige weitere Präparationsmethoden sowie auf unterrichtlich interessante, leicht beschaffbare Bakterien hingewiesen.

Der Heubazillus (*Bacillus subtilis*), der in Kahmhäuten vermischt mit anderen Fäulnisregnern lebt, wird zunächst im hängenden Tropfen im Dunkelfeld untersucht. Er ist 2  $\mu\text{m}$  bis 3  $\mu\text{m}$  lang und 0,7  $\mu\text{m}$  bis 0,8  $\mu\text{m}$  breit. Objektträger mit hängendem Tropfen werden in der feuchten Kammer aufbewahrt. Um Teilungen direkt beobachten zu können, werden einige Bakterien von einer frischen Kahmhaut in einen hängenden Tropfen frisch ausgepreßten Fleischsaftes übertragen. (Flacher Tropfen!) Die Teilungen gehen im Rhythmus von etwa  $\frac{1}{2}$  bis  $1\frac{1}{2}$  Stunden vor sich; je höher die Temperatur ist, desto schneller erfolgen sie. Sind die Nährstoffe des Tropfens nach einigen Tagen verbraucht, so gehen die Bazillen zur Sporenbildung über (Familie *Bacillaceae* bildet Sporen, Familie *Bacteriaceae* bildet keine Sporen). Die mittelständigen Sporen fallen infolge stärkerer Lichtbrechung als helle Körperchen auf.

Zur Herstellung eines Dauerpräparats, das Bazillen und Sporen in Kontrastfärbung zeigt, streicht man einen hängenden Tropfen mit stark sporenhaltigem Material dünn aus und läßt in der Luft trocknen. Zur Fixierung der Bazillen wird ein Deckglas dreimal mit der Schicht nach oben schnell durch eine Flamme gezogen und, wenn es abgekühlt ist, zur Entfernung etwaiger Fetttröpfchen für 2 Minuten in Chloroform gestellt. Dann wird es in Wasser abgespült und für etwa 10 Minuten in 5%ige wäßrige Chromsäurelösung gelegt. Anschließend wird wieder in Wasser abgespült, mit Karbolfuchsin (Färb. 14) bedeckt und 1 Minute erhitzt. Zur Differenzierung (Entfärbung der Bazillen) badet man das Präparat einige Sekunden in 5%iger Schwefelsäure, spült mit Wasser kurz ab und färbt etwa 30 Sekunden mit verdünnter Methylenblaulösung. Zum Schluß wird in Wasser abgespült, an der Luft getrocknet und in Neutralbalsam eingeschlossen. Die Bazillen haben sich bei dieser Behandlung blau gefärbt, die Sporen rot. Diese etwas komplizierte Methode ergibt hervorragende Ergebnisse.

Das Säuern der Milch (Vergärung des Milchzuckers) ist auf die Tätigkeit von Milchsäurebakterien zurückzuführen. Die wichtigsten gehören den Gattungen *Plocamobacterium*, *Streptobacterium* (*Bacteriaceae*) und *Streptococcus* (*Micrococcaceae*) an. Ein Tropfen des gelblichen Serums, das sich auf saurer Milch ansammelt, wird im Frischpräparat untersucht; Dauerpräparate, auch von Kokken aus den Kahmhäuten auf Sauerkraut- oder Gurkenfässern, werden nach Methode 8 (s. S. 157) hergestellt. Zwischen faulenden Algen und Wasserflöhen befinden sich häufig Spirillen in großen Mengen.

Zur Darstellung der landwirtschaftlich wichtigen Wurzelknöllchenbakterien (*Bacterium radicicola*) werden Wurzeln der Leguminosen verwendet (z. B. Bohne, Erbse, Lupine, Wicke), die bei genauer Betrachtung die gallenartigen Knöllchen in großer Menge zeigen. Frisches Material läßt sich ebenso gut verwenden wie Alkoholmaterial. Die Knöllchen werden halbiert, der Inhalt wird mit der Lanzettnadel herausgeschabt, in Wasser verrührt und frisch untersucht (Fuchsin durchsaugen!). Ein anderes Knöllchen zerlegt man zwischen Holundermark (Methode 11, s. S. 170) in feine Schnitte, die möglichst quer zur Längsachse der das Knöllchen tragenden Wurzel verlaufen sollen. Die Schnitte werden in Wasser untersucht. Im Inneren des Knöllchens befindet sich sehr großzelliges Gewebe, dessen einzelne Zellen stark mit *Bacterium radicicola* gefüllt sind. Es handelt sich um Kurzstäbchen, die teilweise etwas gekrümmt sind. Die Bakterien aus alten Knollen sind unterschiedlich geformt (Bakterioide). Ein Dauerpräparat

eines Knöllchenquerschnitts wird nach Methode 11 (s. S. 170) mit Safranin- oder Gentanviolett-Färbung (Färb. 10 oder 17) hergestellt.

Zur Zucht eines der bekanntesten anaeroben Stickstoffbinder (*Bacillus amylobacter*, landwirtschaftlich wichtige Bodenmikrobe) höhlt man eine frische Kartoffel etwas aus und verstreicht den Ausschnitt mit Ackerboden. Diese Kartoffel wird so in ein Becherglas mit Wasser gelegt, daß der Wasserspiegel einige Zentimeter über dem Einschnitt steht. Bei Zimmertemperatur tritt schon nach zwei bis drei Tagen Schaumbildung ein. Sie zeigt an, daß die Fäulnis eingesetzt hat. Nach weiteren zwei Tagen wird die nunmehr naßfaul gewordene Kartoffel herausgenommen, aus der Wunde, möglichst dicht unter der Haut, eine Materialprobe entnommen und in Lugolscher Lösung untersucht; *Bacillus amylobacter* nimmt sofort eine blauviolette Färbung an, andere Formen bleiben ungefärbt.

In erweiterten Oberschulen sollten einige Dauerpräparate von menschenpathogenen Formen zu Demonstrationszwecken vorhanden sein. Empfehlenswert sind dafür Formen, die als Erreger allgemein bekannter Krankheiten wichtig sind, zum Beispiel *Mycobacterium tuberculosis* (Tuberkulose), *Vibrio cholerae* (Cholera), *Bacterium typhi* (Typhus), *Bacillus anthracis* (Milzbrand), Streptokokken (Eitererreger).

## Algen (Phycophyta)

Frische Algen werden sofort bei schiefer Beleuchtung oder im Dunkelfeld mit Vitalfärbung lebend untersucht. (Zeichnen, Fotografieren!) Dauerpräparate sind von den meisten Formen sehr schwer herzustellen, da die zarten Zellen leicht kollabieren. Die Fixierung gelingt am besten mit Pfeifferschem Gemisch (s. S. 278), das den Algenproben gleich am Fundort zugesetzt wird. Sollen die Algen ihre natürliche Farbe behalten, ist die Culactolmethode (s. S. 278f.) zu verwenden. Gute Ergebnisse lassen sich auch mit Chromsäure-Eisessig (1 g Chromsäure, 0,5 cm<sup>3</sup> Eisessig, 100 cm<sup>3</sup> Wasser) erzielen. Gefärbt wird mit Boraxkarmin, Alizarinviridin, Hämalan oder Eisenhämatoxylin (Färb. 8, 9, 6, 20). Große Schwierigkeiten bereiten Entwässerung und Einschuß. Der Anfänger arbeitet zunächst mit Glyzeringelatine. Gefärbte Algen legt man in Glyzerinwasser 1 : 10, läßt das Wasser verdunsten und überträgt vorsichtig in Gelatine. Bei der Culactolmethode wird entsprechend verfahren. Soll in Balsam eingeschlossen werden, so entwässert man im Blockschälchen und steigert die Alkoholkonzentration dadurch, daß man in gewissen Zeitabständen einen Tropfen höherprozentigen Alkohol zusetzt. Am häufigsten werden Präparate beim Übergang aus Wasser in Alkohol und beim Übergang aus Alkohol in Xylol und Balsam verdorben. Deshalb ist es am besten, die Algen in ein wassergefülltes Glasröhrchen zu übertragen, dessen eines Ende mit Zellophan oder Pergamentpapier dicht verschlossen ist. Das Röhrchen wird in ein Gefäß mit absolutem Alkohol gestellt. Durch Diffusion steigt die Alkoholkonzentration in dem Algengläschen langsam an. Der absolute Alkohol wird im zweiten Arbeitsgang nach und nach durch Xylol verdrängt. Das Xylol verdickt man langsam mit Balsam und schließt dann das Präparat ein. Dauerpräparate von Algen besitzen nur dann Wert, wenn die entsprechenden Arten zuvor eingehend lebend untersucht und gezeichnet worden sind.

## Geißelalgen (*Flagellatae*)

Die Flagellaten gehören dem Süßwasser- und Meeresplankton an. Sie treten oft in großen Mengen auf. Koloniebildung und Übergang zur Mehrzelligkeit kommen vor. Die vorwiegend einzelligen, mit einer oder mehreren Geißeln ausgestatteten Flagellaten sind meist nur mit einer zarten Zellmembran gegen die Umwelt abgegrenzt. Zellwandverstärkungen kommen bei Panzeralgen (s. Abb. 294/2) Kieselpanzer bei Silikoflagellaten vor (s. Abb. 294/1). Manche Arten haben rote Augenflecke zur Wahrnehmung von Hell und Dunkel (z. B. *Euglena*). Da alle Flagellaten positiv phototaktisch reagieren, können sie aus Planktonfängen leicht dadurch isoliert werden, daß die Aufbewahrungsgefäße einseitig belichtet werden. Die Flagellaten sammeln sich an der Lichtseite und können von dort abpipettiert werden.

In Dorfteichen, Jauchetümpeln, Gräben mit Faulwasser usw. tritt fast das ganze Jahr hindurch Rotäugelein (*Euglena viridis*) in oft so großen Mengen auf, daß die Gewässer grün gefärbt erscheinen. Man untersucht im hängenden Tropfen mit Neutralrot. Die Kerne werden mit Karminessigsäure oder Methylgrün-Essigsäure (Färb. 3, 4) gefärbt. Zur Darstellung der Geißeln saugt man stark verdünnte Jodlösung durch oder läßt die Flagellaten auf dem Objektträger antrocknen. Dauerpräparate fallen sehr unbefriedigend aus.

In dünnen Abkochungen von Mais oder gelben Erbsen lassen sich *Euglena*-Arten gut züchten. Diese Nährlösung wird folgendermaßen hergestellt: Man füllt Heu in 5 cm hoher Lage in ein Glasgefäß, bedeckt es mit Ackererde und dann mit Sand, füllt das Abkochwasser von Mais oder gelben Erbsen auf und impft mit *Euglenen*.

Gelbfärbung von Gewässern läßt ein starkes Auftreten der Panzeralge *Ceratium hirundinella* vermuten. Da Zeratien zu den größten Geißelträgern gehören und einen aus einzelnen Platten aufgebauten Zellulosepanzer tragen (s. Abb. 166/1, 294/2), eignen sie sich gut zur Untersuchung und zur Herstellung von Dauerpräparaten. Sie

Abb. 294/1 Kieselpanzer von Silikoflagellaten im Kreispräparat; schiefe Kontrastfarbenerleuchtung (80 : 1/200 : 1)

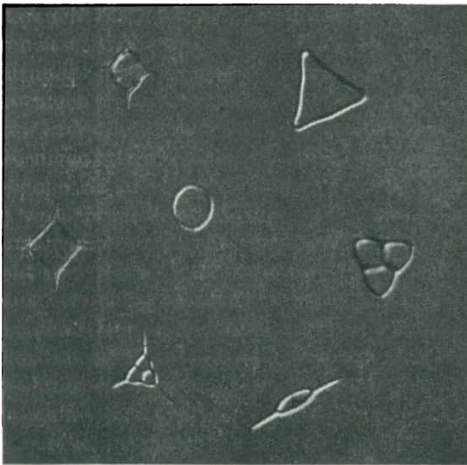
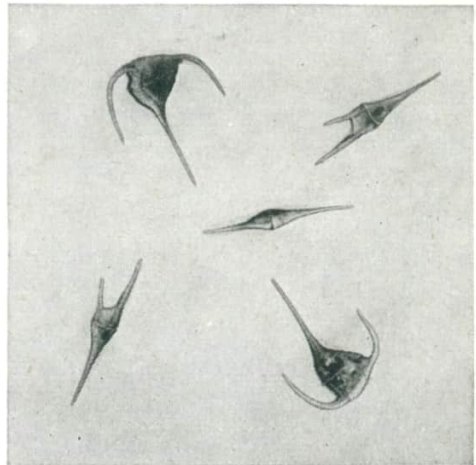


Abb. 294/2 Panzeralgen (Dinoflagellaten) im Kreispräparat (75 : 1/180 : 1)



veranschaulichen ausgezeichnet, daß durch Oberflächenvergrößerung (z. B. Schwebefortsätze, Stacheln, Leisten) die planktonische Lebensweise unterstützt wird. Gut gelungene Präparate zeigen auch die Geißeln, von denen eine in einer Längsfurche als Schleppgeißel zum Körperende zieht, während die andere in einer Ringfurche um den Körper verläuft. In gelbgefärbten Gewässern kommen oft auch Vertreter der zu den Goldalgen (*Chrysophyceae*) gehörenden Gattung *Dinobryon* vor (s. Abb. 166/1).

Für den Unterricht wichtig sind die häufig koloniebildenden Kugelalgen (*Volvocales*). *Chlamydomonas* (zweigeißlig) kommt oft in Faulwassertümpeln vor. Die häufigste Art ist *Chlamydomonas variabilis*. Sie ist etwa 20 µm groß, breit walzenförmig und an den Enden abgerundet. Eine starke Zellulosemembran, ein deutliches Chromatophor und ein roter Augenfleck kennzeichnen die Art. Bei der geschlechtlichen Vermehrung treten Isogameten auf. Zur Kultur von *Chlamydomonas* wird ein Glaszylinder von 30 cm Höhe und 5 cm Durchmesser 1 cm bis 2 cm dick mit eiweißhaltigem Substrat (z. B. Hühner-eiweiß, Käserinde) gefüllt, darauf in 3 cm Höhe Gartenerde gegeben und das Ganze leicht angedrückt. Man setzt mehrere Zylinder an und nimmt für jeden Erde von einer anderen Stelle. Über die Erdschicht wird gut ausgewaschener Sand geschichtet und das Ganze mit Leitungswasser vorsichtig aufgefüllt. Die Zylinder werden bei Zimmertemperatur in diffusem Tageslicht aufbewahrt. Zuerst sammeln sich in dünner Wolke über dem Sand Bakterien an, dann treten grüne Algenschwärmer auf, die als Ruhekeime in der Gartenerde vorhanden waren. Nach etwa 8 Tagen haben sich die Chlamydomonaceen so vermehrt, daß das Wasser stark grün gefärbt ist. Die Kulturen halten meist nur einige Wochen und müssen dann auf frische Gläser übergeimpft werden. Meistens treten auch Vertreter verschiedener anderer Tier- und Pflanzenarten auf. Frische Kulturgläser werden mit Euglenen oder koloniebildenden Kugelalgen geimpft, dazu muß die Erde aber vorher im Wasserbad sterilisiert werden.

*Gonium pectorale* und *Pandorina morum* bilden im normalen Zustand 16zellige Kolonien, die bei *Gonium* tafelförmig in einer leicht gebogenen Gallerthülle, bei *Pandorina* dagegen in einer Gallertkugel liegen, in der sie Drehbewegungen ausführen. Die Einzelzellen sind von *Chlamydomonas* kaum zu unterscheiden. Beide Formen sind vom zeitigen Frühjahr an in Teichen, Tümpeln und Gräben relativ häufig. Zum Fang dienen Planktonnetz und Flagellatenfalle (Phototaxis). Die Gallertmasse wird in Karbol-fuchsin angefärbt.

Kolonien der Kugelalge (*Volvox*) treten im Plankton unserer Gewässer oft massenhaft auf. Durch ihre Größe (bis zu 0,8 mm) sind die Kolonien schon mit bloßem Auge als feine grüne Pünktchen im Fangglas zu erkennen. Dieses für den Biologieunterricht wichtige Objekt sollte unbedingt im Frischpräparat untersucht werden. (Deckglas mit Füßchen abstützen!) *Volvox* ist sehr schwer zu fixieren, da sich die nur lose zusammenhängenden Einzelzellen in den gebräuchlichen Fixiermitteln trennen. Am besten gelingt die Fixierung mit einem Gemisch aus gesättigter Pikrinsäurelösung und gesättigter wäbriger Sublimatlösung (2 : 3). Dieses Gemisch wird im Verhältnis 1 : 3 dem frischen Fang zugesetzt. Nach mindestens dreistündiger Fixierung wird sorgfältig ausgewaschen (Meth. 9, s. S. 163) und in Balsam eingeschlossen. Eine andere Möglichkeit ist, über Glycerinwasser in Glyzeringelatine einzubetten. In den Präparaten können beispielsweise Tochterkugeln, Zygoten, Eizellen und Spermatozoidbündel beobachtet werden.

### *Kieselalgen (Diatomeae)*

Kieselalgen sind besonders im Frühling kurz nach der Schneeschmelze oder auch im Herbst als braune, schleimige Massen an der Oberfläche stehender Gewässer in Ufernähe zu finden. Grünlich bis braun gefärbte Überzüge an unter Wasser liegenden Steinen oder Holzstückchen bestehen ebenfalls größtenteils aus Diatomeen. Planktondiatomeen, die oft in Verbänden leben, werden mit dem Planktonnetz gefangen. Auch die oberflächlichen Schlammschichten der Gewässer sind von Diatomeen bewohnt. In sumpfigen Gewässern sind beispielsweise *Navicula*, *Synedra*, *Cymbella* und *Diatoma* häufig anzutreffen. Bei schiefer Beleuchtung werden Frischpräparate im Dunkelfeld untersucht. Längere Untersuchungen werden im hängenden Tropfen vorgenommen. Kernteilungen finden in den Mitternachtsstunden statt, die Bildung der Auxosporen sollte beobachtet und gezeichnet werden. Die Individuen treten aus ihren Schalen und wachsen direkt oder nach einer Kopulation zu normal großen Individuen heran. Die Präparate werden mit Methylenblau oder Neutralrot (Färb. 2, 1) lebend gefärbt. Bei der Untersuchung in Opalblau treten Gallertausscheidungen deutlich hervor. Dauerpräparate werden nach Methode 1 oder 9 (s. S. 139, 163) hergestellt.

Für reine Membranpräparate wird frisches Diatomeenmaterial in einer Porzellanschale 15 bis 20 Minuten mit konzentrierter Schwefelsäure (Vorsicht!) gekocht. Der noch kochenden Flüssigkeit setzt man tropfenweise Kaliumchloratlösung zu und rührt mit einem Glasstab um. Mazeriert wird so lange, bis das Material völlig weiß ist. (Vorsicht, nicht die aufsteigenden Dämpfe einatmen!) Die Säure muß vorsichtig abgegossen, der Diatomeenrückstand gründlich mit destilliertem Wasser ausgewaschen und in 90%igem Alkohol konserviert werden.

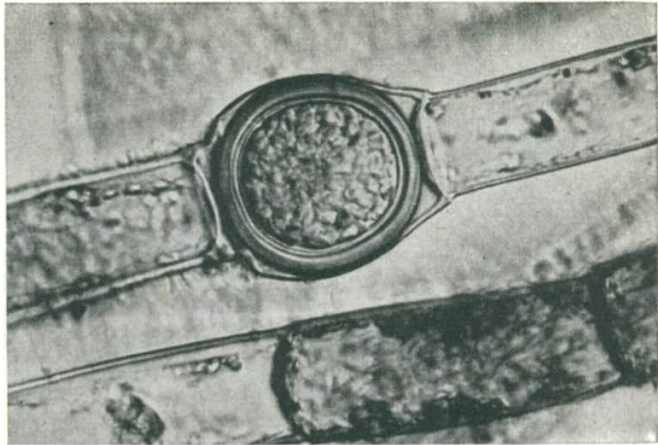
Zur Zucht von Diatomeen wird Schlamm in flachen Gefäßen ausgebreitet, abgedeckt und in zerstreutem Licht gehalten. Als Nährsubstrat werden Abkochungen von Stroh zugegeben.

### *Grünalgen (Chlorophyceae)*

Grünalgen gibt es in großer Arten- und Individuenzahl während des ganzen Jahres. Sie sind ein- bis vielzellige Organismen mit grün gefärbten Chloroplasten. Als Assimilationsprodukt bilden sie echte Stärke. Grünalgen leben im Süßwasser und im Meer, manche Arten besiedeln auch Feuchtluftgebiete (Boden) und sogar Trockenluftgebiete (Baumstämmen, Felsen). Einige *Chlorococcales* sind mit Flechtenpilzen symbiontisch vergesellschaftet (Flechten) oder leben als Symbionten (Zoochlorellen) beispielsweise in Infusorien und Polypen. Einzellige Grünalgen fallen als grüne Überzüge an den Wetterseiten von Bäumen, an Brettern und Steinen auf. *Protococcus viridis* hat einen deutlichen Kern, ein becherförmiges Chromatophor und kann bis 8zellige Kolonien bilden. *Chlorella vulgaris* kann durch massenhaftes Auftreten die Gewässer grün färben. Sie lebt häufig in Symbiose mit Ziliaten, Schwämmen und Hohltieren. *Chlorococcum*, eine nahe verwandte Form, lebt symbiontisch in Flechten. Dauerpräparate werden mit Culactolgelatine oder nach Methode 9 (s. S. 163) hergestellt.

Zu den schönsten Formen aus der Gruppe der Grünalgen gehören die Zackenrädchen (*Pediastrum*), die planktonisch in geringer Arten-, oft aber in reicher Individuenzahl in unseren Gewässern leben. Die zierlichen, scheibenförmigen Kolonien werden bis 400 µm groß. Sie bestehen in der Regel aus 8 Zellen bzw. dem 2-, 4-, 8- oder 16fachen

Abb. 297/1 Kniebeulenalge (*Oedogonium* sp.); Dauerzygote in Reliefbeleuchtung (140 : 1/350 : 1)



dieser Zahl. Sie werden mit dem Planktonnetz gefangen und im hängenden Tropfen untersucht.

Die Kraushaaralgen (*Ulothrix*) leben in schnellfließenden Bächen und in kühlen Brunnen, sie bilden unverzweigte Fäden, die an der Unterlage festgeheftet sind. Schwärmsporenbildung kann dadurch hervorgerufen werden, daß frische Fäden mit 2- bis 4%iger Zuckerlösung in flache Schalen gebracht werden.

Kniebeulenalgen (*Oedogonium*) leben ebenfalls als unverzweigte, festsitzende Fäden in fließenden, klaren Gewässern. Klare Bäche mit Steingrund, Schilfbestände, Pfähle und Mauern in Teichen und Wiesengraben liefern immer zahlreiche Arten. Kniebeulenalgen kann man leicht an der kappenförmigen Ausbildung der Querwände älterer Zellen erkennen. *Oedogonium* bildet Schwärmsporen mit einem Wimperkranz (in 2- bis 4%ige Zuckerlösung legen). Bei der geschlechtlichen Vermehrung schwellen einige Fadenzellen zu Eibehältern (Oogonien) an. Nach der Befruchtung durch schwärmsporenenähnliche männliche Geschlechtszellen werden sie zu starkwandigen Dauerzygoten umgebildet (s. Abb. 297/1).

Schlauchalgen (*Vaucheria*) wuchern in dichten grünen Polstern am Schlammgrund von moorigen Teichen und Gräben. Die Anzuchtgefäße mit frisch eingesetzten Vaucherien müssen verdunkelt werden, damit sich Schwärmsporen bilden. Die Fadenenden werden deutlich dunkelgrün, bilden eine Querwand aus und entlassen je eine große, allseitig bewimperte Schwärmspore. Abgetrennte Fadenenden werden frisch unter gut gestützten Deckgläsern untersucht. Werden frische Schlauchalgen in 2- bis 4%ige Zuckerlösung gebracht und gut belichtet, bilden sie Geschlechtsorgane (Oogonien, Antheridien) aus. Flußalgen (*Cladophora*) bilden in Flüssen und Bächen bis zu 30 cm lange, stark verzweigte und festgewachsene Fadenbüschel, die im Wasserstrom fluten. *Cladophora*-Arten kommen auch im Meer vor. Die Seitenzweige entspringen aus den oberen Seitenteilen der Zellen, die nach den Spitzen zu an Größe und Umfang stark abnehmen. Die Zellen enthalten viele Zellkerne und Chromatophoren mit deutlichen Stärkeherden (Jod-Kaliumjodid-Lösung durchsaugen!). Flußalgen sind oft über und über mit Kieselalgen besetzt, die eine genaue Untersuchung stören können. Frische *Cladophora*-fäden werden abends in flache Schalen mit niedrigem Wasserstand gelegt. Am nächsten Tage werden vor allem die Spitzen der Fäden auf die zwei- bis viergeißeligen Schwärm-

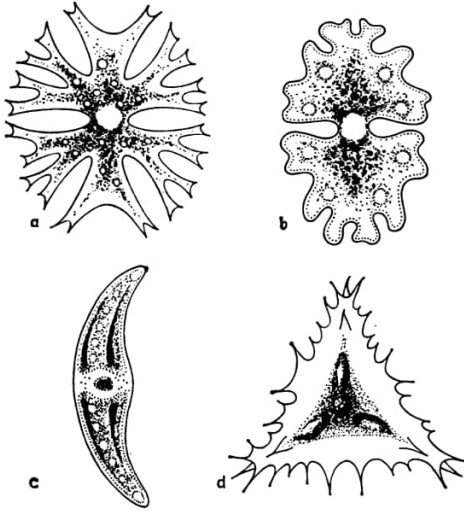


Abb. 298/1 Zieralgen (*Desmidiaceae*); a *Micrasterias angulosa*, b *Euastrum pinnatum*, c *Closterium costatum*, d *Stauroastrum aculeatum*

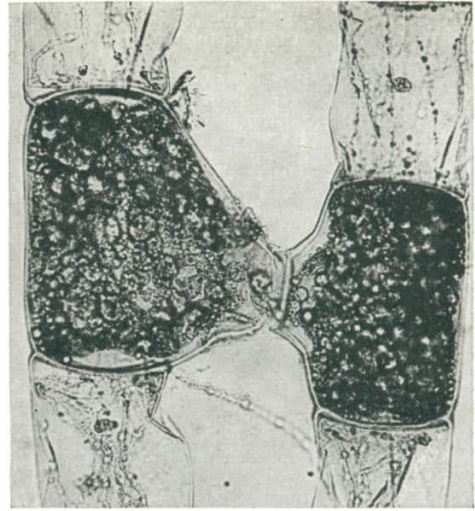


Abb. 298/2 Schraubenalgen (*Spirogyra* sp.) in Konjugation (32 : 1/85 : 1)

sporen untersucht, die von den Zellen in großer Anzahl gebildet werden. Die Schwärmsporen besitzen einen roten Augenfleck und sind positiv phototaktisch.

Dauerpräparate der genannten Grünalgen werden in Culactolgelatine oder nach Methode 9 (s. S. 163) eingeschlossen. Fixiert wird mit Pikrinsäure, Chromsäure (Fix. 4, 7) oder Pfeiffers Gemisch, gefärbt wird mit Pikro-Nigrosin, Hämalaun, Boraxkarmin oder Alizarinviridin (Färb. 5, 6, 8, 9). Die Zieralgen (*Desmidiaceae*, s. Abb. 298/1) lieben stehende, saure Gewässer, meiden dagegen verschmutztes und kalkhaltiges Wasser. Man findet sie in Mooren, kleinen Tümpeln und Lachen, Entwässerungsgräben und Torfmoospolstern. Sie gehören zur Ordnung der Jochalgen.

Zieralgen (z. B. *Closterium*, *Cosmarium*, *Micrasterias*) werden im hängenden Tropfen lebend untersucht. Man beobachtet die Protoplasmaströmung um die beiden Chloroplasten. Endständig finden sich bei vielen Arten eine oder mehrere Vakuolen, in denen zahlreiche Gipskristalle in ständiger zitteriger Bewegung sind (Brownsche Molekularbewegung). Der Kern liegt in der Mitte zwischen den beiden Chloroplasten, direkt unter der mittleren Schnürfurche. Kernteilungen finden in den Mitternachtsstunden statt. Schleimausscheidungen werden durch Untersuchung in Opalblau oder verdünnter Methylenblaulösung nachgewiesen. Zur Anfertigung von Dauerpräparaten wird nach Methode 9 (s. S. 163) gearbeitet, mit Chromessigsäure fixiert, mit Alizarinviridin, Karbol-fuchsin oder Eisenhämatoxylin (Färb. 9, 14 oder 20) gefärbt, vorsichtig entwässert und in Balsam eingeschlossen. Andere Proben werden in Culactolgelatine eingeschlossen. Auch Farbfixierung mit Pikro-Nigrosin (Färb. 5) und anschließende Einbettung in Glyceringelatine kann empfohlen werden.

Von den fadenförmigen, unverzweigten Jochalgen (*Zygnemaceae*, s. Abb. 282/1) ist besonders die Gattung *Spirogyra* bekannt. Sie bilden im Frühling hellgrün gefärbte Matten an der Oberfläche stehender Gewässer. Zum Einsammeln dürfen keine Metall-

geräte verwendet werden. Am besten eignen sich die Arten, deren Zellen nur ein Chlorophyllband aufweisen. Zur Lebenduntersuchung werden die Fäden zerschnitten. Mit Eosin angefärbte 10%ige Kaliumnitratlösung wirkt stark plasmolysierend. Nach dem Durchsaugen von Jod-Kaliumjodid-Lösung treten die Stärkeherde (Pyrenoide) gut hervor. Kernteilungen treten gegen Mitternacht ein. Um Konjugationen (s. Abb. 298/2) herbeizuführen, werden frisch eingebrachte Schraubenalgen gut belichtet, ohne sie dabei zu erwärmen. Gelingt das nicht, so überträgt man frisches Material in 2- bis 3%ige Zuckerlösung und setzt die Zuchtgefäße der Sonnenbestrahlung aus. Nach etwa 2 bis 3 Tagen bilden sich Dauerzygoten. Konjugierende Algen werden im hängenden Tropfen untersucht; in der Zwischenzeit muß der Objektträger in der feuchten Kammer aufbewahrt werden. Dauerpräparate stellt man nach der Culactolmethode (s. S. 278f.) her. Außerdem eignen sich zur Fixierung Pfeiffers Gemisch, Pikrinsäure und Chromsäure (Fix. 4 und 7). Zur gleichzeitigen Fixierung und Färbung wird Pikro-Nigrosin (Färb. 5), zur Färbung Hämalaun, alkoholische Boraxkarminlösung oder Alizarinviridin (Färb. 6, 8, 9) verwendet.

Die fadenförmigen, unverzweigten Sternalgen (*Zygnema*), die ihren Namen nach den beiden sternartigen Chloroplasten in jeder Zelle tragen, kommen häufig an den gleichen Orten wie *Spirogyra* (s. Abb. 282/2) vor. Konjugationen treten relativ selten auf (Präparationstechnik wie bei *Spirogyra*).

## Pilze (Mycophyta)

### Algenpilze (*Phycomycetes*)

Zu den bekanntesten Algenpilzen zählt der Köpfchenschimmel (*Mucor mucedo*). Er bildet auf Lebensmitteln, Pferdemist u. ä. weiße Schimmelrasen. Wenn Brot oder Pferdemist im warmen Zimmer in die feuchte Kammer gelegt werden, ist nach spätestens 2 Tagen das erforderliche Untersuchungsmaterial vorhanden. Bei Kulturen auf Pferdemist tritt meist auch *Mucor racemosus* auf, dessen Sporenkapselträger verzweigt sind. Die Pilze werden im Wassertropfen frisch untersucht. Das vielkernige, unseptierte Myzel besteht aus stark verzweigten, dicken Schläuchen. Auf senkrechten Traghyphen bilden sich Sporangien. Reife Sporangien sind kugelförmig, zerfallen im Wasser und geben die in einen farblosen Schleim eingebetteten vielkernigen Sporen frei. Zur Gewinnung von Zygoten werden im zeitigen Frühjahr flache Pferdemistkulturen angelegt. Da *Mucor* getrenntgeschlechtlich ist, entstehen die vielkernigen, glänzend-schwarzen Zygoten erst nach Kopulation der keulenförmig angeschwollenen Hyphen männlicher mit denen weiblicher Pilze. Dauerpräparate (lohnen kaum!) werden mit Formalin oder Chromsäure (Fix. 2, 7) fixiert, mit Boraxkarmin, Alizarinviridin, Eosin, Kernschwarz oder Safranin-Lichtgrün (Färb. 8, 9, 11, 16, 25) gefärbt und nach Methode 9 (s. S. 163) in Glyzerin-gelatine eingeschlossen. Bei Balsameinschluß vorsichtig entwässern (s. S. 131).

Die vom Fliegenötter (*Empusa muscae*) abgeschleuderten Konidien umgeben befallene Fliegen als weißlicher Hof. Sie werden mit der Rasierklinge abgeschabt und nach Methode 1 (s. S. 139) in Luft eingeschlossen. Die Abschnürung der Konidien (Exosporen) läßt sich im Frischpräparat beobachten. Viele Stubenfliegen werden in wenig Wasser gekocht. Nach Abkühlen wird der Hinterleib einer befallenen Fliege in die Abkochung



gelegt. Für die Herstellung von Schnittpräparaten wird der Hinterleib einer befallenen Fliege mit Formalin, Chromsäure oder Kaformazet fixiert (Fix. 2, 7 oder 16) in Paraffin eingebettet und in 20  $\mu\text{m}$  dicke Querschnitte zerlegt. Die Schnitte werden zunächst in Hämalan (Färb. 6), dann in Chrysoidin (Färb. 18) gefärbt. Da Chrysoidin in den Alkoholstufen ausgezogen wird, überfärbt man stark oder setzt dem absoluten Alkohol noch einmal Chrysoidin zu. Das Wirtsgewebe zeigt blaugefärbte Kerne; die aus ein- bis vierkernigen Zellen bestehenden Myzelien des Pilzes sind goldgelb gefärbt.

An faulenden Pflanzenteilen, an toten und lebenden Wassertieren gedeihen die Wasserschimmel (*Saprolegniaceae*). Sie werden durch Einlegen von toten Fliegen oder anderen Insekten (vor allem zerdrückte Mehlkäferlarven) in Wasser gezüchtet. Die Entwicklung der Hyphen dauert etwa 3 bis 4 Tage; nach 4 bis 5 Tagen werden Zoosporangien in großer Zahl gebildet. Die zweiwimprigen Schwärmsporen bewegen sich frei im Wasser. Verpilzte Aquarienfische bieten reiches Untersuchungsmaterial. Kleine Stücke der Pilzrasen werden im hängenden Tropfen beobachtet. Sind die Nährstoffe im Anzuchtgefäß erschöpft, so geht der Schimmel zur geschlechtlichen Vermehrung über und bildet Oogonien mit Eizellen. Nach der Befruchtung entwickeln sich die Eizellen zu derbwandigen Zygoten. Bei Dauerpräparaten wird mit Formalin, Chromsäure oder Nawaschins Gemisch (Fix. 2, 7, 15) fixiert, mit Boraxkarmin, Alizarinviridin, Eosin oder Safranin-Lichtgrün (Färb. 8, 9, 11, 25) gefärbt und sehr vorsichtig entwässert.

Ein flacher Tropfen einer keimfreien Nährgelatine wird auf einen Objektträger gebracht und mit Sporen besät. Der Objektträger wird in der feuchten Kammer aufbewahrt, bis sich Sporangien bilden. Ist die Kolonie gereift, so wird der Objektträger und daneben ein Wattebausch mit Formalin in eine geschlossene Petrischale gelegt. Die Pilzfäden werden durch die Dämpfe fixiert, die Nährgelatine gehärtet. Dann setzt man einen kleinen Glyzerintropfen auf ein Deckglas, legt das Deckglas mit dem Tropfen nach unten auf den Pilz und erwärmt den Objektträger schwach, bis die Gelatine zu schmelzen beginnt. Diese Methode ist für alle Algenpilze, aber auch für Gießkannen- und Pinselschimmel geeignet.

Der Erreger der Kartoffelfäule der Kartoffeln (*Phytophthora infestans*) bildet braune Flecke am Blatt der Kartoffeln. Teile einer erkrankten Kartoffelstaude hält man in einem Glas unter einer großen Glasglocke. Nach etwa 2 Tagen zeigen die Blätter, vor allem auf der Unterseite, einen feinen weißen Überzug, der von den Sporangienträgern gebildet wird. Flachschnitte dieser Blätter müssen trocken unter dem Deckglas untersucht werden, da die zitronenförmigen Sporangien in Wasser abfallen. Sporangien, in hängende Tropfen übertragen, liefern nach etwa 1 Stunde Schwärmsporen. Nach Methode 11 (s. S. 170) werden dünne Blattquerschnitte durch den Rand der braunen Flecken hergestellt. Dauerpräparate werden angefertigt wie bei Saprolegniaceen geschildert. Schnitte werden mit Hämalan-Chrysoidin oder Safranin-Lichtgrün (Färb. 23 oder 25) gefärbt. An Präparaten mit Hämalan-Chrysoidin-Färbung (Färb. 23) sind nicht nur die Pilzfäden, sondern auch verholzte oder verholzende Zellwände der Kartoffel hell- bis goldgelb gefärbt.

### Schlauchpilze (*Ascomycetes*)

Zu den einfachsten Schlauchpilzen gehören die Hefepilze. Sie lassen sich gut an Bierhefen (*Saccharomyces cerevisiae*) und Weinhefen (*S. ellipsoideus*) untersuchen. Preßhefe, besser jedoch gärende Maische aus einer Brauerei, wird in Wasser bei stärkster Ver-

größerung untersucht. Die Hefezellen sind eiförmig; sie besitzen eine sehr zarte Zellmembran, hellgelbes Protoplasma, Vakuolen und Granula. Werden Hefen in 5%iger Zuckerlösung, in Malzlösung (Biomalz) oder in Backpflaumensaft untersucht, so läßt sich starke vegetative Vermehrung durch Sprossung beobachten. Dabei zeigen die rundlichen Zellen Ausstülpungen, die durch eine Wand von der Mutterzelle getrennt werden, sobald sie groß genug geworden sind; die neuen Zellen vermehren sich auf die gleiche Weise. Oft trennen sich Mutter- und Tochterzellen nicht vollständig, so daß sich kolonieartige Sproßverbände bilden. Das geschieht besonders häufig in guten Nährlösungen. Um die Sprossung längere Zeit an denselben Zellen beobachten zu können, wird eine Tröpfchenkultur angelegt. Dazu wird ein Deckglas gesäubert und durch eine Flamme gezogen. Dann taucht man eine sterilisierte Zeichenfeder oder Nadel in eine schwach hefehaltige Nährlösung und zieht auf dem Deckglas einige Reihen kurzer Striche. Das so vorbereitete Deckglas wird mit einem Vaselineering über einen Hohl-schliffträger gekittet oder in eine feuchte Objektträgerkammer gebracht. Jeder Strich soll möglichst nur eine Hefezelle enthalten. Wenn die Nährstoffe in einer solchen Objektträgerkultur erschöpft sind, tritt Sporenbildung ein.

Zusatz von Jod-Kaliumjodid-Lösung zu den Hefezellen färbt den Zellinhalt und zeigt die Kerne deutlich. Dauerpräparate der Hefen werden nach Methode 9 (s. S. 163) mit Sublimat (Fix. 5) oder Pfeiffers Gemisch fixiert und mit Hämalun, Kernschwarz oder Eisenhämatoxylin (Färb. 6, 16, 20) gefärbt. Übungspräparate werden schnell hergestellt, indem lufttrockene Ausstriche nach Methode 8 (s. S. 157) mit Giemsas Farbfixerlösung (Färb. 21) behandelt werden. Dabei färben sich das Plasma blau und die Kerne rot.

Sehr interessant sind die Nektarhefen, die im Nektar der Blüten vieler Pflanzen vorkommen. Die zu untersuchenden Blüten (z. B. von Leinkraut, Taubnessel, Rittersporn, Kapuzinerkresse, Salbei, Ziest, Erdrauch) werden am Abend eines für den Insektenflug (Hummeln, Bienen) günstigen Tages eingesammelt und am Stengel in der feuchten Kammer aufgehoben. Nach 1 bis 2 Tagen ist der Nektar nicht mehr wasserklar wie in völlig frischen Blüten, sondern durch die Tätigkeit der Hefen stark getrübt. Mit Hilfe einer sehr fein ausgezogenen Pipette wird der Blütensaft auf den Objektträger übertragen. Am besten untersucht man im hängenden Tropfen. Der Pinselschimmel (*Penicillium*) ist der häufigste aller Schimmelpilze. Seine blaugrüne Färbung wird durch die Konidienketten hervorgerufen. Um Untersuchungsmaterial zu gewinnen, wird ein Stück angefeuchtetes Brot in die feuchte Kammer gelegt und dunkel gehalten. Bald treten *Mucor*-Arten auf, die jedoch nach spätestens 2 Tagen vom Pinselschimmel, der nunmehr üppig wuchert, verdrängt werden. Zur Frischuntersuchung legt man etwas Material in einen Glycerintropfen und läßt einen Tropfen Alkohol darauffallen. Dadurch wird die anhaftende Luft beseitigt, und die Pilzfäden sinken in das Glycerin ein. (Deckglas auflegen!) Für einfache Dauerpräparate braucht lediglich etwas Glycerin-gelatine aufgetropft und ein Deckglas aufgelegt zu werden. Anderes Material wird nach Methode 9 (s. S. 163) mit Alkohol (Fix. 1) fixiert, mit Hämalun, Kernschwarz oder Safranin-Lichtgrün (Färb. 6, 16, 25) gefärbt und in Balsam eingeschlossen. (Vorsichtig entwässern!)

Gießkannenschimmel (*Aspergillus*) kommen oft auf eingekochten Früchten und auf Brot vor. Untersuchung und Präparation erfolgen wie beim Pinselschimmel.

Zur Untersuchung von Morcheln (*Morchella esculenta*) werden dünne Querschnitte senkrecht zur Oberfläche geführt. Die Präparate werden nach Methode 11 (s. S. 170) mit Alkohol, Chromsäure oder Nawaschins Gemisch (Fix. 1, 7, 15) fixiert und mit Häm-

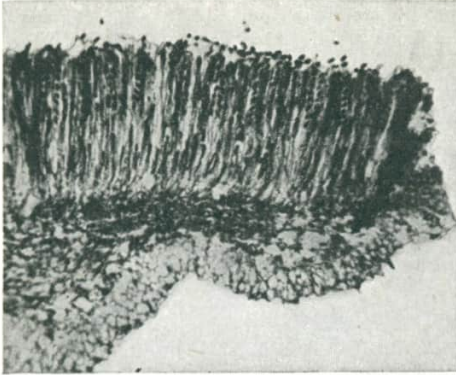


Abb. 302/1 Kloeckrebs (*Sclerotinia ciborioides*); Fruchtkörper mit Asci und Sporen im Längsschnitt (35 : 1/80 : 1)

Pfeiffers Gemisch fixiert, 24 Stunden in Eosin (Färb. 11) gefärbt, 1 Minute in 1%iger Essigsäure gebadet und nach dem Auswaschen mit destilliertem Wasser über Glycerinwasser in Glyzerin-gelatine eingebettet. Dünne Blattquerschnitte können auch mit der auf Seite 300 geschilderten Kontrastfärbung oder Safranin-Lichtgrün (Färb. 25) behandelt werden.

Die Sporenschläuche der Schlauchpilze lassen sich besonders gut an gelungenen Schnitten durch Scheibenpilze (*Discomycetales*) untersuchen. Aus den knolligen, harten Dauerformen wachsen an dünnen Stielchen die weitgeöffneten, scheiben- oder schüssel-förmigen Fruchtkörper (Apothezien). Ein Längsschnitt durch einen Fruchtkörper zeigt die Sporenschläuche und in ihnen die Sporen in verschiedenen Entwicklungsstadien

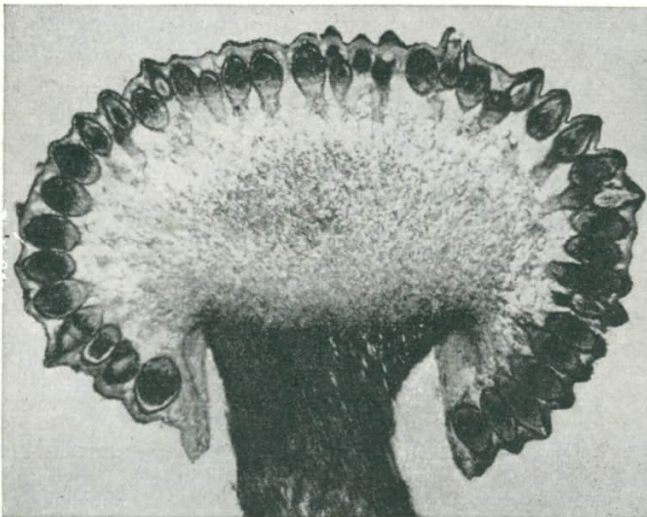


Abb. 302/2 Mutterkornpilz (*Claviceps purpurea*); Fruchtkörper mit Perithezien und Asci im Längsschnitt (10 : 1/35 : 1)

alaun oder Safranin-Lichtgrün (Färb. 6, 25) gefärbt. Stücke von Fruchtkörpern der Morchel können in 90%igem Alkohol konserviert werden, jedoch lassen sich auch getrocknete und in Wasser wieder aufgeweichte Stücke verarbeiten.

Die echten Mehltaupilze (*Erysiphaceae*) haben als Parasiten an Pflanzen Bedeutung. Sie überziehen zum Beispiel die Blätter der Stachelbeeren: *Sphaerotheca mors-uvae*, Gräser: *Erysiphe graminis*, Weinreben: *Uncinula necator*, Eichen: *Microsphaera quercina* und senden Haustorien in die Epidermiszellen. Dünne Flächenschnitte der Blätter sowie Blatt- und Stengelquerschnitte werden frisch untersucht. Material für Dauerpräparate wird mit 3%iger Formalinlösung oder

(s. Abb. 302/1). Fixierung mit Chromsäure oder Nawaschins Gemisch (Fix. 7, 15), Färbung mit Kernschwarz, Eisenhämatoxylin oder Hämalaun (Färb. 16, 20, 6).

Der Mutterkornpilz (*Claviceps purpurea*) parasitiert besonders in jungen Fruchtknoten des Roggens und bildet Sporen, die durch Insekten verbreitet werden. In der Ähre entsteht an Stelle des zerstörten Fruchtknotens ein schwarzer gekrümmter Körper, das Mutterkorn. Es besteht aus Pilzfäden. Man sammelt befallene Ähren ein, weicht die Mutterkornkörper (Sklerotien) zwischen Fließpapier auf und stellt nach Methode 11 (s. S. 170) möglichst dünne Querschnitte her. Durch die Frischpräparate werden Fuchsin und anschließend Alkohol gesaugt, um das reichlich vorhandene Fett zu entfernen. Ungefärbte Frischpräparate können in Gelatine eingeschlossen werden. Einige Sklerotien werden in feuchten Sand gelegt. Nach einigen Monaten wachsen aus ihnen blaßrote, gestielte Fruchtkörper. Sie werden total mit Pikro-Nigrosin behandelt und in Gelatine eingeschlossen. Feine Schnitte durch die Köpfchen der Fruchtkörper zeigen zahlreiche Becher (Perithezien), in denen langgestreckte Sporenschläuche mit je 8 länglichen Sporen liegen (s. Abb. 302/2). Die Fruchtkörper werden vor dem Schneiden mit Chromsäure oder Nawaschins Gemisch (Fix. 7 oder 15) fixiert und mit Hämalaun (Färb. 6) gefärbt. Besonders in ländlichen Schulen sollten diese Untersuchungen unbedingt durchgeführt werden.

### *Ständerpilze (Basidiomycetes)*

Für Querschnitte durch die Lamellen eines Hutpilzes ist Frisch- oder Alkoholmaterial von Täublingsarten (*Russula*) oder Champignonarten (*Agaricus*) gut geeignet. Parallel zu den Lamellen wird ein Stück mit 4 bis 5 Lamellen aus dem Hut herausgeschnitten und aus freier Hand senkrecht zu den Lamellen in Querschnitte zerlegt (s. Abb. 303/1). Frische Schnitte werden in Wasser untersucht. Zur Herstellung von Dauerpräparaten wird das Material mit Chromsäure oder Nawaschins Gemisch (Fix. 7 oder 15) behandelt. Handschnitte werden mit Hämalaun, Kernschwarz, Eisenhämatoxylin oder Hämalaun-Chrysoidin (Färb. 6, 16, 20 oder 23) gefärbt.



Abb. 303/1 Hutpilz; Querschnitt durch die Lamellen mit Basidien und Basidiosporen (40 : 1/85 : 1)

Trockene Sporen der Rost- und Brandpilze (*Uredinales*, *Ustilaginales*) schließt man nach Methode 1 (s. S. 139) ein. Sporen von Brandpilzen kann man in Nährlösung zum Keimen bringen. Die Nährlösung wird am einfachsten aus einem Körnerauszug der Pflanze hergestellt, auf welcher der Brand auftritt. Man kocht zum Beispiel eine Handvoll Gerstenkörner in 1 l Wasser auf. 7 g Gelatine werden in 100 cm<sup>3</sup> Aqua destillata aufgequollen und warm gelöst. Gerstenauszug und Gelatinelösung werden im Verhältnis 1 : 1 gemischt. Dann breitet man dünne Gelatinetropfen auf einem Objektträger aus, sät Brandsporen darauf und läßt sie keimen (feuchte Kammer). Das Präparat wird frisch ohne Deckglas kontrolliert. Ausgekeimte Sporen werden mit Chromsäure oder Opalblau (Fix. 7 oder Färb. 15) behandelt, eventuell mit Kernschwarz angefärbt (Färb. 16). Ein vereinfachtes Einschlußverfahren ist auf Seite 301 beschrieben.

Bei der Mykorrhiza (Pilzwurzel) unterscheidet man zwischen ektotropher und endotropher Form.

Ektotrophe Mykorrhiza kann an Eichen oder Kiefern untersucht werden. Das äußere Kennzeichen ist ein dichter Mantel aus Pilzfäden, der die Wurzeln umgibt und feine Hyphen zwischen die Zellwände der Wurzelrinde und in die Interzellularen treibt. Frisch ausgegrabene Wurzeln werden vorsichtig in Wasser abgewaschen. Zwischen Holundermark werden dünne Querschnitte hergestellt, die frisch bei schiefer Beleuchtung untersucht werden. Silbernitratlösung durchsaugen, die Hyphen färben sich bräunlich, das Holz gelb. Dauerpräparate werden nach Methode 13 (s. S. 179) hergestellt. Andere Dauerpräparate können mit Chromsäure, Alkohol-Formalin oder Nawaschins Gemisch (Fix. 7, 9, 15) fixiert und mit Hämalaun-Safranin oder mit Hämalaun-Chrysoidin (Färb. 22, 23) gefärbt werden (Kontrast!). Man verarbeitet nur dünnste Schnitte weiter, da an dicken Schnitten nicht festzustellen ist, ob die Pilzfäden zwischen oder in den Zellen liegen.

Endotrophe Mykorrhiza (knäuelig in den Zellen liegende Pilzfäden) sind am besten an Wurzelschnitten von Orchideen zu sehen. (Alle heimischen Orchideen stehen unter Naturschutz!) Ericaceen, Ahornarten und Wacholder zeigen ebenfalls typische endotrophe Mykorrhiza.

Übergänge zwischen ektotropher und endotropher Mykorrhiza kommen wahrscheinlich am häufigsten vor (ektendotrophe Mykorrhiza). Diese Form kommt an Wurzeln von Birken und Espen vor. Bei der Behandlung der Symbiosen sollte kein Lehrer versäumen, diese hochinteressanten und forstwirtschaftlich wichtigen Formen in guten Präparaten zu demonstrieren.

## Moospflanzen (Bryophyta)

### *Lebermoose (Hepaticae)*

Für mikroskopische Arbeiten wird meist das Brunnenlebermoos (*Marchantia polymorpha*) benutzt. Das Brunnenlebermoos überzieht mit seinen gelappten Thalli Brunnenröte, Bachufer, Grabenränder und überrieselte oder feuchte Felsen. *M. polymorpha* ist diözisch; vorwiegend im Juni und Juli erscheinen die männlichen und weiblichen Fortpflanzungsorgane. Lebermoose können in flachen, mit einer Milchglasscheibe bedeckten Schalen auf sandiger Erde gut gezüchtet werden. Im Gießwasser muß von Zeit zu Zeit etwas Rinderkot aufgeschwemmt werden.

Zum Studium des Thallus werden von frischem Material Flachschnitte des Thallusrückens hergestellt und in Wasser untersucht. Man sieht einen engen Verband polygonal gestalteter, chlorophyllhaltiger Zellen. Die Öffnungen der dicht unter der Oberfläche gelegenen Luftkammer sind mit je 4 halbmondförmigen Zellen umstellt. In einigen Zellen fallen stark lichtbrechende Ölkörper auf. Zum Vergleich sollten auch Flachschnitte von der Thallusunterseite betrachtet werden.

Mehrere frische Thalluslappen werden übereinandergelegt, nach Methode 11 (s. S. 170) Querschnitte hergestellt und in Wasser untersucht. Besonders zu achten ist auf Luftkammern, unter der Oberfläche gelegene Assimilationszellsäden, Wasserspeicherzellen mit Verdickungsbändern im Innern des Thallus und Speichergewebe mit Ölkörpern.

Fortpflanzung und Entwicklung des Brunnenlebermooses lassen sich relativ leicht studieren. Der ungeschlechtlichen Vermehrung dienen Brutkörper, die in schüsselförmigen Brutbechern auf der Oberfläche des Thallus liegen. Abgetrennte Brutbecher werden mit schwächster Vergrößerung im Auflicht beobachtet. Unterhalb des gezähnten oberen Randes liegen im Innern die kleinen grünen Brutkörper, die gerade noch mit bloßem Auge zu erkennen sind. Die ovalen Brutkörper werden zerzupft und im Wassertropfen frisch untersucht. An der einen Seite sieht man die eingebuchteten Ablösungsstellen, wo der Brutkörper am Grunde des Bechers festsaß, in den Randzellen Ölkörper, in der Mitte chlorophyllfreie Zellen (Rhizoidenzellen). An beiden gegenüberliegenden Einbuchtungen liegen die Vegetationspunkte.

Der Antheridienstand ist eine gestielte, im Durchmesser bis 1 cm große Scheibe. Die Antheridien öffnen sich nach oben. Zur Untersuchung der zweiwimperigen Spermatozoiden wird eine noch sehr kurzgestielte Scheibe mit einem Wassertropfen benetzt. Die Spermatozoiden treten aus und färben den Tropfen milchig. (Frischer Deckglasausstrich, starke Vergrößerung!) Zur Herstellung eines Dauerpräparats wird ein dünner Ausstrich über die geöffnete Formalinflasche gelegt, die Dämpfe wirken fixierend. Der Ausstrich wird anschließend an der Luft getrocknet, nach Methode 8 (s. S. 157) weiterbehandelt und mit Karbolfuchsin oder Eisenhämatoxylin (Färb. 14, 20) gefärbt.

Zum Studium des Baues der Antheridien werden dünne Rasiermesserschnitte zwischen Sonnenblumenmark hergestellt; die Schnittebene muß median durch schon gestielte Scheiben verlaufen. Die Schnitte werden in Wasser untersucht. Die Antheridien liegen in ovalen Höhlen, die durch einen engen Kanal nach oben geöffnet sind. Gut ausgebildete Antheridien befinden sich am Rand der Scheibe, im zentralen Teil sind die Spermatozoiden oft schon ausgeschwärmt. Im Antheridium sind die Spermatozoidmutterzellen in Quer- und Längsreihen angeordnet. Im übrigen hat der Antheridienstand thallösen Charakter; es kommen ebenfalls Atemöffnungen und -höhlen sowie Rhizoiden vor. Flachschnitte durch den Antheridienstand zeigen die Antheridien von oben und lassen ihre Verbindung durch lockere Gewebe erkennen.

Die Archegonienstände sind gut an ihren 9 langen Schirmstrahlen zu erkennen, zwischen denen 8 eiförmige, nach unten gerichtete Hüllen liegen. Aus diesen Hüllen ragen in radialen Längsreihen die verschieden weit entwickelten Sporenkapseln heraus (alte außen, junge innen). Aus gerade geöffneten Sporenkapseln hängen die langgestreckten Schleuderzellen (Elateren) heraus. Sie werden abgezupft und in Wasser untersucht. Durch den Archegonienstand werden möglichst dünne Längsschnitte angefertigt (s. Abb. 306/1).

An einem einzigen gelungenen Schnitt sind häufig sämtliche Entwicklungsstadien von der Eizelle bis zum jungen Sporogon zu finden. Um das Öffnen eines Archegoniums zu demonstrieren, fertigt man Längsschnitte durch einen Archegonienträger an, der

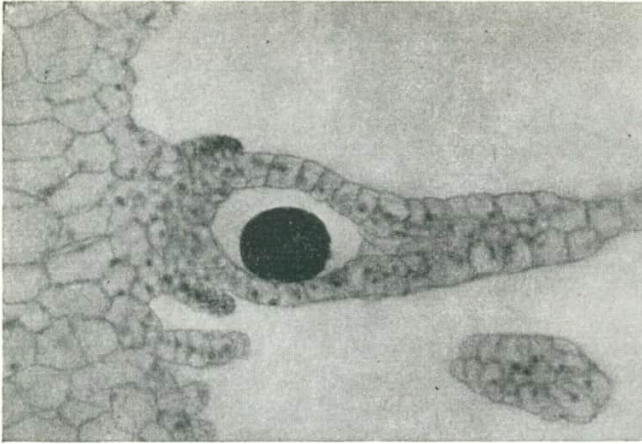


Abb. 306/1 Brunnenlebermoos (*Marchantia polymorpha*); Längsschnitt durch ein Archegonium (80 : 1/240 : 1)

kaum gestielt ist, legt die Schnitte trocken unter ein Deckglas und bringt ein reifes, unverletztes Archegonium (große Eizelle!) in die Mitte des Gesichtsfeldes. Bei ständiger Beobachtung wird Wasser durchgesaugt. Das Archegonium öffnet sich sehr schnell, das Ei rundet sich ab. Dann wird spermatozoidenhaltiges Wasser zugesetzt und beobachtet, wie die Spermatozoiden in den Halskanal des Archegoniums eindringen.

Dauerpräparate von Lebermoosen werden entweder nach der Culactolgelatine-Methode (s. S. 278f.) hergestellt oder es wird zum Einschluß in normale Gelatine oder in Balsam nach Methode 11 (s. S. 170) mit Formalin, Chromsäure oder Nawaschinschem Gemisch (Fix. 2, 7 oder 15) fixiert und mit Hämalan, Eisenhämatoxylin, Hämalan-Safranin oder Safranin-Lichtgrün (Färb. 6, 20, 22, 25) gefärbt. Im Thallus der Lebermoose kommen Pilzfäden (z. B. *Mucor rhizophilus*) vor, die zu Fehldeutungen führen können! Zur Kontrastierung wird mit Hämalan-Chrysoidin (Färb. 23) gefärbt.

### Laubmoose (*Musci*)

Einige weitverbreitete Laubmoose sind für mikroskopische Studien gut geeignet. Das Goldene Frauenhaar oder Widertonmoos (*Polytrichum commune*) bildet in feuchten Wäldern dichte und hohe Polster. Die etwa 10 cm hohen, aufrecht stehenden Stengel tragen schmale, fein gezähnte Blättchen. Geschlechtsorgane treten vor allem im April und Mai auf. Das Drehmoos oder Wettermoos (*Funaria hygrometrica*) bewohnt Mauern, Feuerstellen, Gartenwege und Ackerränder, wird bis 3 cm groß und zeigt eiförmig-lanzettliche, ganzrandige Blätter. Geschlechtsorgane treten von Juni bis Anfang Oktober auf. Die Sporenkapsel ist langgestielt und birnenförmig. Sternmoose (*Mnium*) leben in mehreren Arten in schattigen Wäldern; sie haben niedrige Stengel mit durchscheinenden, sternförmig angeordneten Blättchen. Fortpflanzungsorgane sind im Mai und Juni ausgebildet, die großen Sporenkapseln sitzen nickend an langen Stielen. Das Weißmoos (*Leucobryum glaucum*) bildet in feuchten Wäldern sehr dichte, oft kreisrunde Polster. Die Stengel erheben sich mit vielen Ästchen bis zu 10 cm Höhe, die schmalen, spitzen Blättchen sind blaugrün, in trockenem Zustand weißlich. Die Fortpflanzungsorgane treten im Mai und Juni auf; die Sporenkapseln sind klein und stehen waagrecht

an gekrümmten Stielen. Zahlreiche Arten von Torfmoosen (*Sphagnum*) bewohnen Waldsümpfe und Moore. Sie bilden dichte, 10 cm bis 30 cm hohe Polster von aufrechten Stengeln mit Seitenästchen. Die meist eiförmigen Blätter sind blaßgrün oder rötlich bis weißlich. Fortpflanzungsorgane sind im Mai und Juni ausgebildet, die Sporenkapseln sind kurzgestielt und sitzen seitenständig in den Winkeln der obersten Ästchen.

Am besten wird für alle Untersuchungen frisches Material verwendet. Vorratsmaterial wird in 20%igem Formalin oder in Chromsäure-Eisessig (Fix. 2, 7) fixiert, ausgewaschen und nach Entwässerung in 90%igem Alkohol aufgehoben. Für Übungszwecke genügt allerdings auch aufgeweichtes Herbarmaterial.

Moosblättchen werden im Frischpräparat untersucht. (Plasmolyseversuche s. S. 280; Versuche über phototaktische Bewegungen der Chloroplasten s. S. 282.) Man wählt junge, spitzenständige Blätter. Die Blätter vieler Moose sind einschichtig oder nur am Mittelnerv mehrschichtig; mehrschichtige Blätter hat beispielsweise das Weißmoos. Zellmembranen der Blätter müssen mit starker Vergrößerung untersucht werden. In der Mitte liegt eine dunkle, feine Lamelle aus Pektin. Diese Mittellamelle ist die erste Wand, die nach der Zellteilung angelegt wurde. Durch Frischpräparate vorher gut belichteter Blättchen wird Jod-Kaliumjodid-Lösung gesaugt. Membranen und Chloroplasten färben sich bräunlich, im Zentrum der Chloroplasten erscheinen blauviolett gefärbte Körnchen von Assimilationsstärke. Blättchen der Torfmoose (s. Abb. 76/1) haben schmale, chlorophyllführende Assimilationszellen und abgestorbene Wasserspeicherzellen (Ampullenzellen) mit ring- oder spiralförmigen Verdickungsleisten. Die Wasserspeicherzellen weisen ein oder mehrere Löcher für den Eintritt und Austritt des Wassers auf. Ihre Zellmembranen sind durch Gantianaviolett gut färbbar. Bei anhaltender Trockenheit füllen sich die Ampullenzellen mit Luft und rufen dadurch das silbrige Aussehen der Pflänzchen hervor.

Die mehrschichtigen Blätter des Weißmooses weisen obere und untere Ampullenzellen und dazwischenliegende Assimilationszellen auf. Durch die Blättchen der genannten Arten werden Querschnitte hergestellt. Die Spitze eines Moospflänzchens wird zwischen Holundermark eingeklemmt und mit dem Rasiermesser geschnitten. Die Schnitte werden mit Wasser vom Messer abgespült und frisch untersucht. In ähnlicher Weise werden Stengelquerschnitte angefertigt (den zentralen Leitbündelteil aus kleinzelligen Zellen beachten!). Oft findet man dabei auch Rhizoide.

Dauerpräparate von Moosblättchen und Schnitten werden in Culactolgelatine eingeschlossen. Für andere Einschlußmittel wird nach Methode 9 oder 11 (s. S. 163, 170) mit Formalin (20%ig), Bouin, Chromsäure-Eisessig oder Nawaschins Gemisch (Fix. 2, 7, 11, 15) fixiert und mit Hämalaun, Boraxkarmin, Safranin, Kernschwarz oder Gantianaviolett (Färb. 6, 8, 10, 16, 17) gefärbt. Reine Membranpräparate werden nach Methode 5 (s. S. 153) hergestellt.

Die Fortpflanzung der Laubmoose kann am Goldenen Frauenhaar oder am Drehmoos studiert werden. Beide Arten sind zweihäusig. Die Stellung der obersten Blättchen beachten! Sie umgeben die Gametangien ähnlich der Blütenhülle der Spermatophyten und schließen sich knospenartig über den Archegonien zusammen. Bei männlichen Trieben sind die obersten Blättchen zurückgebogen und geben die Antheridien frei. Geeignet ist frisches oder in Alkohol fixiertes Material. Zwischen Sonnenblumenmark (weich!) fertigt man dünne Längsschnitte durch einen Archegonienstand an und mustert in Wasser bei etwa 200facher Vergrößerung durch. Die kurzgestielten, flaschenförmigen Archegonien stehen frei am Ende des Stengels. Bauch- und Halsteil sind deutlich zu unterscheiden. Im Bauchteil liegt als erstes Glied einer in den Halsteil ragenden Zell-



kette die durch ihre Größe auffallende Eizelle. Die anderen Zellen dieser Kette sind die Bauchkanalzelle und die Halskanalzellen, die jedoch im reifen, geöffneten Archegonium völlig verschleimt sind. In gleicher Weise werden Schnitte der Antheridienstände untersucht. Neben den keulenförmigen, kurzgestielten Antheridien befinden sich viele mehrzellige Saffthaare (Paraphysen, sie treten auch in Archegonienständen auf!). Die in den Antheridien von Spermatozoid-Mutterzellen gebildeten Spermatozoiden haben einen spiraligen Körper und am Ende zwei lange Geißeln. Unverletzte, reife Antheridien entleeren bei der Untersuchung in Wasser oft nach einiger Zeit die Spermatozoiden, die je zwei Schwärmer entlassen. Dauerpräparate werden nach Methode 11, besser noch nach Methode 12 (s. S. 175) mit Chromsäure-Eisessig oder Nawaschins Gemisch (Fix. 7, 15) fixiert, mit Kernschwarz oder Eisenhämatoxylin (Färb. 16, 20) gefärbt und in Balsam eingeschlossen.

Moossporen werden nach Methode 1 (s. S. 139) eingeschlossen. Quer- und Längsschnitte durch die Sporenkapseln werden nach Methode 11 oder 12 (s. S. 170, 175) hergestellt. Im unteren Teil der Kapselwand liegen echte Spaltöffnungen!

Zur Gewinnung von Moosvorkeimen (Protonema) werden Sporen in den Frühjahrsmonaten auf gesiebte Gartenerde in kleine Blumentöpfe gesät. Sie werden mit Mattglascheiben abgedeckt und im Gewächshaus oder an einem anderen feuchtwarmen Ort gehalten. Auf diese Weise steht das zur Untersuchung benötigte Material in jedem gewünschten Entwicklungsstadium in ausreichender Menge zur Verfügung.

## Farnpflanzen (Pteridophyta)

### *Schachtelhalme (Equisetinae)*

Zur Untersuchung wird der an Wegrändern, auf Äckern und Beeten als Unkraut vorkommende Acker-Schachtelhalm (*Equisetum arvense*) verwendet. Die fertilen Triebe erscheinen im Frühjahr (März, April). Sie besitzen schildförmige Sporophylle, die zu

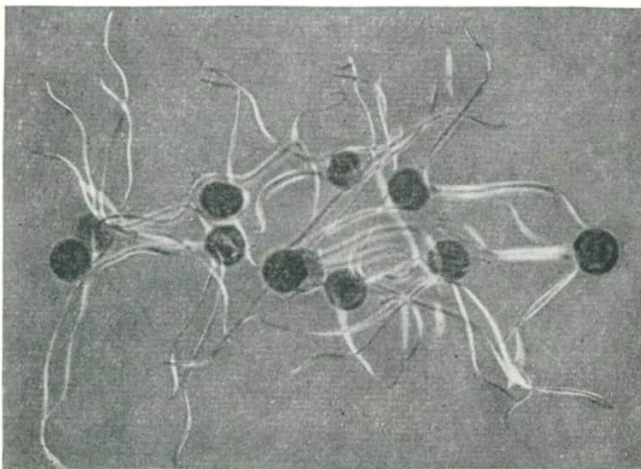


Abb. 308/1 Acker-Schachtelhalm (*Equisetum arvense*); Sporen mit Hapteren im polarisierten Licht (50 : 1/150 : 1)

ährenartigen Ständen vereinigt sind. Jedes Sporophyll trägt an der Unterseite viele Sporangien. Die stark gegliederten sterilen Triebe erscheinen viel später; sie sind stark mit Kieselsäure durchsetzt. Zum Nachweis der Kieselsäure werden mit der Rasierklinge Quer- und Längsschnitte von Stengelstücken angefertigt, auf großen Deckgläsern mit einem Tropfen Schwefelsäure benetzt, vorsichtig erwärmt und völlig ausgeglüht. Die Rückstände werden in Wasser untersucht. Andere Schnitte werden nach Methode 3 (s. S.147) verascht und in Balsam eingeschlossen. Querschnitte von Blättchen werden ebenso behandelt.

Zum Studium der Sporophylle eignen sich halbreife Sporenröhren (Frisch- oder Alkoholmaterial). Quer- und Längsschnitte werden in Glycerinwasser untersucht. Die stark hygroskopischen Sporen mit zwei Bändern (Hapteren) aus Frühjahrstrieben werden ausgeklopft und ohne Wasserzusatz unter dem Deckglas beobachtet (s. Abb. 308/1). Die Hapteren sind im feuchten Zustand eingerollt, im trockenen Zustand gestreckt. Zur Herstellung von Dauerpräparaten wird mit Formalin oder Chromsäure (Fix. 2, 7) fixiert und nach Methode 6 (s. S. 154) eingeschlossen.

### *Farne (Filicinae)*

Zur Untersuchung wird eine der verbreiteten, nicht geschützten Arten, beispielsweise der Wurmfarn (*Dryopteris* sp.), der Adlerfarn (*Pteridium aquilinum*) oder der Gemeine Tüpfelfarn (*Polypodium vulgare*) gewählt.

Rhizome der Farne werden frisch nach Methode 11 (s. S. 170) geschnitten, mit Eau de Javelle vorbehandelt und mit Hämalun-Safranin, -Chrysoidin, -Chrysoidin-Sudan III, Safranin-Lichtgrün, Kernschwarz-Chrysoidin, Fuchsin-Methylgrün oder Auraviol (Färb. 22 bis 28) gefärbt. Schnitte durch ältere Rhizome sind schwierig herzustellen, da das Grundgewebe viele Sklerenchymfasern enthält, die beim Schneiden hinderlich sind (Rhizome dicht unter dem Vegetationspunkt oder junge Blattstiele schneiden!).

Die hier auftretenden konzentrischen Leitbündel werden an Blattstielen des Adlerfarns oder des Wurmfarns demonstriert. Soll der Zellinhalt erhalten bleiben, so fixiert man mit Formalin 1 : 10 oder mit Chromsäure-Eisessig (Fix. 2, 7).

Zur Untersuchung der Sporangien eignen sich im August gesammelte Wedel vom Wurmfarn. Die Blätter können für Übungszwecke getrocknet in Dosen oder in 90%igem Alkohol aufgehoben werden. Einzelne Sporangienhäufchen (Sori) werden bei schwächster Vergrößerung im auffallenden Licht untersucht; der Schleier (Indusium) muß vorher mit einer feinen Pinzette entfernt werden. Einzelne Sporangien werden abgeschabt und in Wasser untersucht. An den Sporangien fällt ein Ring von Zellen auf, die starke Membranverdickungen an den Innen- und Seitenwänden zeigen. Dieser Ring (Anulus) besteht, wie das ganze reife Sporangium, aus abgestorbenen Zellen (braune Färbung!). In den Anuluszellen befindet sich an Stelle des Plasmas Wasser. Bei der Verdunstung dieses Wassers öffnet sich das Sporangium an einer vorgebildeten Reißstelle (Stomiumzellen). Um diesen Vorgang sichtbar zu machen, wird Glycerin durch das Frischpräparat gesaugt und dabei beobachtet. Den Anuluszellen wird Wasser entzogen; an der unverdickten Anulusaußenseite entsteht ein tangentialer Zug, der die Sporenkapsel aufreißt. Aus diesem Grunde lassen sich einfache Glyceringelatinepräparate nur dann herstellen, wenn man keinen Wert darauf legt, noch geschlossene Sporangien vorzufinden.

Zwischen Sonnenblumenmark werden dünne Querschnitte durch Sporenhäufchen

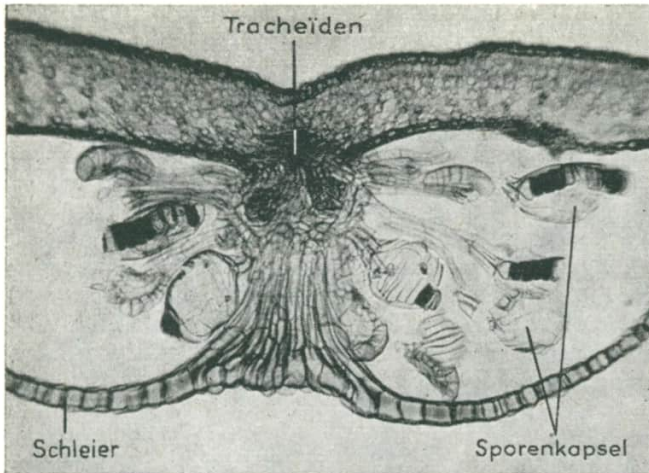


Abb. 310/1 Wurmfarn  
(*Dryopteris filix-mas*);  
Blatt mit Sorus im Quer-  
schnitt (20 : 1/50 : 1)

angefertigt (s. Abb. 310/1). Solche Schnitte zeigen gleichzeitig den Bau der Blätter. Für Handschnitte wird frisches oder Alkoholmaterial verwendet. Besser sind jedoch Mikrotomschnitte durch Material, das mit Carnoy (Fix. 10) fixiert worden ist. Die Bildung der Sporangien geht von einer Wucherung der Blattunterseite aus (Plazenta). An der Plazenta sitzen die gestielten Sporangien in verschiedenen Entwicklungsstufen. Der Schleier bildet eine an den Rändern einschichtige, schirmartig ausgespannte schützende Haut über der Plazenta und den reifenden Sporangien. An den Stielen junger Sporangien stehen kurze Haare (Paraphysen). Zur Gewinnung reifer Sporen werden Farnwedel mit braunen Sporenhäufchen eingesammelt und zwischen Papier getrocknet, das so gefaltet ist, daß die Sporen nicht herausfallen können. Die trockenen Sporen werden nach Methode 1 (s. S. 139) oder 6 (s. S. 154) eingeschlossen.

Die Prothallien (Vorkeime) sind linsen- bis pfenniggroße, meist herzförmige Gebilde. Sie sind im Freien schwer zu finden. In Gewächshäusern sitzen sie jedoch an feuchten, schattigen Wänden und auf Blumentöpfen. Zur Zucht von Prothallien eignet sich Torfmull, der vor der Verwendung abgekocht wird, um Bakterien und Schimmelpilze abzutöten. Kleine Blumentöpfe von 6 cm bis 8 cm oberem Durchmesser werden mit Torfmull gefüllt, die Oberfläche wird fest- und glattgedrückt und mit möglichst frischen Farnsporen nicht zu dicht besät. Die Töpfe werden mit Mattglasscheiben bedeckt, an einen warmen, möglichst feuchten Ort gestellt und normalem Tageslicht ausgesetzt. Auf keinen Fall darf von oben gegossen oder gesprengt werden. Man stellt die Töpfe in Schalen mit angewärmtem Wasser, dem Pflanzennährsalze in Spuren zugesetzt werden. 2 bis 3 Wochen nach der Aussaat erscheint ein smaragdgrüner Anflug; die sich entwickelnden Prothallien bilden 3 bis 4 Wochen nach der Aussaat Archegonien und Antheridien.

Mittelgroße Prothallien werden an der Spitze, die dem herzförmigen Ausschnitt gegenüberliegt, mit einer feinen Pinzette erfaßt, herausgezogen und gut abgespült. Zur Untersuchung kommen sie mit der Unterseite nach oben in Wasser. (Deckglas mit Füßchen gut abstützen!) An der Spitze befinden sich farblose Wurzelfäden, zwischen denen die Antheridien stehen. Die Archegonien stehen in der Nähe des Ausschnitts. Junge Prothallien haben nur Antheridien, alte ausschließlich Archegonien. Um An-

theridien und Archegonien in Seitenansichten zu bekommen, werden die Prothallien mit feinen Nadeln zusammengeklappt. Zur Untersuchung der Antheridien eignen sich Prothallien, die lange nicht befeuchtet worden sind. Antheridien öffnen sich dann oft während der Untersuchung im Wassertropfen und entlassen kugelige Zellen. Aus jeder dieser Zellen wird durch Auflösung der Wände ein Spermatozoid frei. Die gewundenen, vielgeißligten Spermatozoiden schwimmen lebhaft im Wasser umher. Sie werden fixiert, indem man Jod-Kaliumjodid-Lösung durchsaugt.

Die chemotaktische Anlockung lebender Spermatozoiden durch Äpfelsäure läßt sich in einem einfachen Versuch nachweisen. Über dem Bunsenbrenner zieht man feinste Kapillarröhrchen, zerbricht sie in 3 cm bis 4 cm lange Stücke und schmilzt sie dann einseitig zu. Diese Kapillaren legt man in ein Reagenzglas mit Apfelsaft und saugt mit der Wasserstrahlpumpe die Luft ab. Die Kapillaren füllen sich mit Apfelsaft. Andere Kapillaren werden mit Wasser gefüllt. Ein mittelgroßes Prothallium wird auf einen Objektträger gebracht, ein großes Deckglas aufgelegt und leicht angedrückt. Dadurch werden einige Antheridien geöffnet, so daß nach einiger Zeit viele Spermatozoiden im Präparat umherschwärmen. Von zwei gegenüberliegenden Seiten werden je eine apfelsaftgefüllte und eine wassergefüllte Kapillare unter das Deckglas geschoben. Nach einiger Zeit sammeln sich die Spermatozoiden an der Öffnung der apfelsaftgefüllten Kapillare. Die mit Wasser gefüllte Kapillare bleibt unbeachtet.

Archegonien werden in Seitenansicht ebenfalls an gefalteten Prothallien untersucht. Sie sind ähnlich gebaut wie die der Laubmoose. Zur Herstellung von Schnittpräparaten werden mehrere gewaschene Prothallien sorgfältig übereinandergeschichtet und zwischen Holundermark möglichst median geschnitten. Gute Schnitte werden in Culactolgelatine eingebettet. Schnitte von frischem Material können auch mit durchgesaugtem Pikro-Nigrosin (Färb. 5) fixiert und gefärbt werden. Anschließend saugt man Glycerin durch und läßt dann erwärmte Glyceringelatine unterziehen. Besser werden die Prothallien mit Chromsäure oder Nawaschinschem Gemisch (Fix. 7 oder 15) fixiert und nach Methode 12 (s. S. 175) in Mikrotomschnitte zerlegt. Gefärbt wird mit Hämalaun, Kernschwarz oder Eisenhämatoxylin (Färb. 6, 16, 20).

## Samenpflanzen (Spermatophyta)

### *Gewebe der Samenpflanzen*

#### Bildungsgewebe

Zur Untersuchung der Sproßvegetationskegel eignet sich besonders gut der Tannenwedel (*Hippuris vulgaris*), der in Teichen und sumpfigen Tümpeln mit kalkhaltigem Wasser lebt. Auch Hornblatt (*Ceratophyllum*), Tausendblatt (*Myriophyllum*) und Wasserpest (*Elodea*) ergeben gute Präparate.

Die Endknospen werden vorsichtig entblättert, bis die farblose Spitze frei liegt. Dann wird die Endknospe zwischen Daumen und Zeigefinger geklemmt und mit einer Rasierklinge halbiert. Jede Hälfte wird in der gleichen Weise weiter zerlegt, die Schnitte werden in Wasser gesammelt. Mit der Lupe sucht man einen medianen Schnitt heraus und betrachtet ihn im Frischpräparat. Zur Aufhellung wird Eau de Javelle durch-

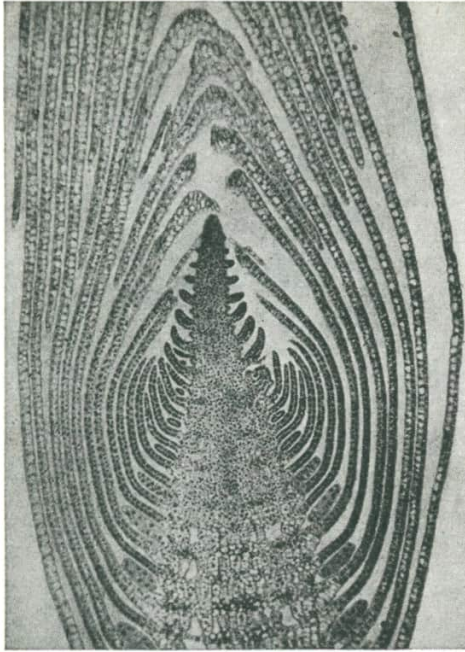


Abb. 312/1 Wasserpest (*Flodea* sp.); Längsschnitt durch den Vegetationskegel eines Sprosses (13 : 1/40 : 1)

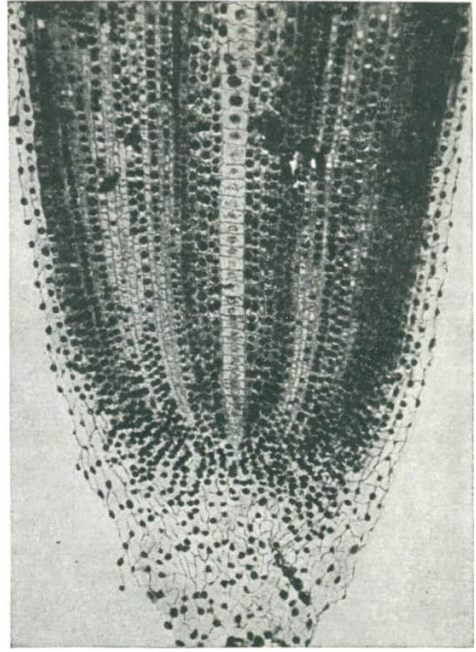


Abb. 312/2 Zwiebel (*Allium cepa*); Längsschnitt durch Wurzelmeristem und Wurzelhaube (35 : 1/90 : 1)

gesaugt und mit Wasser wieder ausgewaschen. Dann wird Safranin durchgesaugt und ausgewaschen. Abschließend wird über Glycerin in Glyceringelatine eingebettet. Besser fixiert man den Vegetationskegel mit Formalin, Chromsäure oder Nawaschins Gemisch (Fix. 2, 7 oder 15) und zerlegt ihn in Mikrotomschnitte. Den Aufbau eines Vegetationskegels zeigt Abbildung 312/1.

Winterknospen des Flieders (*Syringa*) werden in Längsschnitte zerlegt und mit Eau de Javelle oder Kalilauge aufgehellt. Geeignet sind auch Knospen der Windenden Osterluzei (*Aristolochia macrophylla*), der Weißen Waldrebe (*Clematis vitalba*) und der Winterlinde (*Tilia cordata*). (Nach Möglichkeit Mikrotomschnitte herstellen!)

Vegetationskegel der Wurzeln können an Längsschnitten durch Keimwurzeln der Gerste (*Hordeum vulgare*) oder anderer Gräser untersucht werden. Nicht so gut sind Längsschnitte durch Wurzeln der Küchenzwiebel (*Allium cepa*; s. Abb. 312/2), die nach Methode 11 oder 12 (s. S. 170, 175) mit Chromsäure oder Nawaschins Gemisch (Fix. 7,15) fixiert und mit Hämalun oder Eisenhämatoxylin (Färb. 6, 20) gefärbt werden.

## Grundgewebe

Grundgewebe sind durch die starke Ausbildung der Interzellularen gekennzeichnet. Dem Licht ausgesetzte Grundgewebe dienen als Assimilationsgewebe, tieferliegende,

farblose Gewebe der Speicherung von Kohlenhydraten. Häufig sind Kristalleinschlüsse, Gerbstoffeinlagerungen oder Milch- und Sekretgänge vorhanden. Fast alle Organ-schnitte von Sproßpflanzen enthalten parenchymatische Gewebe.

## Hautgewebe

Die Hautgewebe werden von der äußersten Schicht des Vegetationskegels gebildet. Sie bestehen aus der ein- oder mehrschichtigen Epidermis und ihren Anhangsorganen.

Abzugspräparate von der Epidermis der Küchenzwiebel, der Tulpe (s. Abb. 164/1), der Lilie (s. Abb. 86/1), der Tradeskantie, des Porrees, des Alpenveilchens oder des Buschwindröschens werden nach Methode 9 (s. S. 163) angefertigt, mit Formalin, Sublimat oder Alkohol-Formalin (Fix. 2, 5, 9) fixiert und mit Hämalaun, Safranin, Kernschwarz oder Gentianaviolett (Färb. 6, 10, 16, 17) gefärbt. Solche Präparate zeigen den lückenlosen Verband der Epidermiszellen in der Aufsicht.

Die Epidermis von der Unterseite dorsiventral gebauter Blätter enthält zahlreiche Spaltöffnungen (Stomata). Von der Unterseite der obengenannten Blätter werden Abzugspräparate hergestellt und in Wasser untersucht. Sind die Stomata geöffnet, wird Glycerin durch das Präparat gesaugt. Um die Entstehung der Spaltöffnungen zu studieren, löst man die Epidermis von jungen Blättern der Pferdebohne (*Vicia faba*) oder der Nieswurz (*Helleborus*) ab und untersucht sie frisch. Die Wasserspalten (Hydathoden) dienen der Wasserausscheidung. Zur Herstellung von Präparaten werden Blätter der Kapuzinerkresse, der Erdbeere oder des Frauenmantels in Alkohol gelegt. Nach einiger Zeit werden dort, wo die Hauptnerven der Blätter enden, an der Oberseite Flachschnitte ausgeführt. Sie werden in Eau de Javelle aufgehellt, gewaschen (Essigsäurezusatz), mit Safranin oder Gentianaviolett (Färb. 10 oder 17) gefärbt und in Balsam eingeschlossen.

Der Bau der Epidermis kann auch an Schnitten durch die Blätter der genannten Arten untersucht werden. Die Lage der Spaltöffnungen ist zu beachten. Die äußeren Schichten der Epidermiswände sind kutinisiert; Kutinnachweis vornehmen (s. S. 287 f.). Querschnitte durch junge Wurzeln zeigen eine völlig kutinfreie Epidermis.

Korkgewebe kann an Querschnitten durch mehrjährige Zweige des Holunders (*Sambucus nigra*) demonstriert werden. Die Schnitte sollen durch die schon äußerlich sichtbaren Korkwarzen (Lentizellen) laufen; Korkkambium (Folgeristem) beachten!

Pflanzenhaare oder Trichome treten in den verschiedensten Formen auf. Viele von ihnen können mit schwachen Vergrößerungen am lebenden Objekt untersucht werden (auffallendes Licht). Andernfalls werden sie mit einem Stück Epidermis mit Hilfe des Rasiermessers abgetrennt. Oft genügt es schon, den betreffenden Pflanzenteil abzukratzen oder abzuschaben. Quer- und Längsschnitte zeigen die natürliche Einordnung in den Verband der Epidermis. Die Schnitte dürfen nicht zu dünn ausfallen, da sonst die Haare zu stark beschnitten werden. Nicht zwischen Holundermark schneiden, um die Haare nicht zu quetschen! Fixiert wird in hochprozentigem Alkohol oder in Formalin (Fix. 1, 2), gefärbt mit Safranin, Gentianaviolett oder Fuchsin (Färb. 10, 17, 14). Nach Methode 11 (s. S. 170) wird in Balsam eingeschlossen. Untersuchung im polarisierten Licht ist sehr aufschlußreich. Widerstandsfähige Haare können auch einfach nach Methode 1 (s. S. 139) in Luft eingebettet werden.

Blatthaare der Königskerze (*Verbascum*), der Silber-Pappel (*Populus alba*), des Efeus (*Hedera helix*, junge Blätter), der Platane (*Platanus acerifolia*), der Korn-Rade (*Agrostemma githago*), des Wolligen Schneeballs (*Viburnum lantana*) und der Ölweide (*Elaeagnus*) einschließen (s. Abb. 183/1). Ferner werden zur Untersuchung empfohlen: Spießhaare des Kürbis oder der Gurke sowie des Gurkenkrauts (*Borago officinalis*), des Gemeinen Beinwells (*Symphytum officinale*) oder des Blauen Natterkopfs (*Echium vulgare*); Drüsenhaare an den Blütenstielen der Pelargonien, an Staubfäden von Tabak und an den Stengeln der Tomate; Gifthaare an allen Teilen der Zimmerprimel (*Primula obconica* und *P. sinensis*); Brennhaare der Brennnessel (*Urtica*; s. Abb. 314/1).

Die Brennhaare werden mit einer Rasierklinge von Stengeln oder Blattrippen abgelöst und im Wasser untersucht. Die Nesseln müssen vorsichtig behandelt werden, damit bei der Präparation die Köpfchen der Brennhaare nicht abbrechen (Protoplasmaströmung beobachten!).

Auch Samenhaare der Weiden, Pappeln, des Löwenzahns, der Weidenröschen und der Wollgräser untersuchen und Zellulosereaktionen durchführen (s. S. 287)!

Abb. 314/1 Große Brennnessel (*Urtica dioica*); Brennhaare im polarisierten Licht (die Köpfchen sind bei der Präparation abgebrochen; 15 : 1/50 : 1)

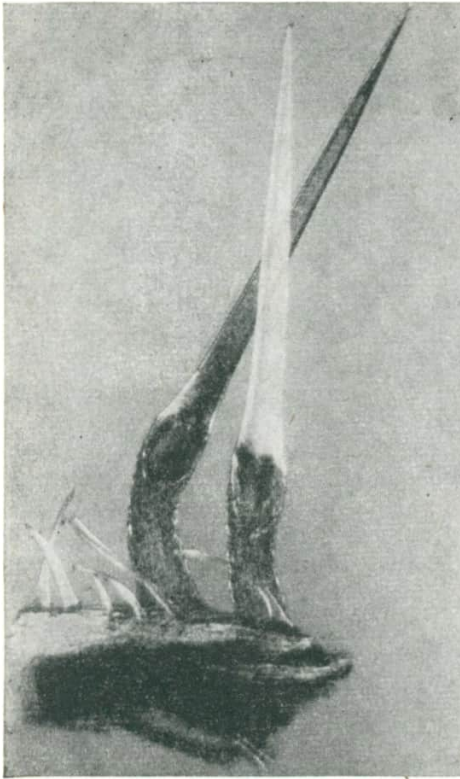
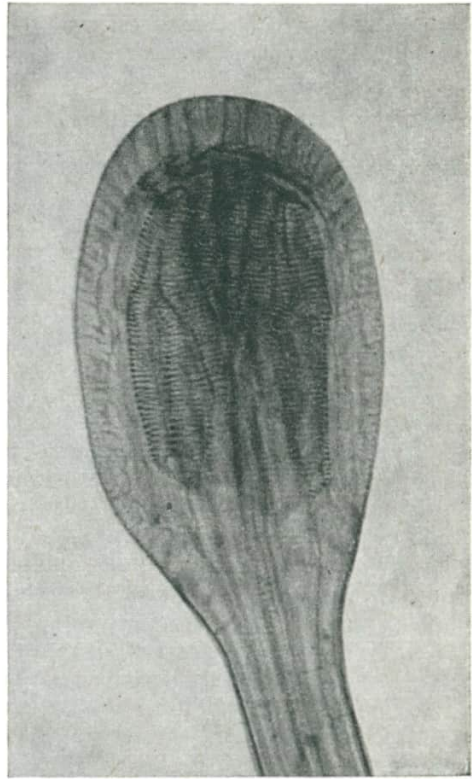


Abb. 314/2 Sonnentau (*Drosera* sp.); Tentakel (Drüsenhaar) mit Drüsenepithel (84 : 1/220 : 1)



Wurzelhaare sind schlauchartige Ausstülpungen der Epidermis. Sie bilden kurz oberhalb der Wurzelspitze einen filzigen Überzug. (Wurzelhaare des Froschbisses s. S. 280). Getreide- oder Senfkörner läßt man zwischen feuchtem Filtrierpapier keimen. Totalpräparate der Wurzeln werden nach Methode 9 (s. S. 163) mit Formalin oder Chromsäure (Fix. 2, 7) fixiert und mit Hämalan oder Gentianaviolett (Färb. 6, 17) gefärbt. Auch die Farbfixierlösung Pikro-Nigrosin (Färb. 5) ist gut geeignet.

Die Küvetten-Mikroskopie ermöglicht es, die Entwicklung der Wurzeln und der Wurzelhaare in einer annähernd natürlichen Umgebung zu beobachten. Beobachtungsküvetten mit sehr lockerer Gartenerde (Kompost) in guter Krümelstruktur füllen, vorgequollene Samen (z. B. Getreidearten, Bohnen, Erbsen, Gurken, Senf) direkt an die Vorderscheibe der Küvette legen. Die Küvette feucht halten und etwas nach vorne geneigt aufstellen. Die Wurzeln wachsen dann auf Grund ihres positiven Geotropismus direkt an der Vorderscheibe der Küvette herunter. Das Umwachsen der Bodenkrümel durch Wurzelhaare und das Eindringen der Wurzelhaare in die wasserdampfgesättigten Hohlräume zwischen den Krümeln ist gut zu beobachten. Die Entwicklungsstadien der Wurzel werden fotografisch festgehalten.

Typische Emergenzen sind die krümmungsfähigen, ein klebriges Sekret ausscheidenden Tentakeln auf den Blättern des Sonnentaus (Naturschutzbestimmungen beachten, evtl. Gewächshausmaterial verwenden!). Die einzelnen Blätter werden in Alkohol oder Formalin fixiert (Fix. 1, 2). Dauerpräparate werden nach Methode 5 (s. S. 153) mit Eau de Javelle oder nach Methode 9 (s. S. 163) mit Hämalan-, Boraxkarmin- oder Kernschwarz-Färbung (Färb. 6, 8 oder 16) hergestellt. In den drüsigen Köpfchen der Haare befinden sich Tracheiden (s. Abb. 314/2).

Auch die Stacheln der Rose und der Fuß der Brennhaare der Brennesseln sind Emergenzen. Die Stacheln werden an Querschnitten durch junge Stengel untersucht.

## Festigungsgewebe

Kollenchymgewebe kommt reichlich in Sprossen und Blattstielen junger, stark wachsender Stauden vor.

Zur Demonstration von Plattenkollenchym werden dünne Quer- und Längsschnitte durch den Blattstiel der Sterndolde (*Astrantia major*) angefertigt. Auch andere Doldengewächse (*Ammiaceae*) können untersucht werden. Die Präparate werden mit Jod-Kaliumjodid-Lösung behandelt. Das Durchsaugen von Kalilauge wirkt quellend.

Typisches Kantenkollenchym befindet sich in den 4 Kanten des Stengels der Taubnessel (*Lamium*, s. Abb. 316/1). Auch andere Lippenblütengewächse sollten untersucht werden. Junge Sprosse von Kürbisgewächsen (*Cucurbitaceae*) werden in Querschnitte zerlegt und die Randteile genau untersucht. Ferner eignen sich Querschnitte von folgenden Pflanzen: Stechender Hohlzahn (*Galeopsis tetrahit*), Springkraut (*Impatiens*), Stechpalme (*Ilex aquifolium*, Blattstiele), Efeu (*Hedera helix*), Begonien (*Begonia*), Große Brennnessel (*Urtica dioica*), Zaunrebe (*Parthenocissus*), Greiskräuter (vor allem *Senecio viscosus* und *S. vulgaris*), Gänsefuß (*Chenopodium*), Distel (*Carduus*), Kartoffel (*Solanum tuberosum*, Stengel, Blütenstiele), Kapuzinerkresse (*Tropaeolum*, Samen) und Rübe (*Beta vulgaris*, Blattstiele). Verholzung wird mit Phlorogluzin-Salzsäure nachgewiesen. Verholzte Zellen werden rotviolett gefärbt. Dauerpräparate stellt man nach Methode 11 (s. S. 170) her, fixiert sie mit Formalin, Chromsäure, Alkohol-Formalin oder Nawaschinschem Gemisch (Fix. 2, 7, 9 oder 15) und färbt mit Hämalan-Safranin,



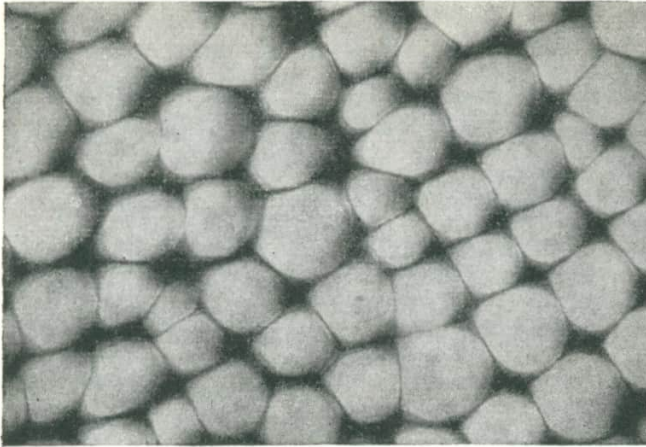


Abb. 316/1 Taubnessel (*Lamium* sp.); Kantenkollenchym aus dem Sproß (140 : 1/350 : 1)

Hämalaun-Chrysoidin-Sudan III, Safranin-Lichtgrün-, Kernschwarz-Chrysoidin, Fuchsin-Methylgrün oder Auraviol (Färb. 22 bis 28).

Zur Untersuchung von Sklerenchymzellen (Steinzellen) werden Stücke von Haselnuß- und Walnußschalen, von Dattel-, Kirsch- oder Pflaumenkernen (Steinschale!) 24 bis 48 Stunden vor der Verarbeitung in Fließpapier eingeschlagen und zum Aufweichen in ein Glycerin-Wasser-Gemisch (1 : 1) gelegt. Anschnitte mit dem Skalpell herstellen; möglichst dünne, kleine Schnitte mit dem Rasiermesser abnehmen. (Steinzellen der Birne s. S. 288, Abb. 77/1!) Vom Stengel der Wachtblume (*Hoya carnosa*) werden Querschnitte hergestellt; man sieht Steinzellen mit stark verdickten, von verzweigten Tüpfelkanälen durchbrochenen Wänden. Auch Schnitte von Birkenrinde ergeben gute Präparate.

Typische Bastzellen liegen vorwiegend in jungen Organen und in der Rinde vieler Bäume und Sträucher. Es sind schmale, bis zu 2 mm lange Gebilde, die beiderseits in feine Spitzen auslaufen. Stengelteile des Kleinen Immergrün (*Vinca minor*) werden im Schulzeschen Gemisch mazeriert (Methode 10, s. S. 167). Ferner eignen sich folgende Objekte: Rinde eines jungen Astes der Lärche (*Larix decidua*) oder des Flieders (*Syringa vulgaris*), Holz eines Ästchens der Gemeinen Kiefer (*Pinus sylvestris*) oder Rinde eines Ästchens der Winter-Linde (*Tilia cordata*). Von den angegebenen Objekten werden ebenfalls Schnitte angefertigt. Außerdem eignen sich Stengel von Nesseln (*Urtica*), Oleander (*Nerium*), Wachtblume (*Hoya*), *Zebrina pendula* (ältere Stengel), Blattstiele vom Großen Wegerich (*Plantago major*; auch Ährenspindel geeignet), Pelargonien (*Pelargonium*; Bastzellen sind in viele stärkehaltige Zellen eingebettet), Waldrebe (*Clematis*), Bittersüßer Nachtschatten (*Solanum dulcamara*), Flachs (*Linum usitatissimum*) und Gemeine Roßkastanie (*Aesculus hippocastanum*; zwei Ringe im Blattstiel). Sklerotisch sind auch Epidermiszellen der Kiefernadeln (s. Abb. 326/1).

In fast allen Schnittpräparaten treten auch Holzfasern (Libriformfasern) auf. Sie sind kürzer als die Bastzellen, völlig verholzt und kommen bei allen zweikeimblättrigen Pflanzen vor. Oft werden die Libriformfasern schichtweise vom Kambium gebildet. Durch Holz und Rinde eines älteren Astes vom Goldregen (*Laburnum anagyroides*) fertigt man dünne Querschnitte an; die Libriformfasern liegen in deutlich erkennbaren Schichten.

Bei den Koniferen dienen die Fasertracheiden der Festigung. Das Holz der Kiefer wird mazeriert oder in dünne Querschnitte und radiale Längsschnitte zerlegt. Die Tüpfel oder Tüpfelkanäle sind hier als Hoftüpfel ausgebildet. Außenverstärkungen können leicht an Pollenkörnern des Kürbis (*Cucurbita*), der Malven (*Malva*), des Bocksbartes (*Tragopogon*) u. a. nachgewiesen werden (Meth. 1, s. S. 139). Dauerpräparate von isolierten Sklereiden werden nach Methode 10 (s. S. 167), die von Schnitten nach Methode 11 (s. S. 170) hergestellt und wie andere Stütz- und Festigungsgewebe fixiert und gefärbt.

## Leitgewebe

In allen höheren Pflanzen findet Stofftransport zwischen den verschiedenen Geweben und Organen statt. Dementsprechend sind die stoffleitenden Zellen zu Leitgeweben zusammengefaßt, deren Bau und Anordnung deutlich das Prinzip der Verringerung der Transporthindernisse erkennen lassen. Das wird beispielsweise durch Auflösen oder Durchlöcherung von Querwänden und durch Vergrößerung des Durchmessers leitender Zellelemente zur Herabsetzung der Wandreibung erreicht. Wasserleitende Gewebe werden als Xyleme (Gefäßteil, Holzteil) bezeichnet. Gewebe, die gelöste organische Stoffe (Assimilationsprodukte) leiten, heißen Phloëme (Siebteil, Bastteil).

Die wichtigsten Teile des Phloëms sind die Siebröhren. Sie bilden lange Zellstränge, die aus gestreckten, lebenden Zellen bestehen. Die Querwände innerhalb einer Siebröhre sind durchlöchert, diese Stellen heißen Siebplatten (s. Abb. 319/1). Bei den Bedecktsamern liegen Geleitzellen neben den Siebröhren. Außerdem befinden sich im Phloëm noch lebende und abgestorbene Bastfasern.

Die wichtigsten Teile des Xylems sind bei Bedecktsamern die Tracheen und Tracheiden. Bei Nacktsamern kommen nur die entwicklungsgeschichtlich ursprünglicheren Tracheiden vor. Die Tracheen bestehen aus langgestreckten, abgestorbenen Zellen, die in Längsreihen angeordnet und deren Querwände aufgelöst sind. Die Tracheiden sind beiderseits zugespitzte Zellen, die ihre Zellindividualität bewahrt haben. Tracheen und

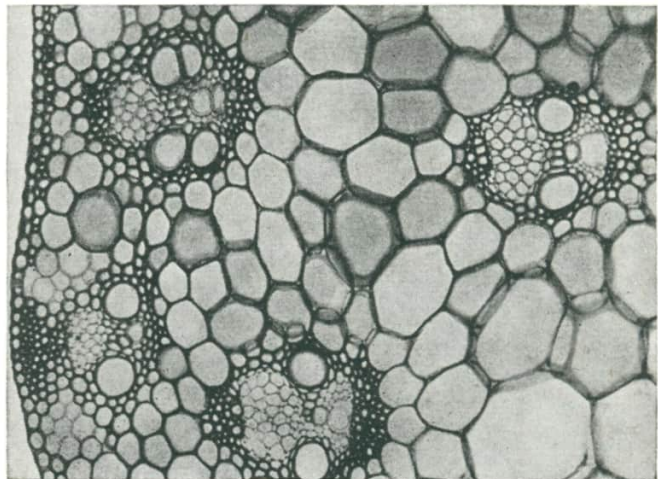


Abb. 317/1 Getreide-Mais (*Zea mays*); Sproßquerschnitt mit kollateralen, geschlossenen Leitbündeln (32 : 1/65 : 1)

Tracheiden sind mit typischen Wandverdickungen versehen (s. S. 320). Im Xylem kommen weiterhin lebende Holzparenchymzellen und tote Holzfasern vor.

Elemente der Stoffleitung kommen nur sehr selten einzeln vor. Fast immer sind sie zu größeren, räumlich zusammenliegenden Verbänden – den Leitbündeln – zusammengefaßt. Während die Leitbündel bei den Einkeimblättrigen regellos im Sproßquerschnitt angeordnet sind (s. Abb. 317/1), liegen sie bei den Zweikeimblättrigen in einer ringförmigen Zone im Sproß (s. Abb. 18/1). Außerdem wird bei den Zweikeimblättrigen das Phloëm und das Xylem durch embryonales Gewebe, das Kambium, voneinander getrennt (offenes Leitbündel). Bei den Einkeimblättrigen liegen Phloëm und Xylem direkt aneinander (geschlossenes Leitbündel).

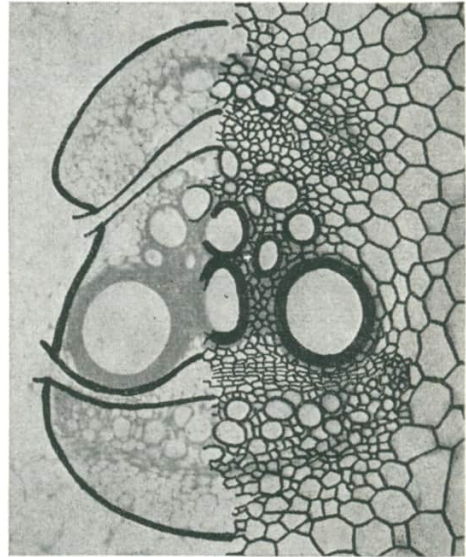
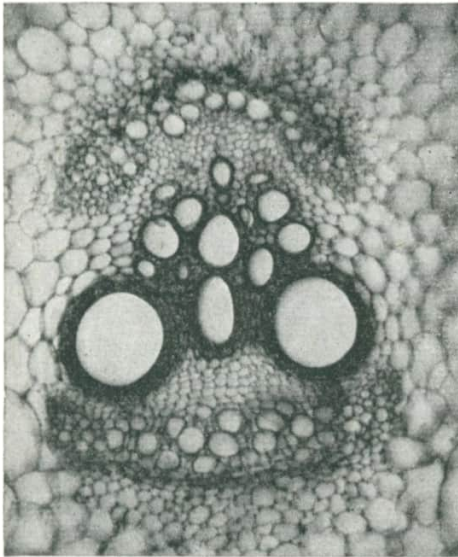
In bezug auf die Anordnung von Phloëm und Xylem werden drei wichtige Leitbündeltypen unterschieden.

Sind ein Phloëm und ein Xylem zu einem Strang vereinigt, so entsteht ein kollaterales Leitbündel. Dieser in Blättern und Sprossen am häufigsten vorkommende Typ wird am besten an dünnen Querschnitten durch Stengel vom Mais untersucht (s. Abb. 317/1). Liegt ein Xylemstrang zwischen einem äußeren und einem inneren Phloëmstrang, so liegt ein bikollaterales Leitbündel vor. Dieser Typ wird an dünnen Querschnitten durch Kürbisstengel untersucht (s. Abb. 318/1). Auch Tabak und Zaurübe sind dafür geeignete Objekte.

Bei konzentrischen Leitbündeln umschließt das Phloëm das Xylem oder umgekehrt. Den ersten Fall zeigen Querschnitte durch den Stengel des Adlerfarns (*Pteridium aquilinum*), den zweiten Querschnitte durch die Rhizome von Schwertlilien (*Iris*).

An der Außenseite des Phloëms liegen häufig Sklerenchymstränge, oft sind auch die

Abb. 318/1 Schmer-Kürbis (*Cucurbita pepo*); bikollaterales Leitbündel; links in schiefer Hellfeld-Durchlichtbeleuchtung, rechts als überzeichnete Mikrofotografie mit unterschiedlichem Schematisierungsgrad (40 : 1/110 : 1)



ganzen Leitbündel von einer sklerenchymatischen Scheide umgeben. In den Blättern sind die Leitbündel meist stark vereinfacht. Die feinsten bestehen nur noch aus Tracheiden. Die Verteilung der Gefäße in ihnen ist am besten zu erkennen, wenn Kronblätter (z. B. von Kirsche, Tradeskantie, Flachs, Weidenröschen, Königskerze, Vergißmeinnicht) oder dünne Laubblätter nach Methode 5 (s. S. 153) behandelt werden.

Die Gefäßbündel treten sehr schön in Quer- und Längsschnitten von Teilen der nachfolgend genannten Pflanzen hervor: Roßkastanie (Blattstiele), Mais und Hafer (Stengel), Osterluzei (einjährige Stengel); Stechpalme (Blattstiele), Adlerfarn (Wedelstiele), Weinrebe (Stengel), Lebensbaum, Kürbis, Zaurübe und Efeu (Stengel), Schildblume (Blattstiele), Gartentulpe (Blütenstiele), Speiserübe (Blattstiele) und Schwertlilie (Rhizom).

Die Schnitte werden mit Formalin, Chromsäure, Alkohol-Formalin oder Nawaschins Gemisch (Fix. 2, 7, 9 oder 15) fixiert, mit Hämalau-Safranin, Hämalau-Chrysoidin, Hämalau-Chrysoidin-Sudan III, Safranin-Lichtgrün, Kernschwarz-Chrysoidin, Fuchsin-Methylgrün (Färb. 22 bis 27) gefärbt und nach Methode 11 (s. S. 170) angefertigt.

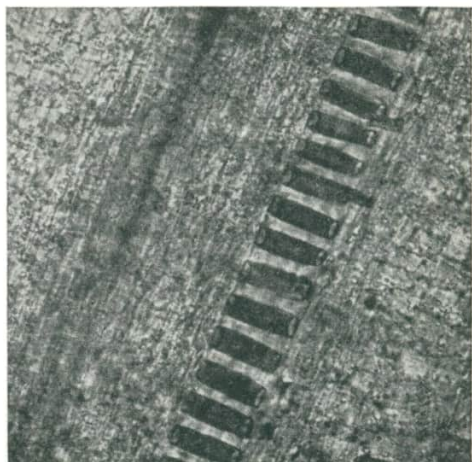
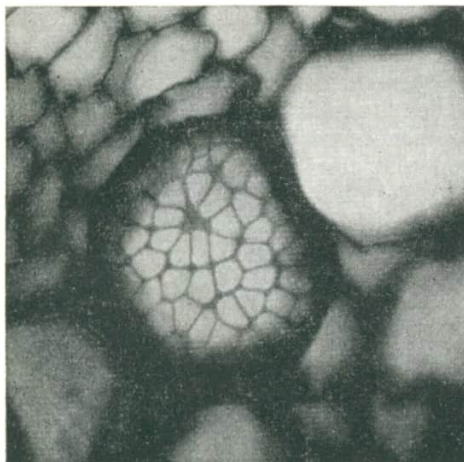
Siebröhren und Siebplatten sind besonders gut an Quer- und Längsschnitten durch den Stengel des Kürbis (s. Abb. 319/1) und der Zaurübe zu demonstrieren.

Die Gefäße können leicht isoliert werden. Spiralgefäße liegen vor allem in jungen Trieben und schnellwachsenden Pflanzenteilen oder in solchen, die nur eine kurze Wachstumszeit haben und bald absterben (z. B. Kronblätter).

Junge Triebe des Holunders werden vorsichtig und langsam auseinandergezogen. Die dabei sichtbar werdenden feinen Fäden werden abgetrennt und im Wassertropfen untersucht (Safranin durchsaugen!). Bananenstengel werden vorsichtig zerbrochen, die Fäden mit der Pinzette gefaßt, herausgezogen und in Wasser untersucht. Man sieht Gefäße mit vielfachen Spiralen (Safranin durchsaugen!). Blätter der im Zimmer zu kultivierenden Keulenlilie (*Cordyline*) werden zerbrochen. Die Gefäße sind als Fäden sichtbar. Ein Stück eines grünen Zwiebelblattes wird gekocht und mit dem Deckglas

Abb. 319/1 Schmer-Kürbis (*Cucurbita pepo*); Siebplatte im Stengelquerschnitt (140 : 1/340 : 1)

Abb. 319/2 Garten-Springkraut (*Impatiens balsamina*); Ringgefäß im Längsschnitt (160 : 1/300 : 1)



auf dem Objektträger breitgequetscht. Dann wird wäßrige Safranin- oder Eosinlösung durchgesaugt. Die Gefäße färben sich sehr stark. Gurkenstücke läßt man 8 bis 14 Tage in Wasser faulen (Mazeration). Aus dem verfaulten Material werden mit der Präpariernadel die langen und noch relativ festen Bestandteile isoliert, abgespült und in Wasser untersucht. Safranin! Ebenso können aus gekochten Rhabarberstengeln die Spiralgefäße isoliert werden. Sehr schöne Spiralgefäße mit vielfachen Windungen und deutlichen Zellabschnürungen erhält man, wenn Wurzelspitzen gekochter Mohrrüben unter dem Deckglas zerdrückt werden.

Die natürliche Anordnung der Spiralgefäße zeigen vor allem Längsschnitte sehr gut. Nach Methode 11 (s. S. 170) werden Stengel des Kürbis, Blattstiele des Rizinus, Wurzeln des Gemeinen Pastinak (*Pastinaca sativa*), Blattstiele der Osterluzei, der Roßkastanie, der Zaunrebe, des Kohlrabi (s. Farbtafel 1, Abb. b) und anderer Pflanzen präpariert.

Ringgefäße findet man ebenfalls vorwiegend in jungen Pflanzenteilen. Nach Methode 11 (s. S. 170) werden Schnitte von Stengeln der Osterluzei, des Kürbis, vor allem aber vom Feigenkaktus (*Opuntia*), vom Garten-Springkraut (s. Abb. 319/2), vom Fleißigen Lieschen, von jungen Blüenschäften der Tradeskantie und von Stengeln des Gemeinen Schilfs (sehr geeignet!) angefertigt. (Auch Schilfstengel, Rhabarberstangen und Gurkenteile mazerieren!)

Tüpfelgefäße werden aus Dahlienknollen isoliert, die 8 bis 14 Tage in Wasser mazeriert worden sind. Man kann sie auch an Längsschnitten durch alte Stengelteile der Osterluzei und des Garten-Springkrauts, durch Zweige der Birke, des Ahorns, der Pappel und der Silber-Weide (*Salix alba*), durch Sprosse des Feigenkaktus und durch Knollen der Dahlie demonstrieren.

Netzgefäße findet man vorwiegend in älteren Stengelteilen. Sie sind bei Osterluzei, beim Garten-Springkraut, im Blattstiel der Roßkastanie und in den Luftwurzeln vom Lochblatt (*Monstera*) gut zu sehen.

Treppen- oder Leitergefäße kommen ebenfalls vorwiegend in älteren Pflanzenteilen vor. Wurzelstücke des Adlerfarns werden mazeriert. (Gefäße isolieren!) Längsschnitte durch Wurzeln und Wedelstiele des Adlerfarns, des Königsfarns (*Osmunda regalis*; Naturschutz beachten; Material von kultivierten Pflanzen verwenden!) und anderer Farne sowie durch Stengel des Maiglöckchens (*Convallaria majalis*; Naturschutz!) und Sprosse des Feigenkaktus sind ebenfalls gute Untersuchungsobjekte.

Milchgefäße und Milchröhren entstehen durch Vereinigung hintereinander- und nebeneinanderstehender Zellen. Oft sind die Zellwände stark verdickt. Blattstiele des Gummibaums (*Ficus elastica*) zerlegt man in Längsschnitte und saugt Safranin durch das Frischpräparat. Auch Dauerpräparate werden kurz mit Safranin gefärbt. Wurzellängsschnitte der Garten-Schwarzwurzel (*Scorzonera hispanica*), Stengel- und Wurzelschnitte der Wolfsmilch-Arten (*Euphorbia* sp.) und des Großen Schöllkrauts (*Chelidonium majus*) können untersucht werden. Für die Schnitte wird am besten alkoholgehärtetes Material verwendet. Blumenblätter der Glockenblumen (*Campanula*) oder der Ackerwinde (*Convolvulus arvensis*) werden mit Safranin (Färb. 10) gefärbt und nach Methode 5 (s. S. 153) eingeschlossen.

Harzgänge werden in Schnitten durch Nadeln, Fruchtschuppen und junges Holz der Kiefer (*Pinus*) untersucht.

Ölgänge sind gut ausgebildet in den Organen der Doldengewächse (*Ammiaceae*). Sie enthalten ätherische Öle.

Die mit Luft gefüllten Interzellularen können – besonders bei Sumpfpflanzen – zu großen, die ganze Pflanze durchziehenden Hohlräumen ausgebildet sein. Stengel-

querschnitte des Tannenwedels, der Laichkräuter (s. Abb. 61/2) und der Binsen (s. Abb. 289/1) sollten auf Interzellularen untersucht werden.

Im Sproß der meisten Zweikeimblättrigen, in allen verholzten Sprossen und in den Wurzeln bilden die Leitgewebe einen Zentralzylinder. Die Außenschicht besteht aus Phloëm, die Innenschicht aus Xylem. Querschnitte durch verholzte Sprosse werden untersucht. Bei Wurzeln sind Phloëm und Xylem so in Einzelgruppen angeordnet, daß Phloëm- und Xylemgruppen nebeneinander stehen (s. Abb. 28/1, 321/1). Diese für Wurzeln typische Zentralzylinderform wird oft fälschlich als „radiäres Leitbündel“ bezeichnet.

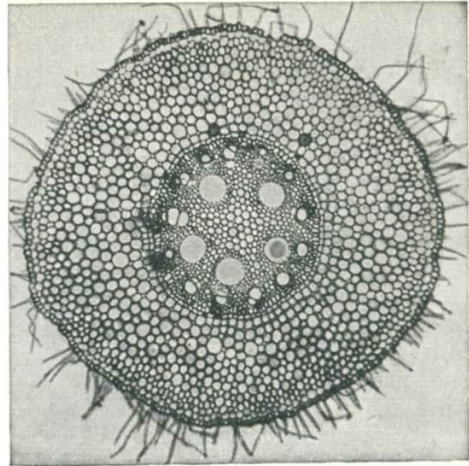


Abb. 321/1 Wurzel im Querschnitt mit Wurzelhaaren (7 : 1/20 : 1)

### Organe der Samenpflanzen

Nur wer die Hauptgewebeformen kennt, wird Organschnitte richtig beurteilen können. Zunächst werden die wichtigsten Präparationen der Vegetationsorgane und dann die der Fortpflanzungsorgane geschildert. Es wird nur die Anordnung der schon besprochenen Gewebe genannt.

### Wurzel

Zum ersten Studium der Anatomie der Wurzel werden ausgewachsene Wurzeln der Küchenzwiebel in dünne Querschnitte zerlegt und frisch in Wassertropfen untersucht. (Phlorogluzin-Salzsäure und Schwefelsäure durchsaugen!) Dauerpräparate werden nach Methode 11 oder 12 (s. S. 170, 175) hergestellt, mit Formalin, Chromsäure, Bouin oder Nawaschins Gemisch (Fix. 2, 7, 11, 15) fixiert und mit Hämalaun-Safranin, Hämalaun-Chrysoidin-Sudan III, Safranin-Lichtgrün, Kernschwarz-Chrysoidin, Fuchsin-Methylgrün oder Auraviol (Färb. 22 bis 28) gefärbt.

Die Leitgewebe sind in den Wurzeln in einem Leitzyylinder angeordnet. An Schnitten durch die Zone der Wurzelhaare ist die einschichtige Epidermis (Rhizodermis), die äußerste Schicht der Wurzel, zu erkennen. In älteren Zonen der Wurzel ist die Rhizodermis abgestoßen und durch eine subepidermal gelegene Schicht verkorkter Zellen (Exodermis) ersetzt. Wurzelschnitte von Xerophyten und Epiphyten zeigen in der Exodermis Durchlaßzellen (an Luftwurzeln der Wachtblume *Hoya carnosa* zu untersuchen!). Nach innen schließt sich ein mehr oder weniger starkes Rindenparenchym an, das mit einer einschichtigen Endodermis gegen den Zentralzylinder abgegrenzt ist. Die radialen Wände der Endodermiszellen erscheinen im Frischpräparat durch die eingelagerte Korksubstanz dunkel. Stark verdickte Endodermis mit typischen Durchlaßzellen, die die Verbindung zwischen Rinde und Gefäßteilen herstellen, werden auf

Querschnitten durch Wurzeln der Schwertlilie (*Iris*) beobachtet. Auch Maiglöckchen (*Convallaria majalis*) sind geeignet. Das Rindenparenchym wird bei älteren Wurzeln oft stark reduziert. Die äußerste Schicht des Leitzylinders ist der meist einschichtige Perizykel (fehlt den Pteridophyten) oder das Perikambium, innen liegen Xylem und Phloëm in alternierenden Strängen.

Zwischen den Gefäß- und Siebteilen verläuft bei den Nacktsamern und Zweikeimblättrigen ein wellenförmig angeordneter Kambiumring, bei den Einkeimblättrigen ist er – wie im Sproß – nicht vorhanden. Je nach der Zahl der Xylemstränge, deren jüngste Glieder – im Gegensatz zum Sproß – nach innen liegen, unterscheidet man diarche, triarche, . . . polyarche Wurzeln.

Lupinen (*Lupinus*), Speiserüben (*Beta vulgaris*), Doldengewächse (*Ammiaceae*) haben diarche Wurzeln. Die Gartenerbsen (*Pisum sativum*) haben triarche Wurzeln. Tetrarche Wurzeln findet man bei Gartenbohnen (*Phaseolus vulgaris*), Pferdebohnen (*Vicia faba*) und Kürbis. Die Wurzeln der Küchenzwiebel sind hexarch (sechsstrahliger Stern). Garten-Hyazinthen (*Hyacinthus orientalis*), Schwertlilien (*Iris*), der Echte Kalmus (*Acorus calamus*) u. a. haben polyarche Wurzeln. Die Gefäßreihen des Zentralzylinders treffen entweder in der Mitte des Zylinders zusammen oder es liegt noch ein besonderes Mark zwischen ihnen.

In der Wurzel liegen die jüngsten Gefäßteile innen, im Sproß jedoch außen. Beim Übergang von der Wurzel in den Sproß müssen sich also die Xylemstränge um 180 Grad drehen. Dieser Übergang des radiären Bündels der Wurzeln zu dem Ring kollateraler Bündel im Sproß befindet sich im Wurzelhals und im Hypokotyl. Zur Demonstration eignet sich die tetrarche Wurzel des Kürbis. Durch Wurzelhals und Hypokotyl junger Kürbispflänzchen werden Reihenschnitte angefertigt, typische Schnitte unter der Präparierlupe ausgesucht und eine nummerierte Reihe von Dauerpräparaten hergestellt. (Zeichnen, vergleichen!)

Zum Studium der Bildung von Seitenwurzeln werden Längsschnitte durch Wurzeln des Rohrkolbens (*Typha*) oder der obengenannten Pflanzen hergestellt.

Das sekundäre Dickenwachstum kann an dünnen Schnitten durch Wurzeln der Kiefer, der Eibe, der Linde oder des Drachenbaumes (*Dracaena*) studiert werden.

Einige Familien der Zweikeimblättrigen haben als Besonderheit die Ausbildung mehrerer Kambiumringe in der Wurzel (rübenartige Wurzeln). Wurzeln der Gänsefußgewächse (*Chenopodiaceae*) und der Amarantgewächse (*Amaranthaceae*), speziell *Beta*-Arten und Fuchsschwanz (*Amaranthus*), können untersucht werden. Durch die aufeinanderfolgende Tätigkeit von mehreren Kambiumringen entstehen konzentrische Xylem-Phloëm-Ringe, zwischen denen viel Speicherparenchym liegt.

Speicherwurzeln werden an Rüben oder an den Wurzelknollen des Scharbockskrauts (*Ficaria verna*) untersucht.

Stützwurzeln des Maises werden dicht über dem Erdboden abgetrennt und in Querschnitte zerlegt. Dabei ist die peripher gelegene Bastzone zu beachten (Biegeunfestigkeit). Luftwurzeln werden an *Monstera* studiert. Von den Haftwurzeln des Efeus werden Längs- und Querschnitte angefertigt. An den Wurzeln der Klappertopffarten (*Rhinanthus*) befinden sich warzenförmige Saugorgane (Haustorien). Die Wurzeln werden gut abgespült und in Längsschnitte zerlegt. Man untersucht adventive Haustorien der Seidengewächse (*Cuscutaceae*) (s. S. 171, Abb. 173/1). Die zapfenförmigen Senker der Mistel (*Viscum*) werden aus dem Holz des Wirtes isoliert und in Quer- und Längsschnitte zerlegt.

(Wurzelmeristem und Kalyptra s. S. 312, Wurzelhaare s. S. 315.)

## Sproßachse

Der Vegetationskegel des Sprosses (s. Abb. 312/1) wurde auf Seite 311 f. behandelt.

Die krautige Sproßachse der Einkeimblättrigen besitzt eine einschichtige Oberhaut (Epidermis) aus Hautgewebe. Darunter liegt die Rinde, die aus chlorophyllreichen Grundgewebszellen besteht und assimiliert. In der Rinde liegt oft ein Ring aus mehrschichtigem Festigungsgewebe (Sklerenchym). Dieser Ring ist meist in Längsstreifen aufgeteilt und wechselt mit grünen Streifen in der Rinde ab. Anschließend an die Rinde liegen unregelmäßig über die ganze Fläche des Querschnitts verteilt die Leitbündel aus Leitgewebe, deren Siebteile (Transport der fertigen Assimilate) stets nach außen und deren Gefäßteile (Transport der Nährlösung) nach innen gerichtet sind. In den Gefäßteilen liegen deutlich erkennbar die weitlumigen Gefäße (Tracheen). Ein Kambiumring aus Bildungsgewebe fehlt den einkeimblättrigen Pflanzen, sie haben daher auch kein sekundäres Dickenwachstum.

Zur Untersuchung des Sprosses der Einkeimblättrigen werden Querschnitte durch die Stengel von *Iris*-Arten, Mais, Tulpen, Lilien oder Hyazinthen hergestellt; Dauerpräparate werden nach Methode 11 oder 12 (s. S. 170, 175) angefertigt. Geeignet sind die Fixierungen 1, 2, 7 oder 15 und die Färbungen 22 bis 28. Man kann auch mit Eau de Javelle aufhellen und braucht dann nicht zu fixieren. Vorratsmaterial wird in 90%igem Alkohol aufgehoben.

Die krautige Sproßachse der Zweikeimblättrigen hat eine fast stets einschichtige Epidermis. Es folgt nach innen die grüne, chlorophyllhaltige Rinde. In der Rinde liegen dicht unter der Epidermis oft ein geschlossener Ring oder mehrere Stränge von lebendem Festigungsgewebe (Kollenchym). Die Rinde umgibt den innen gelegenen Zentralzylinder. Er besteht im wesentlichen aus dem geschlossenen Kambiumring, der die Leitbündel so durchzieht, daß die Siebteile außen und die Gefäßteile innen liegen. Nach innen folgt das aus Grundgewebe bestehende Mark, das bei vielen Arten zerreißt und Markhöhlen ausbildet. Das Grundgewebe, das zwischen den Leitbündeln liegt und Mark und Rinde miteinander verbindet, bildet die sogenannten primären Markstrahlen. Sie sorgen für den Stofftransport vom Siebteil zum Mark.

Zur Untersuchung der krautigen Sproßachse von Dikotylen werden Querschnitte durch Sprosse von Lippenblütlern (z. B. Taubnessel-Arten) und durch knapp einjährige Sprosse der Osterluzei (*Aristolochia*) hergestellt. Zum weiteren Studium eignen sich Schnitte durch sehr junge Triebe des Holunders (*Sambucus*), der Waldrebe und der Magnolie, durch Stengel des Kürbis (*Cucurbita*), des Seifenkrautes (*Saponaria*) und des Ampfer-Knöterichs (*Polygonum lapathifolium*).

Dauerpräparate werden nach Methode 11 (s. S. 170) hergestellt, mit Alkohol, Formalin, Chromsäure, Alkohol-Formalin oder Nawaschins Gemisch (Fix. 1, 2, 7, 9, 15) fixiert und mit Hämalan-Safranin, Hämalan-Chrysoidin, Hämalan-Chrysoidin-Sudan III, Safranin-Lichtgrün, Kernschwarz-Chrysoidin, Fuchsin-Methylgrün oder Auraviol (Färb. 22 bis 28) gefärbt.

Die verholzte Sproßachse der Zweikeimblättrigen und Nacktsamer entsteht durch die periodische Tätigkeit eines den Sproß durchziehenden Zylinders meristematischer Zellen, des Kambiumrings. Er bildet in der Vegetationsperiode ständig neue Zellen und vergrößert so die Sieb- und Gefäßteile. Dabei bleibt für die primären Markstrahlen immer weniger Raum, so daß sie mit zunehmendem Dickenwachstum immer enger zusammengedrängt werden. Außerdem werden die Leitbündel durch neugebildete sogenannte sekundäre Markstrahlen weiterhin unterteilt. Die Gesamtheit der Gefäß-



teile ergibt schließlich das Holz, die Gesamtheit der Siebteile den Bast. Im Holzteil fallen die weitlumigen Gefäße auf. Sie liegen entweder verstreut (zerstreutporiges Holz) oder ringförmig (ringporiges Holz).

Zur Demonstration des sekundären Dickenwachstums werden Ende Juni und Mitte Oktober verschiedenaltige Zweige der Osterluzei (*Aristolochia*) fixiert. Querschnitte durch knapp einjährige und durch zwei- oder mehrjährige Stengel werden miteinander verglichen. Geeignet sind ferner Holunder, Waldrebe und Magnolie. Dickenwachstum, bei dem mehrere konzentrische Kambien auftreten (s. S. 322), kann an Querschnitten durch den Stengel der Mittagsblume (*Mesembrianthemum*) demonstriert werden. Auch Chenopodiaceen und Amaranthaceen sind dafür geeignet. Querschnitte durch ältere Zweige der Linde, der Maulbeere (*Morus alba*) oder der Roßkastanie (*Aesculus hippocastanum*) zeigen deutliche Jahresringe, die durch die Wachstumsperiodizität des Kambiums entstehen. Die Herstellung von Dauerpräparaten erfolgt wie bei der krautigen Sproßachse beschrieben.

Die verholzte Sproßachse der Nacktsamer wird an Querschnitten durch Zweige der Eibe, der Kiefer oder Fichte untersucht.

Nadelhölzer sind entwicklungsgeschichtlich älter als Laubhölzer und dementsprechend im allgemeinen einfacher gebaut. Sie entwickeln beispielsweise keine weitlumigen Wasserleitgefäße im sekundären Holz. Die Wasserleitung erfolgt durch englumige Tracheiden, die den Hauptteil des Holzes bilden. Die Jahresringe treten bei Nadelhölzern deutlicher hervor als bei Laubhölzern (s. Abb. 324/1). Den einfachsten Bau zeigt das Eibenholz. Die Sprosse werden vor dem Schneiden in Alkohol-Glycerin aufgeweicht. (Jod-Kaliumjodid-Lösung und Chlorzinkjodlösung durch die Schnitte saugen; Phlorogluzin-Salzsäure-Reaktion durchführen.) Die Herstellung von Dauerpräparaten erfolgt so, wie es bei der krautigen Sproßachse beschrieben wurde.

Sproßmetamorphosen treten in verschiedenartigster Ausbildung auf. Rhizome vom Salomonssiegel (*Polygonatum*) oder von Schwertlilien werden untersucht. Die Rhizome haben Speicherfunktion. Ihre Rinde ist stark verbreitert.

Phyllokladien (Kladodien) des Gemüse-Spargels (*Asparagus officinalis*) werden zwischen Sonnenblumenmark in dünne Querschnitte zerlegt, in Wasser untersucht oder in Balsam eingebettet. Sie haben eine einschichtige Epidermis, deren äußere Wände

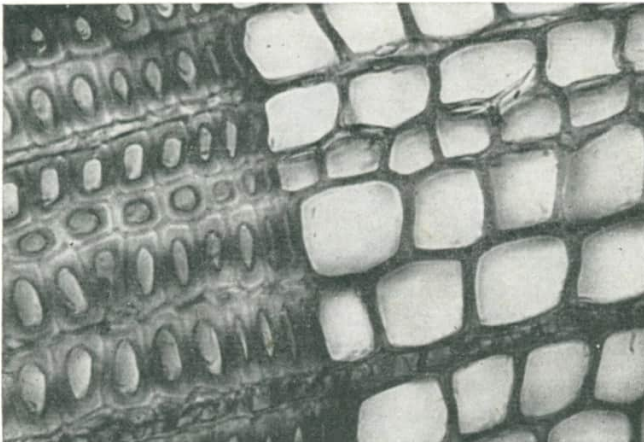


Abb. 324/1 Kiefer (*Pinus* sp.); Jahresring im Holz, links Herbstholz, rechts Frühjahrholz (84 : 1/210 : 1)

stark verdickt sind. Im Verband der Epidermis liegen Spaltöffnungen. Darunter befindet sich Assimilationsparenchym aus zwei Zellschichten mit vielen Chloroplasten. Das Leitgewebe besteht aus einem zentral gelegenen Gefäßbündel mit engen Tracheiden. Um das Gefäßbündel liegt eine Parenchymscheide (s. Abb. 325/1).

Sproßknollen werden an Kartoffel, Alpenveilchen, Herbstzeitlose oder Krokus untersucht.

Von Ausläufern der Erdbeere oder des Gänsefingerkrauts (*Potentilla anserina*) werden Querschnitte betrachtet. Sukkulente Sprosse (Assimilations sprosse) des Feigenkaktus (*Opuntia*) werden in Querschnitte zerlegt.

Sproßranken können an Schnitten durch die blattlosen Seitensprosse der Weinrebe und die mit Haftscheiben versehenen Ranken der Zaunrebe untersucht werden.

Den Aufbau der Sproßdornen kann man an Stengelquerschnitten des Schwarzdorns (*Prunus spinosa*) oder des Zweigriffligen Weißdorns (*Crataegus oxyacantha*) untersuchen. Sie werden mit den epidermal gebildeten Stacheln (s. S. 315) verglichen.

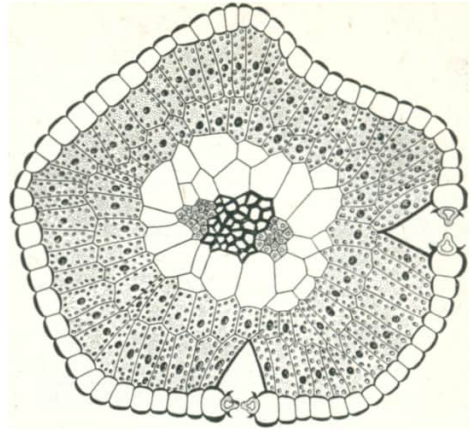


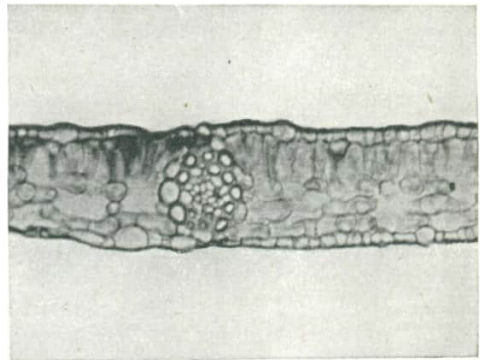
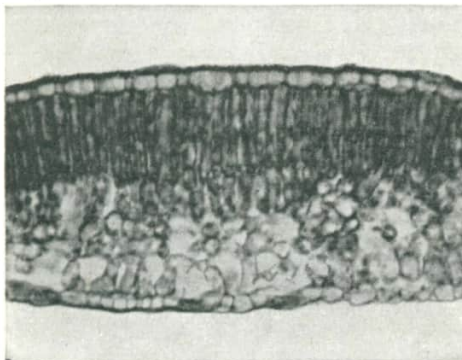
Abb. 325/1 Gemüse-Spargel (*Asparagus officinalis*); Phyllokladium im Querschnitt

## Blatt

Epidermis und Spaltöffnungen wurden auf Seite 313 behandelt.

Atemhöhlen, die in das Grundgewebe (Mesophyll) hineinziehen, werden an Querschnitten untersucht. Die Verstärkung der Epidermis durch eine Kutikula ist beispielsweise an Querschnitten durch Blätter von Clivie (*Clivia*), Stechpalme (*Ilex*) und Mistel (*Viscum*) gut zu sehen. Papillöse Epidermis findet man bei Kapuzinerkresse, Begonien-

Abb. 325/2 Buche (*Fagus sp.*); links Lichtblatt mit stark ausgebildetem Palisadengewebe, rechts Schattenblatt mit schwach ausgebildetem Palisadengewebe (84 : 1/180 : 1)



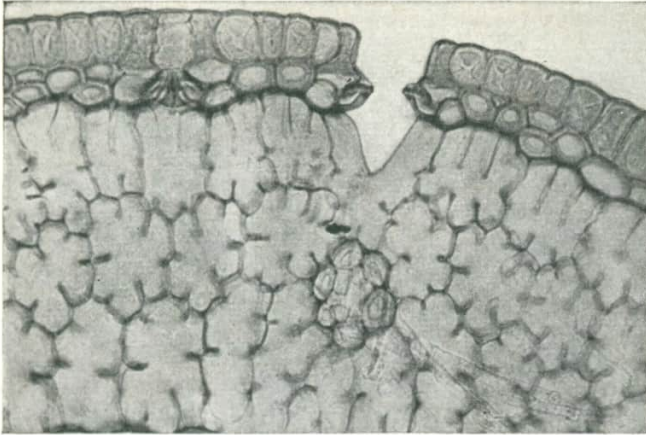
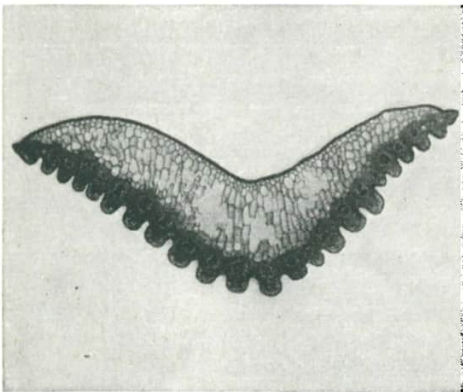


Abb. 326/1 Kiefer (*Pinus* sp.); Nadelquerschnitt mit Spaltöffnungen (eine geöffnet) und Sklerenchymzellen in der Epidermis (32: 1/340: 1)

Arten und Pfirsichblättriger Glockenblume (*Campanula persicifolia*). Die Präparate werden nach Methode 9 (s. S. 163) angefertigt.

Das interzellularenreiche Mesophyll wird von den Leitbündeln durchzogen, es bleibt in Blütenblättern undifferenziert, ist aber in Laubblättern meist in Palisaden- und Schwammparenchym gegliedert. Sammelzellen (s. Abb. 116/1) verbinden oft die Palisadenzellen mit dem Schwammparenchym (Blatt von *Ficus* ist dafür typisch).

Zum Studium der Palisadenschicht werden Blätter der nachfolgend genannten Pflanzen nach Methode 11 (s. S. 170) in feine Querschnitte zerlegt: Gummibaum, Flieder, Wein-Raute (*Ruta graveolens*; sehr geeignet, da die Schnitte etwas dicker sein können), Liguster, Huflattich, Leinkraut (*Linaria*), Stechpalme (*Ilex*), Korn-Rade (*Agrostemma githago*) und Rot-Buche. Bei der Buche sollten Licht- und Schattenblätter geschnitten werden. Der anatomische Bau der unterschiedlich ausgebildeten Blätter ist zu vergleichen (s. Abb. 325/2). Die gleichen Objekte enthalten deutliches Schwammgewebe. Gutes Schwammparenchym ohne deutliches Palisadengewebe kommt bei Schwertlilie, Drachenbaum (*Dracaena*), Grünstilbe (*Chlorophytum*) und bei Süßgräsern vor. Bei Wein-Raute, Liguster, Flieder und Huflattich sind sehr große Interzellularen im Schwammparenchym vorhanden.



Den Gefäßbündelverlauf kann man in den Blättern der Springkräuter, der Fuchsie, in Blütenblättern des Sauerklees (*Oxalis*) oder in Blättern des Maiglöckchens (monokotyl!) studieren. Präparate werden nach Methode 5 (s. S. 153) hergestellt. (Pflanzenhaare s. S. 313!)

Nadelförmige Blätter können an Querschnitten von frischen oder in Alkohol konservierten Nadeln der Fichte, der Kiefer, der Eibe oder der Tanne untersucht werden (s. Abb. 326/1).

Abb. 326/2 *Aloe* sp.; Speicherblatt im Querschnitt (7: 1/15: 1)

Abb. 327/1 Blattansatzstelle im Längsschnitt mit Trennschicht zum Blattstiel (12 : 1/46 : 1)



Rollblätter kommen bei Süßgräsern (z. B. Federgras, Borstengras, Strandhafer), bei Glockenheide (*Erica tetralix*), Sumpf-Porst (*Ledum palustre*), Krähenbeere (*Empetrum nigrum*) und anderen Arten vor. Die Blätter werden in Querschnitte zerlegt. Speicherblätter werden an *Aloe* (s. Abb. 316/2) untersucht.

Die Blätter von Schwimmpflanzen zeigen in Anpassung an ihre Umwelt starke Veränderungen. Blätter der Weißen Teichrose (*Nymphaea alba*) werden in Zenkers Gemisch oder Chromessigsäure (Fix. 13, 7) fixiert, in Alkohol gehärtet und zwischen Holundermark geschnitten. Blätter der Laichkräuter (*Potamogeton*) werden ebenso behandelt. Die Spreite besteht aus drei Zellschichten, die nur im Gefäßbündel verdickt werden. Alle drei Schichten assimilieren (Luftgänge!). Beim Blatt der Wasserpest (*Elodea*) treten in der Spreite nur zwei Zellschichten auf, die beide Chlorophyll führen. Zum Studium der herbstlichen Laubfärbung werden Blätter der Zaunrebe in Querschnitte zerlegt (roter Zellsaft). Zerstörte Chloroplasten sind in Schnitten durch Blätter von Ginkgo oder von Ahorn-Arten zu sehen. In Eichenblättern sieht man die Bräunung der Zellwände und des Zellinhaltes; Jod-Kaliumjodid-Lösung durchsaugen (keine Stärke!). Zum Studium des Blattfalls werden Längsschnitte durch Blattstielenden und Anheftungsstellen von Blättern der Roßkastanie und Zaunrebe angefertigt. Die Trennungsschicht besteht aus Korkgewebe (s. Abb. 327/1).

## Fortpflanzungsorgane

**Blütenorgane der Gymnospermen.** Ende Mai werden stäubende männliche Blüten der Kiefer (*Pinus sylvestris*) in Alkohol, besser in Chromsäure-Eisessig (Fix. 1, 7) fixiert und einige Zeit zum Ausziehen des Harzes in Alkohol konserviert. Dann wird das Material zum Erweichen 24 bis 48 Stunden vor dem Schneiden in Glycerin-Alkohol 1 : 1 gelegt. Ein einzelnes Staubblatt wird losgelöst und mit schwacher Vergrößerung betrachtet: die Pollensäcke sind deutlich zu sehen. Man versucht, Längsschnitte durch

die männliche Blüte herzustellen (Methode 12, s. S. 175). Reife Pollenkörner werden im Frischpräparat untersucht. Das Pollenkorn besteht aus dem zentralen, plasmahaltigen Körper und zwei seitlichen, luftgefüllten Blasen.

Erstjährige weibliche Zäpfchen, die aufrecht an Enden junger Triebe stehen, werden zur gleichen Zeit wie männliche Blüten fixiert. – Die Deckschuppe wird abgelöst, die Samenschuppen werden isoliert und bei schwacher Vergrößerung betrachtet. Am Grunde der Samenschuppen liegen 2 Samenanlagen, deren Mikropyle nach seitlich unten zeigt. Mikrotomschnitte oder feinste Handschnitte zeigen den Embryosack mit den Archegonien und Eikernen.

**Blütenorgane der Angiospermen.** (Schnitte durch Staubbeutel s. S. 290!) Reife Pollenkörner der verschiedensten Pflanzen werden trocken unter Deckgläsern untersucht. Frische Pollen der Alpenrose (*Rhododendron*), der Nachtkerze (*Oenothera*) und des Schmalblättrigen Weidenröschens (*Epilobium angustifolium*) sind durch Fäden (Viszinfäden) verbunden.

Zum Nachweis des generativen und vegetativen Kerns wird Methylgrün-Essigsäure zu reifen Pollen gegeben. Der generative Kern wird stark, der vegetative schwächer gefärbt. Dauerpräparate der Pollen werden nach Methode 1 (s. S. 139) angefertigt. Um Pollenkörner für Dauerpräparate zu färben, läßt man sie in dünner Schicht auf dem Objektträger trocknen. Zum Entfernen von öligen Bestandteilen wird ein Tropfen Xylol, dann ein Tropfen absoluter Alkohol zugesetzt und wieder abgesaugt. Dann wird Fuchsinlösung 1:1000 aufgetropft und das Präparat durchgefärbt. Mit stark verdünnter Essigsäure wird differenziert und mit destilliertem Wasser ausgewaschen. Man läßt Glycerin auftropfen, saugt es wieder ab und bettet in Glyceringelatine ein.

Die meisten Pollen treiben in 3- bis 30%iger Zuckerlösung, der 1,5%ige Gelatine- lösung zugesetzt wird, die Pollenschläuche aus (Plasmaströmung und Kerne beobachten!). Pollen der Birke (*Betula*), des Virginischen Tabaks (*Nicotiana tabacum*) und des Pfennig-Gilbweiderichs (*Lysimachia nummularia*) keimen schon in reinem Wasser. Untersuchungen möglichst im hängenden Tropfen vornehmen oder abgestützte Objektträger in feuchte Kammer legen. In Zucker-Gelatine-Lösung keimen folgende Pollen:

1% bis 3% Zucker: Tulpe, Lauch (*Allium*),

3% bis 5% Zucker: Narzisse, Pfingstrose (*Paeonia*), Tradeskantie (aus frisch geöffneten Blüte),

15% Zucker: Platterbsenarten (*Lathyrus*), sehr geeignet,

6% bis 20% Zucker: Maiglöckchen,

30% Zucker: Kleines Springkraut (*Impatiens parviflora*).

Der Zusatz von einer Spur Zitronensäure zu den Flüssigkeiten fördert oft die Keimung. Die Pollen werden nach dem Aussäen 1 bis 2 Stunden unter Lichtabschluß in der feuchten Kammer gehalten. Gelungene Präparate werden mit Methylgrün-Essigsäure gefärbt (Färb. 4). Zur Herstellung von Dauerpräparaten läßt man die Ausstrichschicht mit Pollenschläuchen etwas antrocknen und fixiert mit Chromsäure-Eisessig (Fix. 7). Der Gelatinegehalt der Keimlösung fördert das Anhaften der Pollen. Man färbt mit Auraviol, Kernschwarz-Chrysoidin oder Eisenhämatoxylin (Färb. 28, 26 oder 20) und bettet nach Methode 8 (s. S. 157) ein.

Um das Eindringen der Pollenschläuche in den Fruchtknoten zu zeigen, legt man halbierte Griffel des Roggens oder des Lerchensporns (*Corydalis*) für einige Zeit in Diäthyläther, wäscht danach in Eau de Javelle aus, säuert das Waschwasser mit Essigsäure an und färbt mit wasserlöslichem Anilinblau. Die Pollenschläuche treten

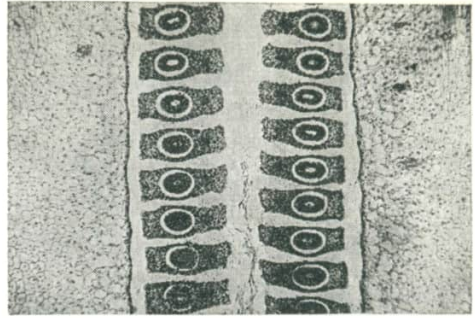
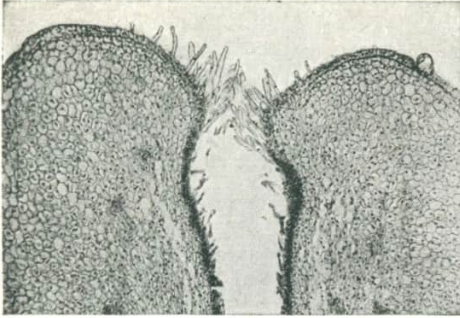
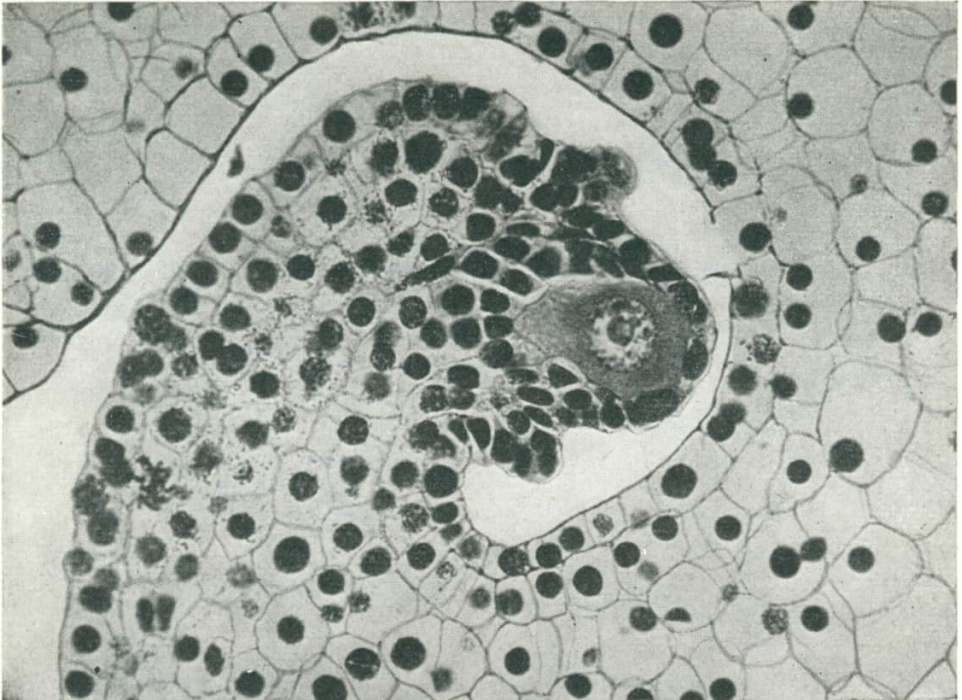


Abb. 329/1 Garten-Tulpe (*Tulipa gesneriana*); links Narbe, rechts Samenanlagen im Längsschnitt (13 : 1/20 : 1)

deutlich hervor. Zum gleichen Zweck werden Narben von Hyazinthen oder Lilien an einem sonnigen Morgen künstlich bestäubt. Abends werden die Griffel mit den Narben herausgenommen und für einige Tage in Chromessigsäure (Fix. 7) gelegt. Man wässert kurz und gründlich, stellt Paraffinschnitte her und färbt sie mit Eisenhämatoxylin oder Auraviol (Färb. 20, 28; s. Abb. 329/1).

Abb. 329/2 Lilie (*Lilium* sp.); Samenanlage mit Embryosack und Embryosackmutterzelle (64 : 1/285 : 1)



Kleine Stücke vom Fruchtknoten der Narzisse werden im Mai in Chromessigsäure oder Nawaschins Gemisch (Fix. 7, 15) fixiert. Für Übungsmaterial genügt auch Alkohol (Fix. 1). Ähren des Wegerichs (*Plantago*), Fruchtknoten der Nachtnelken (*Melandrium*) und Fruchtknoten der Tulpe werden ebenso behandelt (evtl. vorher künstlich bestäuben!). Längs- und Querschnitte durch die Fruchtknoten werden nach Methode 11, oder besser 12 (s. S. 170, 175), mit Hämalan, Eisenhämatoxylin, Kernschwarz-Chrysoidin oder Auraviol (Färb. 6, 20, 26 oder 28) gefärbt (s. Abb. 329/2).

Die Embryonalanlage läßt sich gut an befruchteten Samenanlagen des Hirtenäschels (*Capsella bursa-pastoris*) beobachten. Verschiedene Reifungszustände bringt man auf dem Objektträger in stark verdünnte Kalilauge, legt ein Deckglas auf und preßt durch Druck mit der Präpariernadel die Embryonen heraus.

Früchte der Angiospermen werden an eben gereiften Weizenkörnern untersucht. Nach der Fixierung wird in Alkohol-Glyzerin aufgeweicht. Längsschnitte genau median führen! Frische Schnitte werden in Karbolsäure untersucht und zuerst in Kalilauge aufgehellert und dann in Glyzerin untersucht. Der Keim liegt schräg am Grunde des Mehlkörpers. Die Herstellung von Dauerpräparaten nach Methode 12 lohnt sehr.

## Literaturverzeichnis

- APPELT, H.: Einführung in die mikroskopischen Untersuchungsmethoden. Leipzig 1959  
Autorenkollektiv: Methodik Biologieunterricht. Berlin 1979  
Autorenkollektiv: Biologie, Lehrbuch für Klasse 6. Berlin 1978 (1. Auflage)  
Autorenkollektiv: Biologie, Lehrbuch für Klasse 7. Berlin 1979 (1. Auflage)  
Autorenkollektiv: Biologie, Lehrbuch für Klasse 8. Berlin 1982 (1. Auflage)  
Autorenkollektiv: Biologie, Lehrbuch für Klasse 9. Berlin 1980 (1. Auflage)  
Autorenkollektiv: Biologie, Lehrbuch für Klasse 11. Berlin 1980 (1. Auflage)  
Autorenkollektiv: Biologie, Unterrichtshilfen Klasse 6. Berlin 1978 (1. Auflage)  
Autorenkollektiv: Biologie, Unterrichtshilfen Klasse 7. Berlin 1979 (1. Auflage)  
Autorenkollektiv: Biologie in Übersichten. Berlin 1982  
Autorenkollektiv: Wissensspeicher Biologie. Berlin 1982  
BAER, H.-W., und O. GRÖNKE: Arbeitstechniken Biologie. Berlin 1981  
BERGNER/GELBKE/MEHLISS: Einführung in die praktische Mikrofotografie. Halle 1961  
BEYER, H. (Hrsg.): Handbuch der Mikroskopie. Berlin 1979  
BONNKE/LEHR/SCHEPLITZ: Wir mikroskopieren. Berlin 1973  
BRAUNE, W., LEMAN, A., und TAUBERT, H.: Pflanzenanatomisches Praktikum. Jena 1971  
HAUSER, F.: Die Arbeiten mit auffallendem Licht in der Mikroskopie. Leipzig 1960  
HEINRICH, G.: Fibel der histologischen Technik. Jena 1962  
HUNDT, R., und KRESSE, E.: Biologie, Arbeitsgemeinschaften, Exkursionen. Berlin 1969  
JANKE, A., und DICKSCHEIT, R.: Handbuch der mikroskopischen Laboratoriumstechnik.  
Dresden 1967  
KAESTNER, A.: Lehrbuch der Speziellen Zoologie. Band 1. Jena 1969  
KÜHN, A.: Grundriß der allgemeinen Zoologie. Stuttgart 1961  
KÜKENTHAL/MATTHES: Leitfaden für das zoologische Praktikum. Jena 1967  
LIBBERT, E.: Kompendium der allgemeinen Biologie. Jena 1977  
ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik, München 1968  
RÖSSING, R.: Fotografie mit der Praktica. Leipzig 1975  
ROTHMALER, W.: Exkursionsflora. Berlin  
Band 1 – Niedere Pflanzen, 1983  
Band 2 – Gefäßpflanzen, 1982  
SCHRÖDER, H.: Mikrobiologisches Praktikum. Berlin 1980  
SCHUBERT, A.: Praxis der Süßwasserbiologie. Berlin 1972  
SCHULZE, E., und GRAUPNER, H.: Anleitung zum mikroskopisch-technischen Arbeiten in  
Biologie und Medizin. Leipzig 1960  
STRASBURGER, E.: Lehrbuch der Botanik für Hochschulen. Jena 1971  
STRESEMANN, E.: Exkursionsfauna, Berlin  
Band 1 – Wirbellose 1, 1976  
Band 2/1 – Wirbellose 2/1, 1981  
Band 2/2 – Wirbellose 2/2, 1976  
Band 3 – Wirbeltiere, 1980  
VOSS, H.: Grundriß der normalen Histologie und mikroskopischen Anatomie. Leipzig 1961  
WEBER, H.: Grundriß der Insektenkunde. Jena 1969



# Register

- Abbildungsmaßstab 92  
Abblenden des Kondensors 42  
Abklatschpräparat 186  
Absetzmethode 166  
Abzugspräparat 163  
Achromate 171f., 21  
Achromatin 185  
Äthylalkohol 109, 114  
Äthylurethan 107  
Afterskorpione 236  
Akridinorange NO 129  
Aleuronkörner 285  
Algen 293 ff.  
Algenpilze 299f.  
Alizarinviridin 123  
Alkohol 118  
Alkohol-Chloroform-Eisessig 112  
Alkohol-Formalin 112  
Alkohol-Formalin-Eisessig 112, 115  
Ameisenjungfer 250f.  
Amöben 194  
-, beschaltete 194  
-, nackte 194  
-, parasitische 194  
Amplitudenobjekte 62  
*Anguina tritici* 234  
Anlockung, chemotaktische 311  
Ansteckleuchte 30 ff.  
Antheridien 305, 310  
Anthozyan 287  
Anulus 309  
Apertur, numerische 20  
Aperturblende 42  
Apochromate 171f., 22  
Archegonien 305 ff.  
*Argulus* 234  
*Ascaris lumbricoides* 231  
Asphaltlack 140  
Assimilationsfarbstoffe 283  
*Astacus astacus* 236  
Atemhöhle 325  
Aufgüsse 198f.  
Aufgüßbakterien 157  
Aufhellmittel 107  
Aufhellungspräparate 153f.  
Auflösungsvermögen 11, 19, 27, 48  
Aufnahmeprotokoll 86  
Aufsetzkamera 91  
Aufweichpräparate 168  
Auge 273f.  
Augenlinse 22  
Auramin 129  
Aureviol 126  
*Aurelia aurita* 225  
Ausläufer 325  
Ausschlammmethode 144  
Ausstrich, feuchter 157, 161 ff.  
Ausstrich, trockener 157 ff.  
Ausstrichpräparate 157 ff.  
Ausstrichtechniken 158  
Azan-novum-Färbung 126  
Bachflohkrebs 235  
Badeschwamm 222  
Bakterien 157, 290 ff.  
-, pathogene 291, 293  
-, stickstoffbindende 293  
Bakterienformen 291  
Bandwürmer 168, 227 ff.  
Bast 324  
Bastfasern 168  
Bastzellen 289, 316  
Bauchkanalzellen 308  
Bauchspeicheldrüse 287  
Bechergläser 37  
Becherzellen 188  
Befruchtung 204f.  
Beintypen 253 ff.  
Beleuchtung, schiefe 49  
Beleuchtungsapertur (BA) 26 ff., 42, 46  
Beleuchtungsapparat, Abbescher 29, 48  
Beleuchtungsapparat, vereinfachter 29  
Beleuchtungsspiegel 16, 26, 41  
Belichtungszeit 88, 92, 96  
Benzol 131, 176  
Beobachtungsküvetten 136  
Bernsteinlack 140  
Betäubungsmittel 106  
Beugungamaxima 19f., 47  
Beugungaminima 19  
Beugungspektren 19  
Bewegungen, amöboide 159  
Bienenruhr 198  
Bildfeldwölbung 18  
Bildungsgewebe 311f.  
Bindegewebe 212 ff.  
Bindegewebsknorpel 214  
Blasenfüße 245  
Blatt 325 ff.  
-, nadelförmiges 326  
Blatthaare 314  
Bleistiftzeichnung 77  
Blenden 17  
-, exzentrische 49  
Blockschälchen 37  
Blüte 327 ff.  
Blut 270f.  
Blutausstrich 159f.  
Blutegel 233  
Blutfarbstoff 159  
Blutflagellaten 190  
Blutfäße 271f.  
Blutkörperchen, rote 159f.  
Blutkörperchen, weiße 159  
Blutparasiten 161  
Boraxkarminlösung, alkoholische 122, 128  
Bouins Gemisch 113, 115  
Brandpilze 304  
Brennhaare 280, 314  
Brennweite 19  
Brownische Molekularbewegung 291, 298  
Brunnenlebermoos 304f.  
Brutkörper 305, 305  
Bücherskorpion 236f.  
Bunsenbrenner 38  
Caedax 131  
Carnoy'sches Gemisch 112, 115  
*Chaetogaster* 233  
Chelizeren 238  
Chitin 149, 189  
Chloralhydrat 107  
Chlordioxidessigsäure 116  
*Chlorella* 296  
Chloreton 107  
Chloroform 106  
Chloroplasten 282f.  
Chlorzinkjodlösung 117  
Chordatiere 263 ff.  
Chromatin 185  
Chromoplasten 283  
Chromosomen 186  
Chromsäure 112  
Chrysoidin 124, 129  
*Cnidosporidia* 198  
Coriphosphin O 129  
Culactol 278f., 293  
Culactolgelatine 278f.  
Darm 267  
Darmamöben 194  
Darmflagellaten 190  
Dauerpräparate 103, 130, 138 ff.  
Dauerzygoten 299  
Deckepithel, einschichtiges 209  
Deckgewebe, mehrschichtiges 209  
Deckgläser 36  
Deckschuppe 328  
Demonstrationsaufsätze 100  
Diachrome 118  
Diäthyläther 106  
Diaphanol 116, 149  
Diatomeen 166  
Dickenwachstum 322 ff.  
*Dicrocoelium lanceolatum* 226f.  
Dimethylbenzol 131  
Drittellalkohol 169  
Drüsen, innersekretorische 272f.  
Drüsenepithel 210  
Drüsenhaare 280, 314  
Dünndarmschleimhaut 160  
Dünnschliffe 181f.  
Dunkelfeldbeleuchtung 50  
Dunkelfeldkondensator 54  
Eau de Javelle 115  
*Echinococcus granulosus* 228  
Edelkrebs 236  
Egel 233

Eierstöcke 273  
 Einbettungsmittel 130  
 Eintagsfliegen 242  
 Einzeller 189 ff.  
 Eisenaun 117  
 Eisenaunlösung 124  
 Eisenhämatoxylin 124  
 Eiweißglyzerin 178  
 Ektoplasma 192  
 Elektronenblitztechnik 87  
 Embryosack 328 f.  
 Emergenzen 315  
 Endodermis 321  
*Enterobius vermicularis* 231  
 Entoplasma 192  
 Entwässern 108, 130, 150  
 Entwässerungsmittel 130  
 Entwicklungsvorgänge 204 ff.  
 Eosin 123, 128  
 Epidermis 163, 313, 323  
 Epithelgewebe 208 ff.  
 Erlenmeyerkolben 37  
 Erythrosin 123, 128  
 Essigsäure 107, 111  
*Euglena* 294  
 Euparal 131  
 Exodermis 321

Farbfixierlösung 125  
 Farbglashalter 17  
 Farbrestfehler 18  
 Farbstoffe, basische 120  
 Farbstoffe, saure 120  
 Färbemittel 118 ff.  
 Färbesatz, doppelter 178  
 Färbungen 118 ff.  
 Farbe 309 ff.  
*Fasciola hepatica* 226  
 Faserknorpel 214  
 Fasertracheiden 317  
 Faserzellen 289  
 Faulschlammkultur 199  
 Federzeichnung 78  
 Feintrieb 17  
 Feldheuschrecken 243  
 Festigungsgewebe 315 ff.  
 Fett 188  
 feuchte Kammer 35, 135  
 Feuerstein 196  
 Feuerstein-Abschlag-Methode 144  
 Filter 17  
 -, für Kontrastfarbenbeleuchtung 54 ff.  
 Filtrierpapier 38  
 Fischegel 233  
 Fischeschuppen 246  
 Fixiergemische 108, 112  
 Fixiermittel 108  
 Fixierungs-Färbungs-Schnellmethoden 121  
 Fleisch, trichinöses 168  
 Fliegentöter 209  
 Flimmerepithel 210  
 Flimmerzellen 187 f.  
 Flöhe 253  
 Flohkrebse 235  
 Florfliegen 250  
 Fluoreszenzmikroskopie 65 ff.  
 Fluorochrome 118 f., 129  
 Flußalgen 297  
 Flußmuschel 185  
 Foraminiferenkalik 182  
 Formalin 110, 114, 117  
 Forschungsmikroskope 16  
 Fortpflanzungsorgane 327 ff.  
 Fotookulare 23  
 Fransenflügler 245  
 Frischpräparate 103, 133 ff.  
 Frontlinse 19

Frosch 167  
 Fruchtfliegen 252  
 Fruchtknoten 328 ff.  
 Fruchtschale 169  
 Früchte 330  
 Fuchsin-Methylenblau-Lösung H 126  
 Fuchsin-Methylgrün 125

Gallenkapillaren 268 f.  
*Gammarus pulex* 235  
 Gandrysche Körperchen 277  
 Ganglienzellen 185, 219  
 Gehörgänge 274  
 Geißelalgen 294 ff.  
 Geißeln 190  
 Geißeltierchen 190 ff.  
 Geißelzellen 188  
 Gelbrandkäfer 249 f.  
 Gentianaviolett 124  
 Gerbstoffe 185 f.  
 Geschlechtszellen 272  
 Geschmacksknospen 275 f.  
 Gewebeformen 207 ff.  
 Giemsa Farbfixierlösung 125, 160  
 Gießkannenschimmel 301  
 Glasknorpel 214  
 Glasschreiber 38  
 Gleichflügler 247  
 Gliederfüßer 233 ff.  
 Glockentierchen 202, 235  
 Glycerin 130  
 Glyceringelatine 131, 141  
 Goldalgen 295  
 Grabbein 254, 256  
 Granula 188  
 Gregarinen 196 f.  
 Griffel 328  
 Grillen 243  
 Grobtrieb 17  
 Großhirnrinde 273  
 Grünalgen 296 ff.  
 Grundgewebe 312 ff.

Haarbalgmilbe 239  
 Haare 266  
 Haargefäße 181  
 Haarpinsel 38  
 Habituszeichnungen 79  
 Hämaun 128  
 -, saures 122  
 Hämaun-Chrysoidin 125  
 Hämaun-Chrysoidin-Sudan III 125  
 Hämaun-Eosin 126  
 Hämaun-Safranin 125  
 Hämatoxylin 122  
*Haemopsis sanguisuga* 232 f.  
 Haftbein 254, 259  
 Haftwurzeln 322  
 Halskanalzellen 308  
 Handmikrotomschnitte 170 ff.  
 Handschnitte 170 ff.  
 Handzentrifuge 133  
 Hapteren 308 f.  
 Hartparaffin 131  
 Harzgänge 320  
 Haustorien 171, 173, 322  
 Haut 264 ff.  
 Hautflügler 247 f.  
 Hautgewebe 313 ff.  
 Hautzellen 164  
 Haversche Kanäle 175, 182  
 Hefen 300 f.  
 Hellfeld-Durchlicht-Beleuchtung 40 ff.  
 -, schiefe 47

Hellysche Flüssigkeit 113  
 Herbsche Körperchen 277  
 Herz 272  
 Herzmuskulatur 219  
*Heterodera schachtii* 231  
 Heubazillen 292  
 Hinterlinse 19  
*Hirudo medicinalis* 233  
 Hörschnecke 274  
 Hoftüpfel 317  
 Hohltiere 223  
 Holundermark 170, 172  
 Holz 324  
 Holzbock 239  
 Holzfasern 168, 316  
 Holzparenchymzellen 168  
 Holzstoff 288  
 Honigbiene 149, 151, 247 f.  
 Horizontalmikroskop 137  
 Horn 189  
 Hundebandwurm 228  
 Hutpilze 303  
 Huygensches Okular 22  
 Hydroidmedusen 225  
 Hypokotyl 322

Immersionsojektive 20 f.  
 Infusion 198 f.  
 Injektionsfärbung 118 ff.  
 Injektionspräparate 181  
 Insekten 240 ff.  
 Interzellularen 312, 320 f.  
 Interzellulärsabstanzen 189  
 Inulin 284  
 Jahresringe 324  
 Jochalgen 298 f.  
 Jod-Kaliumjodid-Lösung 117  
 Jodtinktur 117

Kabinettkäfer 250  
 Käfer 249  
 Käfermilben 239  
 Kaformazet 114  
 Kalilauge 118  
 Kaliumbichromat 112  
 Kaliumbichromat-Formalin-Essigsäure 114  
 Kaliumhypochloritlösung 115  
 Kaliumpermanganat 117  
 Kalk 189  
 Kalkschwamm 222  
 Kambium 318, 322 f.  
 Kammertierchen 195 f.  
 Kanadabalsam 131  
 Kaninchenkokzidiose 197  
 Kantenkollenchym 315 f.  
 Karbolfuchsin 123, 129  
 Karbolxylyl 130  
 Karminessigsäure 121, 127  
 Karmingelatine 181  
 Karpfenläuse 234  
 Keimdrüsen 272 f.  
 Keimscheibe 207  
 Kern, generativer 328  
 Kern, vegetativer 328  
 Kernechtrot-Kombinationslösung H 126  
 Kernkörperchen 185  
 Kernschwarz 124, 129  
 Kernschwarz-Chrysoidin 125  
 Kernteilung 186 f., 289 f.  
 -, amitotische 186  
 -, mitotische 186 f.  
 Kerntypen 186 f.  
 Kiefernblätter 238  
 Kiemen 270

- Kieselalgen 296  
 Kieselgur 144  
 Kieselsäure 189  
 Klammerbein 254, 257  
 Kleber 285  
 Kleinkrebse 233 ff.  
 Kleinmikroskope 13 f.  
 Kniebeulenalgen 297  
 Knochen, entkalkte 175  
 Knochengewebe 214 ff.  
 Knochenmark 270  
 Knochenquerschnitt 181  
 Knochenzellen 175, 182  
 Knorpel 175  
 Kochsalzlösung, physiologische 105  
 Köcherfliegen 251  
 Köhlersches Beleuchtungsprinzip 45, 87  
 Köpfchenschimmel 299  
 Koffeinkristalle 146  
 Kohlendioxid 107  
 Kohlweißling 251  
 Kokzidien 197 f.  
 Kollektivlinse 22  
 Kombinationstrieb 17  
 Kompensationsfilter 89  
 Kompensationsokulare 22  
 Kompressorium 168  
 Kondensator 26, 42  
 Kondensatorblende 42  
 Kondensatorimmersion 27, 46  
 Konjugation 156, 298 f.  
 Kontrastfarbenbeleuchtung 54 ff.  
 -, Dunkelfeldmethode 54 ff.  
 -, Komplementärfarbenmethode 57 f.  
 Kontraststeigerung 48  
 Kopffandlupe, binokulare 12 f.  
 Korkgewebe 313  
 Korkkambium 313  
 Korkwarzen 313  
 Krabbenspinnen 237  
 Krätzmilben 239  
 Kraushaaralgen 297  
 Krautfäule 300  
 Krebse 233 ff.  
 Kreuzspinnen 237  
 Kristalle 286  
 Kristallpräparate 145 ff.  
 Küchenzwiebel 141 f., 164  
 Küvettenaufbewahrung 137  
 Küvettenbesiedlung 137  
 Küvettenmikroskop 137  
 Küvetten-Mikroskopie 135 ff., 315  
 Kugelalgen 295  
 Kugelleuchten 29  
 Kursmikroskope 14 f.  
 Kutinpräparate 149 ff.  
 Kutin 287 f., 313  
 Kutinnachweis 287 f.  
  
 Lackring 141  
 Lackringdrehscheibe 140 f.  
 Längenmessung 67  
 Läuse 246  
 Läuselinge 246  
 Lamellenkörperchen 276  
 Lanzettnadein 37  
*Laomedia* 224 f.  
 Laubheuschrecke 243 f.  
 Laubmoose 306 ff.  
 Laufbein 254 f.  
 Laufkäfer 249  
 Leber 268 f.  
 Leberegel 168, 226 f.  
 Lebermoose 304 f.  
 Leberzellen 185  
  
 Leitbündel 168, 309, 317 ff., 323  
 Leitergefäße 320  
 Leitgewebe 317 ff.  
 Lentizellen 313  
 Lesegläser 12  
 Leuchtkäfer 249  
 Leukoplasten 283  
 Libellen 242 f.  
 Libriformfasern 316  
 Licht, polarisiertes 59, 167  
 Lichtblatt 325 f.  
 Lichtfilter 90  
 Lichtgrün 123, 129  
 Lichtmessung 88 f.  
 Lichtwurlampen 31  
 Lignin 169, 288  
 Ligninnachweis 288  
 Linsenauge 262  
 Linsenfehler 17  
 Linsensysteme 17  
 Lufttröhre 270  
 Luftwurzeln 322  
 Lugolsche Lösung 117  
*Lumbricus terrestris* 231 f.  
 Lunge 270  
 Lupen 11 f.  
 -, aplantische 11  
  
 Madenwurm 231  
 Magdalarot 129  
 Magen 266  
 Magnesiumchlorid 107  
 Maikäfer 249  
 Mark 323  
 Marktstrahlen 323  
 Mattglasscheibe 17  
 Mazerationspräparate 167 ff.  
 Meerespolypen 224 f.  
 Mehltaupilze 302  
 Mehrfach-Vitalfärbungen 121  
 Meiose 290  
 Meißnersche Körperchen 277  
 Membranen, unverholzte 173  
 Membranen, verholzte 173  
 Mesophyll 325 f.  
 Meßokular 23, 67  
 Meßzylinder 37  
 Methylalkohol 107, 110  
 Methylbenzozat 176  
 Methylenblau 121, 127  
 Methylgrünessigsäure 122, 127  
 Mikrofotografie 84 ff.  
 -, überzeichnete 81, 318  
 Mikrometerwert 68  
 Mikroprojektion 14, 98 ff.  
 Mikroprojektionsgeräte 99 ff.  
 Mikroskop, Strahlengang 32 f.  
 Mikroskopierleuchten 29 ff.  
 Mikroskoptypen 11 ff.  
 Mikrotom 175  
 Mikrotomschnitt 175 ff.  
 Milben 238  
 Milchgefäße 320  
 Milchröhren 320  
 Milchsäurebakterien 292  
 Minot-Mikrotom 178  
 Mitose 289 f.  
 Mittellamelle 169, 287  
 Moospflanzen 304 ff.  
 Mooskorpion 236  
 Moosporen 308  
 Moosvorkeime 308  
 Mundspeicheldrüse 267  
 Mundwerkzeuge 259  
 Muscheln 262 f.  
 Muschelschalen 182  
 Muskelgewebe 217 ff.  
 Muskelzellen 169  
 -, glatte 217  
  
 Muskulatur, quergestreifte 218  
 Mutterkornpilz 303  
 Mykorrhiza 304  
  
 Nahprojektion 100  
 Nahrungsvakuolen 156  
 Narbe 328 f.  
 Nawaschinsches Gemisch 114  
 Nebenkerne 188  
 Nelkenöl 130  
 Nervengewebe 219 ff.  
 Nervensystem, zentrales 273  
 Nesselzellen 170  
 Netzflügler 250 f.  
 Netzgefäße 168, 320  
 Netzknochen 214  
 Neutralbalsam 131, 143  
 Neutralgraufilter 87  
 Neutralrot 120, 127, 156  
 Niere 269 f.  
 Nummulitenkalk 182  
  
*Obelia* 225  
 Oberflächenabdruck 182 ff.  
 Objektive 17  
 -, Öffnungswinkel 19  
 -, Reinigung 34  
 -, Tiefenschärfe 19  
 Objektivreolier 17, 22  
 Objektmikrometer 23, 68  
 Objektträger 35  
 Objektträgerkammer 134  
 Objektträgerkultur 301  
 Objektträger-Mikroaquarien 135  
 Öldräsen 286  
 Öle 285 f.  
 Ölgänge 320  
 Ölimmersion 46  
 Öhrenquelle 225  
 Ohrspeicheldrüse 267  
 Ohrwürmer 244  
 Okulare 19  
 Okularmikrometer 67  
 Okularschiebehülse 17  
 Okularschraubenmikrometer 67  
 Opalblau 124  
 Opalblau-Phloxinrhodamin-Lösung 124  
 Opalblau-Präparate 156 f.  
 Orange G 123, 128  
  
 Paarungsbein 259  
 Palisadenparenchym 326  
 Pantoffeltierchen 156, 202  
 Panzeralgen 294  
 Paraffin 131, 175  
 Paraffinblock 177  
 Paraffineinbettung 175 ff.  
 Paraffineinbettungsapparat 176 ff.  
 Paraffinöl 118  
*Parascaris equorum* 230 f.  
*Pelodera pelio* 232  
 Perikambium 322  
 Perizykel 322  
 Petrischalen 37  
 Pfeifersches Fixiergemisch 278, 293  
 Pierdeegel 232 f.  
 Pierdespulwurm 186, 230 f.  
 Pflanzenhaare 313  
 Phasenkontrast 63 f.  
 -, negativer 64  
 -, positiver 64  
 -, variabler 64  
 Phasenkontrastmikroskopie 62 ff.  
 Phasenobjekte 62  
 Phasenverschiebung 64

Phloem 317, 324  
 Phlorogluzin 117  
 Phloxinrhodamin 156  
 Phosphormolybdänsäure 117  
 Phylokladium 324f.  
 Pigmentzellen 187f.  
 Pikrinsäure 111, 175  
 Pikrinsäure-Formalin-Eisessig  
 113  
 Pikro-Nigrosin 122  
 Pilze 299ff.  
 Pinselschimmel 301  
 Pinzetten 37  
 Pipetten 36  
*Piscicola* 233  
 Planachromate 17f.  
 Planapochromate 17f.  
*Planaria* 226  
 Planktonfänge 132  
 Plasmaströmung 192, 279f.  
 Plasmodien 161  
 Plasmolyse 280f.  
 Plasmolyseformen 280  
 Plattenepithel 208f.  
 Plattenepithelzellen 161, 185  
 Plattenkollenchym 315  
 Plattwürmer 225  
 Polarisationsfilter 60  
 Pollen 139, 328  
 Pollenkeimung 328  
 Pollenschlauch 280, 328  
 Posthornschnecke 261  
 Präpariergeräteständer 39  
 Präparier-Lupenstativ 11f.  
 Präpariernadeln 37  
 Präparierplatte 140  
 Präparierscheren 37  
 Probelichtung 88, 93f.  
 Projektionsfläche 99  
 Projektionsfolien 82  
 Projektionsokulare 99  
 Projektionszeichengeräte 25  
 Projektive 23  
 n-Propylalkohol 109, 118, 130  
 Prothallium 310f.  
 Protoplasma 279f.  
 Protoplasmaabewegung 187  
 Protozoen 161f.  
 Pseudopodien 192ff.  
 Puffersalzgemische 161  
 Purkinjische Nervenzellen 180  
 Putzbein 254, 258  
 Pyrenoide 299

Quecksilberchlorid 111  
 Quecksilber-Höchstdrucklampen  
 67  
 Querstreifung 168  
 Quetschpräparate 167ff.  
 Quittenkernschleim 105

Raphiden 146, 286  
 Rasiermesser 38, 172  
 Rauchglas-Halbblende 44  
 Reagenzgläser 37  
 Reagenzglashalter 38  
 Regenwurm 231f.  
 Reibeplatte 262  
 Reliefbeleuchtung 59f.  
 Rhizodermis 321  
 Rhizom 309, 324  
 Rhodamin B 129  
 Riechschleimhaut 276  
 Riechzellen 275  
 Riesenzellen 188  
 Rinde 323  
 Ringelack 140  
 Ringelwürmer 231ff.

Ringer-Lösung 106  
 Ringgefäße 168, 319f.  
 Röhrenknochen 181  
 Rollblatt 327  
 Rostpilze 304  
 RO W-Kleinmikroskop-Projektor  
 99  
 Raubbein 254, 258  
 Rübenälchen 231  
 Rückenmark 273  
 Rüsselkäfer 249  
 Rundwürmer 229ff.

Safranin 123, 128  
 Safranin-Lichtgrün 125  
 Salataufguß 202  
 Salpetersäure 116, 175  
 Salzsäure 117  
 Samenanlage 328f.  
 Samenhaare 314  
 Samenpflanzen 311ff.  
 Samenschale 169  
 Samenschuppe 328  
 Sammelbein 254, 257  
 Sammelexkursionen 132  
 Sammelkalender 132  
 Samtmilbe 239  
 Satzobjektive 34  
 Sauginfusorien 203  
 Saugwürmer 226f.  
 Saumzecken 239  
 Schaben 244f.  
 Schachtelhalme 308f.  
 Scharfeinstellung 41  
 Schattenblatt 325  
 Schaufelbein 254, 258  
 Scheibenpilze 302  
 Schlauchgalen 297  
 Schlauchpilze 300ff.  
 Schleifmittel 181  
 Schleim 188  
 Schließzellen 164  
 Schlittenmikrotom 178  
 Schmetterlinge 251  
 Schmetterlingsflügel 143  
 Schnecken 261f.  
 Schnittfänger 38  
 Schnittfärbung 120  
 Schnittrichtung 170f.  
 Schrägtubus 25  
 Schrecken 243f.  
 Schülerarbeitskästen 38  
 Schülermikroskope 13f.  
 Schulzisches Mazerationsgemisch  
 168, 288f.  
 Schwammparenchym 326  
 Schwammtiere 222  
 Schwarzweiß-Filme 96ff.  
 Schweinefinnenbandwurm 227f.  
 Schwimmbein 254, 256  
 Sehfeld 11ff., 27f.  
 Sehfeldblende 22  
 Sehweite, deutliche 11  
 Sehwinkel 11  
 Seife 170, 173  
 Seitenwurzeln 322  
 Selektionsfilter 89  
 Siebplatten 317, 319  
 Siebröhren 317, 319  
 Silberfäschchen 241  
 Silberimprägnation 180, 220f.  
 Silberliniensystem 179f.  
 Silberniederschläge 179f.  
 Silbernitrat 117  
 Silbernitratlösung 179f.  
 Silikoflagellaten 294  
 Sinnesepithel 211  
 Sinnesorgane 273ff.  
 Skalpelle 37

Skizze 77  
 Sklerenchymzellen 316  
 Sonnenblumenmark 170, 172  
 Sonnen tierchen 195  
 Sorus 309f.  
 Spaltöffnungen 164, 313, 325f.  
 Spaltpflanzen 290ff.  
 Spatel 38  
 Speicherblatt 326f.  
 Speicherstärke 283f.  
 Speicherwurzeln 322  
 Spermatozoiden 305, 308, 311  
 Spermen 188, 272  
 Spießhaare 314  
 Spinnentiere 236ff.  
 Spinnmilben 239  
 Spiralgefäße 168, 319f.  
 Spirituslampe 37  
*Spirogyra* 298f.  
*Spongilla lacustris* 222  
 Sporenkapseln 305ff.  
 Sporentierchen 196ff.  
 Sporophyll 308f.  
 Springschwänze 241  
 Springspinnen 237  
 Spritzflasche 37  
 Sprossachse 323ff.  
 Sprossdornen 325  
 Sprossknollen 325  
 Sprossmetamorphosen 324f.  
 Sprossranken 325  
 Sprossung 301  
 Sprungbein 243, 254f.  
 Spulwurm 231  
 Stacheln 316  
 Ständerpilze 303f.  
 Stärkenachweis 282  
 Statolithenstärke 284  
 Staubfadenhaare 279, 289f.  
 Stethoskop 149, 151  
 Stechmücken 252  
 Stechmückenlarve 155  
 Steinzellen 288, 316  
 Stereomikroskop 26  
 Sternalgen 299  
 Stigma 149  
 Strahlentierchen 195f.  
 Strudelwürmer 168, 225f.  
 Stubenfliegen 251  
 Stückfärbung 118ff.  
 Stützwurzeln 322  
 Sublimat-Alkohol 113  
 Sudan III 124  
 Süßwasserpolymp 154, 170, 223f.  
 Süßwasserschwämme 222  
 Suktorien 203f.  
 Susa 113

*Taenia solium* 227f.  
 Tastkörperchen 175  
 Tausendfüßer 240  
 Teichmolchlarve 164  
 Teilung 156  
 Teilungsstadien 166  
 Tentakel 315  
 Thallus 305f.  
 Thermostat 175f.  
 Thymiankampfer 117  
 Thymol 117  
 Tibialorgan 243  
 Tiefenschärfe 19  
 Totalfärbung 118ff.  
 Totalpräparate 154ff.  
 Tracheen 168f., 317  
 Tracheiden 168f., 317, 324  
 Treppengefäße 168, 320  
 Trichine 229f.  
 Trichloressigsäure 112, 175  
 Trichozysten 156

- Trichter 37  
 Triebknöpfe, koaxiale 17  
 Trockenobjektive 21  
 Trompetentierchen 202  
 Tropfen, hängender 134 f.  
 Trypanosomen 161  
*Tubifex* 233  
 Tubus 15  
 Tubusaufsätze, binokulare 25  
 Tubuslänge, mechanische 16  
 Tüpfel 287  
 Tüpfelgefäße 320  
 Tympanalorgan 243 f.  
 Tyrode-Lösung 106
- Übergangsbeleuchtung 59  
 Uhrglasschälchen 37  
 Ur-Insekten 241 f.  
 Urtierchen 189 f.
- Vakuolen 286 f.  
 Vater-Pacinsche Körperchen 276 f.  
 Vegetationskegel 311 f.  
 Veraschungspräparate 147 f.  
 Vergrößerung, förderliche 24, 48, 99  
 Vergrößerung, leere 24  
 Verholzung 315  
 Verkohlungspräparate 147 f.  
 Vertikalkamera 93  
 Vitalfärbung 118
- Vitalfarbstoffe 120  
 Vitalfluorochromierung 129  
 Vogelmilben 239
- Wägeschälchen 37  
 Wanzen 246 f.  
 Wasser 105  
 -, destilliertes 115  
 Wasserschimmel 300  
 Wasserspinnen 237  
 Wasserstrahlpumpe 38  
 Weberknechte 237  
 Webespinnen 237 f.  
 Weichparaffin 131  
 Weichtiere 261 f.  
 Weinbergschnecke 261 f.  
 Weizenälchen 231  
 Wimpertierchen 198 f., 235  
 Winkelspinnen 237  
 Wurzel 321 f.  
 Wurzelfüßer 192 f.  
 Wurzelhaare 280, 315, 321  
 Wurzelhaube 312  
 Wurzelknöllchenbakterien 292 f.  
 Wurzelmeristem 312
- Xylem 317, 321  
 Xylol 131
- Zahnbeingewebe 217  
 Zahnbelag 291  
 Zahnschleimbakterien 157 f.
- Zeichenokular 75  
 Zeichenpapier 76  
 Zeichenspiegel 25, 75  
 Zeichentubus 75  
 Zeichnen, mikroskopisches 73  
 Zeigerokular 23  
 Zelleinschlüsse 283 ff.  
 Zellformen 288  
 Zellgrenzschicht 287 ff.  
 Zellkern 185, 281 f.  
 Zellmembran 287 ff.  
 Zellsaft 286 f.  
 Zellteilung 186, 289 f.  
 Zellulose 287  
 Zellulosenachweis 287  
 Zellwand 287 ff.  
 Zenkersche Flüssigkeit 113  
 Zentralblende 44, 51 f.  
 Zentralzylinder 321, 323  
 Zentrifuge 166  
 Zentrifugiermethode 166  
 Zentrosom 186  
 Zieralgen 298  
 Ziliasten 157, 198 ff.  
 -, kommensalische 203  
 Zoocllorellen 296  
 Zuckmücken 252  
 Zupfpräparate 167 ff.  
 Zweiflügler 251 ff.  
 Zwergplankton 190  
 Zwischenmittel 130  
 Zwitterdrüse 261  
 Zylinderepithel 209  
 Zytolithen 286

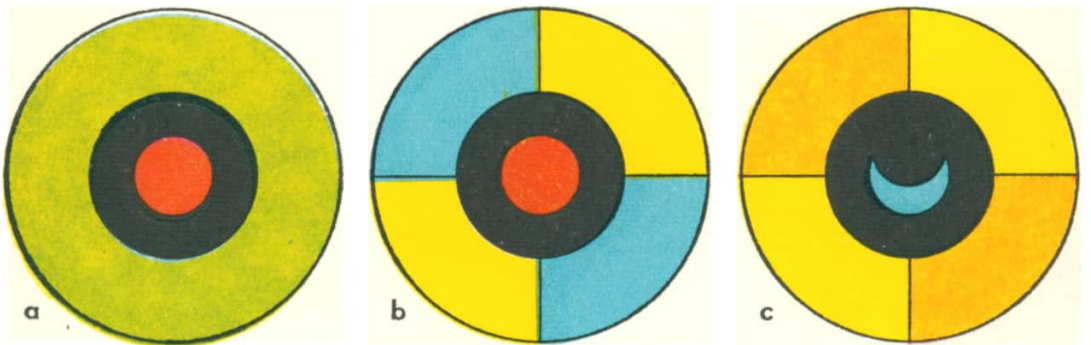
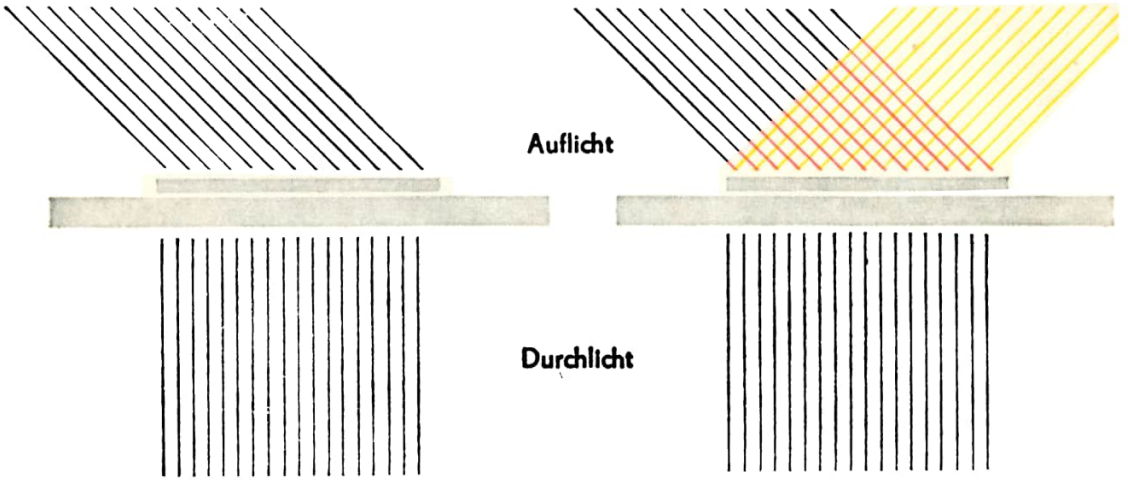
## Abbildungsnachweis

**Zeichnungen:** VEB Carl Zeiss JENA, Jena (Abb. 31/2); Werner Fahr, Berlin (Vorsätze); Eberhard Graf, Berlin (Abb. 21/1, 37/1, 37/2, 38/1, 43/1, 47/1, 49/1, 51/1, 52/1, 71/1, 76/2, 79/1, 135/1, 140/2, 140/3, 140/4, 158/1, 171/1, 172/1, 176/2, 177/1, 178/1, 203/1, 254/1); Martin Krauß, Potsdam (Abb. 73/1, 76/1, 77/1, 78/1, 80/1, 80/2, 80/3, 81/1, 81/2, 151/1, 158/2, 161/1, 162/1, 165/1, 166/1, 180/1, 185/1, 191/1, 193/1, 201/1, 206/1, 215/1, 227/1, 238/2, 243/1, 248/1, 248/2, 276/1, 279/1, 291/1, 298/1, 325/1).

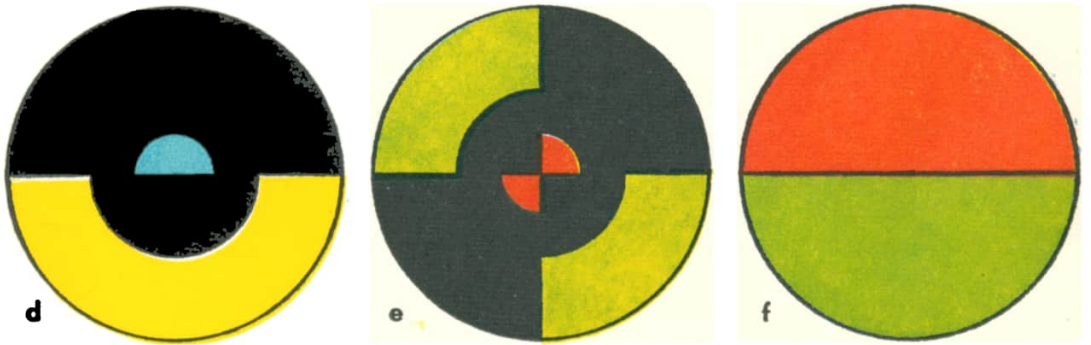
**Fotos:** VEB Carl Zeiss JENA, Jena (Abb. 15/1, 15/2, 16/1, 26/1, 30/2, 30/3, 31/1, 32/1, 60/1, 63/1, 64/1, 75/1, 94/1, 101/1, 101/2); VEB Rathenower Optische Werke, Rathenow (Abb. 14/1, 14/2); Kombinat VEB PENTACON, Dresden (Abb. 91/1, 91/2); Guillaume, Berlin (Abb. 173/2); Horst Theuerkauf, Gotha (Farbtafeln 1 bis 4, Abb. 18/1, 24/1, 86/1, 89/2, 136/1, 140/1, 142/2, 215/3, 232/1, 238/1, 264/1, 276/2, 280/1, 282/1, 298/2, 303/1, 312/1, 317/1, 321/1, 326/1, 326/2, 327/1, 329/1, 329/2).

Der Abbildungsmaßstab der Mikrofotos wird in den Bildunterschriften durch je zwei Zahlenverhältnisse angegeben, beispielsweise 140 : 1/280 : 1. An erster Stelle steht der Abbildungsmaßstab auf dem Film, an zweiter Stelle der durch die nachträgliche Vergrößerung im Druck erzielte endgültige Abbildungsmaßstab. Alle nicht im Abbildungsnachweis genannten Fotos stammen vom Verfasser. Die Zeichnungen wurden nach Originalvorlagen des Verfassers angefertigt.

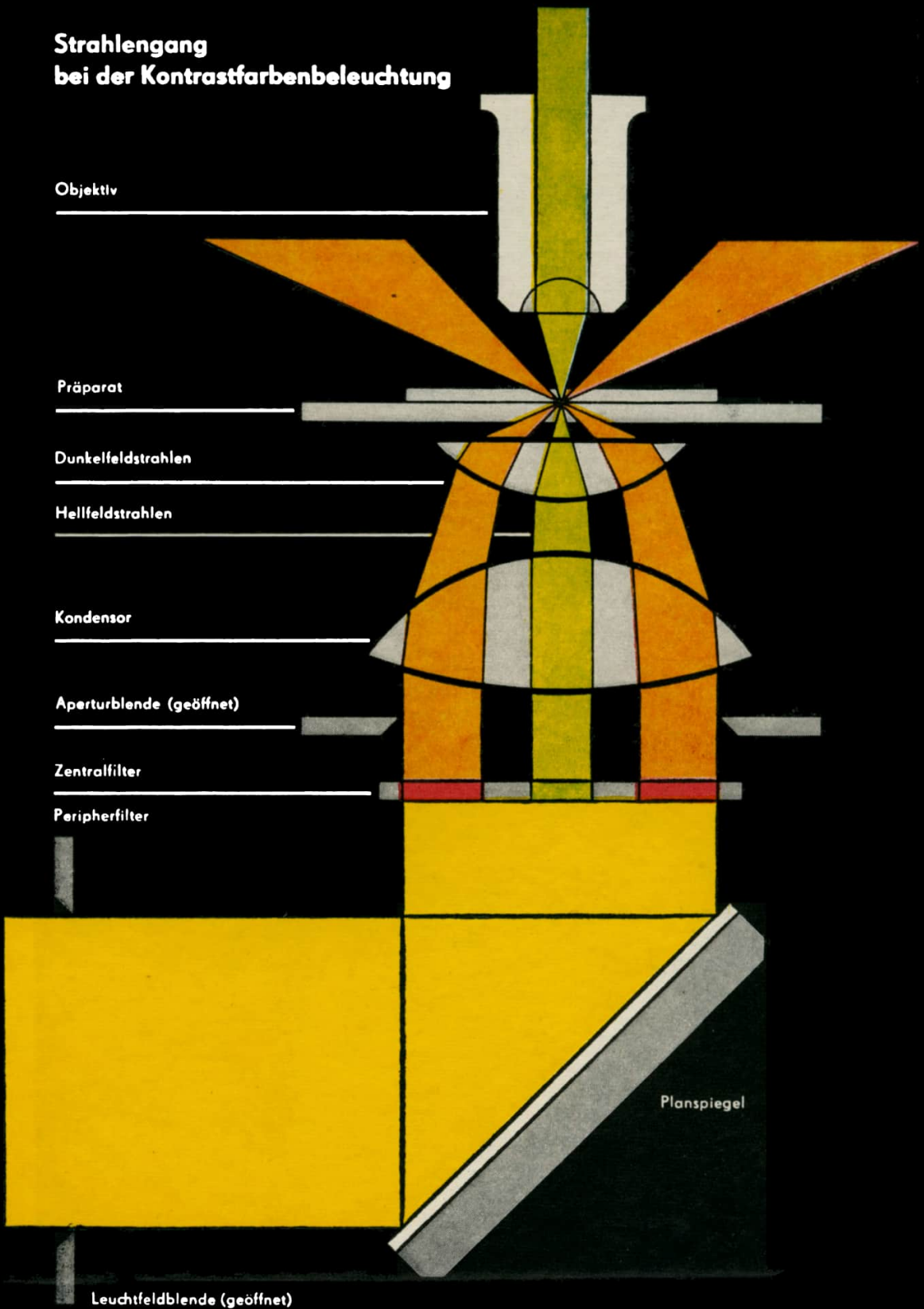
**Beispiele für Kontrastfarbenbeleuchtung durch Auflicht und Durchlicht in verschiedenen Farben**



**Filter für die Kontrastfarbenbeleuchtung**  
 (a bis e für die Dunkelfeldmethode,  
 f für die Komplementärfarbenmethode im Hellfeld).



# Strahlengang bei der Kontrastfarbenbeleuchtung



**Kurzwort: 01 21 08 Mikroskope  
DDR 9,40 M**