

2. Das Mikroskopieren

2.1. Präparationstechnik

2.1.1. Allgemeines zur Präparationstechnik

Die präparative Arbeit erstreckt sich vom Herstellen einfacher Frischpräparate (z.B. Handschnitte, Stärkeaufschwämmung) bis zum mühevollen Präparieren von lückenlosen Schnittserien schnell ablaufender Entwicklungsstadien (z.B. Meiose, Befruchtung) mit Hilfe des Mikrotoms und komplizierter mikrotechnischer Verfahren. Die Präparationsanweisungen in diesem Praktikum zielen stets auf geringen apparativen Aufwand. Es soll hier nachdrücklich darauf hingewiesen werden, daß auch mit **einfachen Hilfsmitteln** ein **tiefer Einblick** in den anatomischen Bau des Pflanzenkörpers möglich ist.

Die Erfahrung hat gelehrt: Mit gekonnt aus der Hand geführten Rasierklingschnitten von ausdifferenzierten pflanzlichen Organen lassen sich gute Präparate herstellen. Wesentlich bessere Präparate würden einen unverhältnismäßig größeren technischen Aufwand erfordern.

2.1.2. Technische Hilfsmittel

In Tabelle 4 und 5 sind Grundausrüstungen zusammengestellt.

Objektträger und Deckgläser nur in **sauberm**, möglichst **fettfreiem** Zustand verwenden (s. Reg. 103). Da wichtige Objektive auf die Deckglasdicke von 0,17 mm korrigiert sind, müssen geeignete Deckgläser (0,15–0,19 mm) ausgelesen werden. Abweichende Deckglasdicke führt zu mangelhafter Bildqualität!

Holundermark läßt sich am leichtesten aus den abgestorbenen kräftigen Langtrieben (»Wassertrieben«) von *Sambucus nigra* herauspräparieren (Reg. 59).

2.1.3. Präparateformen und Präparationsmethoden

2.1.3.1. Nach dem Aufschluß des Gewebes, um dünne Schichten zu erhalten

Schnittpräparat (s. a. Reg. 110): Meist angewandte Präparationstechnik. Von Frisch- oder Alkoholmaterial werden Handschnitte (Rasierklinge, Rasiermesser) oder Mikrotomschnitte (Gefriermikrotom, Holzmikrotom) hergestellt. In Paraffin eingebettete Objekte werden hauptsächlich mit dem Mikrotom (Handmikrotom, Schlittenmikrotom, Minotsches Mikrotom) geschnitten und in Dauerpräparate überführt. **Die Wahl der Schnittebene ist von großer Bedeutung** und wird durch die Beobachtungsabsicht bestimmt. Wichtige Hauptschnittebenen s. Abb. 50.

Quetschpräparat (s. a. Reg. 73): Besonders für spezielle zytologische Untersuchungen geeignet. Färbung kann mit Fixierung kombiniert werden (Heitzsche Schnelfärbemethode = Karminessigsäure-Methode).

Mazerationspräparat (s. a. Reg. 85): Durch entsprechende Verfahren (Mazeration nach Schulze, Behandlung mit Lauge, Wasserstoffperoxid, Pektinase) werden die Ca-Pektinat-Mittellamellen der Gewebe aufgelöst. Dadurch Isolierung der Zellen. Besonders für die Untersuchung von Holz und Leitbündelelementen verwendet.

Zupf- und Schabepreparat (s. a. Reg. 108 u. 125): Mit Hilfe von Präpariernadeln werden auf dem Objektträger in einem Flüssigkeitstropfen kleine Gewebeproben zerzupft oder mit der Rasierklinge kleine Proben von Pflanzenteilen abgeschabt. Lockerung des Zellverbandes,

Tabelle 4

Grundausrüstung für einfache mikrotechnische Präparationen

Objektträger	Reagenzgläser
Deckgläser	Bechergläser
Rasierklagen bzw.	Petrischalen
Rasiermesser (plankonkav)	Kristallisierschale
Holundermark	Meßzylinder (z. B. 25 ml)
Präpariernadeln	Saugpipetten
Pinzette	Pipetten- oder Tropfflaschen
Glasstab	Infiltrationsgerät (Reg. 64)
Spatel	Läppchen (saugfähig, fusselarm)
Pinsel (weich, spitz)	Fließpapier
Porzellanplatte (zur Hälfte weiß, zur Hälfte schwarz gefärbt)	Gas- oder Spiritusbrenner
Blockschälchen	Präparatemappe
Uhrgläser	Präparatekasten

Tabelle 5

Grundausrüstung an Reagenzien und Farblösungen

Reagens	Reg.-Nr.	Reagens	Reg.-Nr.
Leitungswasser	81	Kaliumchlorat	69
Destilliertes Wasser	24	Salpetersäure zur Mazeration nach Schulze	85
Ethanol	36	Iodkaliumiodid-Lösung	66
Glycerol	51	(z. B. sog. Lugolsche Lösung)	
Xylen	120	Phloroglucinol-Lösung	101
Glycerolgelatine	52	Safraninlösung	105
Neutralbalsam	92	Sudan-III-Lösung	116
Salzsäure	106	Karminessigsäure	73
Schwefelsäure	112	Hämalaun nach Mayer	55
Kaliumhypochloritlösung	27	Anilinblau	5
(Eau de Javelle)			
Chloralhydratlösung	17		

Isolierung kleinster Gewebepartikel und Einzelzellen. Zum Untersuchen von Gefäßbündeln, Fasern, Einzelzellen und Zellbestandteilen geeignet.

Aufhellungspräparat (Transparentpräparat; s. a. Reg. 9 u. 10): Geeignete Pflanzenteile (dünne Blattspreiten, zarte Wurzelspitzen, dickere Handschnitte) lassen sich durch geeignete Methoden durchsichtig machen. Aufhellung mit Hilfe chemischer und physikalischer Mittel oder durch Kombination beider möglich. Häufig bei Blattstudien angewendet, gestattet auch Untersuchung ganzer Blattstücke.

2.1.3.2. Nach dem Endzustand, in dem das Präparat beobachtet werden soll

Frischpräparat (s. a. Reg. 47); Nativ- oder Lebendpräparat: Objekte werden im lebenden Zustand in physiologische Medien eingebettet, die ihnen eine begrenzte Lebensdauer ermöglichen. Färbung nur mit Vitalfarbstoffen (Reg. 118) möglich, z. B. Darstellung von Zytoplasma, Plasmaströmung, Nukleus, Plastiden, Vakuolen. Präparat von abgestorbenen oder fixierten Geweben: häufigster Typ. Für Zellwandstudien genügt konserviertes Material (70%iges Ethanol, Reg. 3).

Dauerpräparat: Soll der Zellinhalt lebensnah erhalten bleiben, muß mit geeigneten Mitteln

fixiert werden (z. B. Reg. 42). Objekte werden im abgetöteten (fixierten) und meist gefärbten Zustand in konservierende Medien mit geeigneter Brechzahl eingebettet. Zahlreiche Fixiermittel, Färbemethoden (s. unten) und Einbettungsmittel (Reg. 21) sind in Gebrauch. Von fast allen Objekten können Dauerpräparate angefertigt werden. **Eine Sammlung guter Dauerpräparate ist ein wertvoller Besitz!**

Das erste Präparat erst dann verwerfen, wenn das zweite besser gelungen ist.
Ein gutes Schnittpräparat verlangt ein scharfes Messer und viel Geduld!
Der Arbeitsaufwand für ein noch besseres Präparat lohnt sich immer!

2.1.3.3. Fixieren

Anatomische Untersuchungen erfordern mitunter, die Pflanzenteile zu fixieren. Dieser Vorgang hat folgende Bedeutung:

- Die Zellen müssen so schnell und so gleichzeitig wie möglich abgetötet werden, um ihre Strukturen annähernd so wie im Lebendzustand zu erhalten.
- In den Geweben darf keine Autolyse oder Fäulnis einsetzen.
- Durch Koagulation des Protoplasmas sollen intrazelluläre Partikel und die Organellen an den Stellen festgehalten werden, die sie im Lebendzustand innehatten.
- Die Gewebe müssen widerstandsfähig gemacht und gehärtet werden, damit sie sich schneiden lassen und den folgenden Präparationsschritten standhalten.
- Das anschließende Anfärben soll ermöglicht oder erleichtert werden.

Als Fixiermittel dienen starke Eiweißfällungsmittel (z. B. Ethanol, Formalin, Essigsäure, Chromsäure, Sublimatlösung, Osmiumsäure), die entweder allein oder in verschiedenen Mischungen angewendet werden. Ein in der Botanik häufig gebrauchtes Fixiergemisch ist das Gemisch nach Carnoy (Reg. 42). Als beste Fixiermittel gelten Osmiumsäure und alle Fixiergemische, die Osmiumsäure enthalten. Beim Fixieren sollten folgende Regeln eingehalten werden:

- Die Objekte müssen beim Einlegen in das Fixiermittel **stets ganz frisch** sein. Welche Pflanzenteile sind ungeeignet.
- Die Objekte **so klein wie möglich** halten, damit sie vom Fixiermittel schnell durchtränkt werden.
- Im Verhältnis zum Objektvolumen **große Mengen Fixiermittel** verwenden (etwa 1:50). Die Zusammensetzung des Fixiermittels darf sich durch den Wassergehalt der Objekte nicht wesentlich ändern.
- Fixiergefäße groß genug wählen, damit die Objekte nicht deformiert werden.
- Das Fixiermittel muß **schnell und gleichmäßig** eindringen. Infiltrieren oder Objekte eventuell anstechen. Schnelles Untersinken der Objekte deutet auf schnelles Eindringen des Fixiermittels.
- Das Fixiermittel darf nur einmal verwendet werden (Ausnahme: Osmiumsäure).
- Fixiermittel nach Ablauf der vorgeschriebenen Fixierdauer mit einem geeigneten Mittel **gründlich auswaschen**.

Das Einlegen von Pflanzenteilen in Ethanol zum Konservieren (Reg. 3) ist auch eine – allerdings grobe – Form des Fixierens.

2.1.3.4. Färben

Das Anfärben der Objekte hat den Zweck, bestimmte Zell- oder Gewebestrukturen deutlicher hervortreten zu lassen oder überhaupt erst sichtbar zu machen (z. B. Zellkerne, Chromosomen während der Kernteilung, Kallose auf den Siebplatten, Suberinlamellen usw.). Es gibt sehr viele zweckentsprechende Farbstoffe und Färbemethoden, über die die einschlägige Spezialliteratur zu Rate gezogen werden muß (s. Literaturverzeichnis).

Dieses Praktikum kommt mit einigen wenigen, ausgewählten Farbstoffen und Methoden aus, die sich bei botanisch-anatomischen Studien besonders bewährt haben. In der Regel sollen die Objekte möglichst mit verdünnten Farblösungen behandelt werden. Entsprechende Verfahrensweisen und Richtwerte sind im Register angegeben.

Man unterscheidet:

- *Progressivfärbung* (z. B. Reg. 55): Das Objekt wird so lange gefärbt, bis die entsprechenden Strukturen den gewünschten Färbungsgrad erreicht haben. Anschließend überschüssige Farblösung auswaschen und das Objekt in geeignetem Medium einbetten.
- *Regressivfärbung* (z. B. Reg. 105): Das Objekt wird überfärbt und dann so lange mit einem geeigneten Mittel entfärbt (differenziert), bis der gewünschte Färbungsgrad erreicht ist. Diese Methode ist etwas umständlicher, liefert aber oft die besseren Bilder. Als Differenzierungsmittel werden bei den häufig gebrauchten Anilinfarben im allgemeinen Ethanol oder salzsaures Ethanol verwendet (Reg. 107).
- *Übersichtsfärbung*: Das Objekt wird mit einem Farbstoff behandelt, der alle Strukturen tingiert und dadurch besser sichtbar macht (z. B. Hämalan n. Mayer, Reg. 55).
- *Selektivfärbung* (z. B. Reg. 116): Das Objekt wird mit einem Farbstoff behandelt, der nur bestimmte Strukturen anfärbt (z. B. Sudan III: Kutin, Suberin, Fett).
- *Simultanfärbung* (z. B. Reg. 87): Das Objekt wird mit einem Farbstoffgemisch behandelt. Dadurch werden gleichzeitig verschiedene Strukturen unterschiedlich angefärbt.
- *Sukzedanfärbung* (z. B. Reg. 56): Das Objekt wird nacheinander mit verschiedenen Farbstoffen behandelt. Dadurch werden nacheinander verschiedene Strukturen unterschiedlich angefärbt.
- *Vitalfärbung* (z. B. Reg. 118): Das lebende Objekt wird mit sehr verdünnten Lösungen von Vitalfarbstoffen behandelt, die keinen sichtbaren schädlichen Einfluß auf die lebende Zelle ausüben. Die Farbstoffe werden je nach ihrem Charakter von den verschiedenen Strukturen unterschiedlich stark gespeichert und festgehalten.

Wer noch nicht genügend Erfahrung hat, sollte alle Phasen einer Färbung mit dem Mikroskop kontrollieren. Die Haltbarkeit einer Färbung hängt von der Art des Farbstoffes und vom Einschlußmedium ab.

2.1.3.5. Beschriften der Dauerpräparate

Dauerpräparate müssen sauber und eindeutig beschriftet oder in einer Präparatekartei erfaßt werden. Nicht auf das Gedächtnis verlassen – unbeschriftete Präparate können nach einiger Zeit meist nicht mehr einwandfrei identifiziert werden und sind dann wertlos!

- Objektträger des Dauerpräparates von einer oder nacheinander von beiden Schmalkanten her bis nahe an den Deckglasrand in eine Lösung von Neutralbalsam in Xylen (etwa 1: 10) eintauchen.
- Präparate auf Fließpapier abstellen, bis der Balsamfilm trocken ist (etwa 10 min).
- Auf dem Balsamfilm kann jetzt mit Feder und Ausziehtusche beschriftet werden.
- Nach dem Trocknen der Tusche Präparat erneut tauchen und trocknen lassen.

Die Beschriftung soll beinhalten:

genaue Angabe des Objekts (z. B. *Zea mays*, Sproßachsenquerschnitt),
 Fixierung (z. B. Carnoy),
 Färbung (z. B. Hämalan n. Mayer),
 Einbettung (z. B. Neutralbalsam),
 Datum

Es ist oft vorteilhaft, **wichtige Stellen im Präparat** durch Tuschepunkte oder -kreise zu **markieren**. Wer über einen Kreutztisch mit Noniuseinteilung verfügt, kann die jeweiligen Koordinatenwerte dieser Stellen notieren.

2.1.3.6. Aufbewahren der Dauerpräparate

Bei flüssigen oder noch nicht erhärteten Einbettungsmitteln (z. B. Glycerol, Neutralbalsam) Präparate staubfrei und vor Licht geschützt in waagerechter Lage aufbewahren. Die handelsüblichen Präparatemappen (für je 20 Präparate) sind dafür zu empfehlen.

Achtung – harzartige Einbettungsmittel (z. B. Neutralbalsam, Kanadabalsam, Durobalsam, Caedax) erhärten sehr langsam. Präparate nicht vorzeitig in senkrechte Lage (Präparatekasten) bringen, da Einbettungsmittel mit Deckglas und Objekten abfließen kann.

2.2. Mikroskopisches Beobachten

Jede mikroskopische Untersuchung setzt ein Mindestmaß an theoretischem Wissen vom Objekt und an manuellem Können voraus. Je umfangreicher die theoretischen Kenntnisse, um so reicher das Ergebnis der Beobachtung. Aber auch der geübte Mikroskopiker muß sich in jedes neue Präparat »einsehen«, um alle Strukturfeinheiten richtig deuten zu können; nur wer sich gründlich in das Präparat vertieft, erfäßt den räumlichen Aufbau des Objekts.

Wenn ein Präparat lange Zeit betrachtet wird und dabei bestimmte Strukturen gesucht werden, besteht die Gefahr des »Hineinsehens«. Einzelheiten, die schwer zu erkennen sind, weil sie entweder an der Grenze des Auflösungsvermögens liegen oder sich auf Grund geringer Brechzahl Differenz kaum vom Hintergrund abheben, können dann zuweilen fehlgedeutet werden. In solchen Fällen alle zur Verfügung stehenden Möglichkeiten der mikroskopischen Untersuchung heranziehen, um das Problem einwandfrei zu klären!

Bei Objektiven hoher Apertur ist die Schärfentiefe so gering, daß praktisch nur Ebenen scharf abgebildet werden. Die einzelnen optischen Schnitte müssen geistig zu einer räumlichen Einheit verbunden werden, um das Objekt zu verstehen (Abb.2). Seien wir uns stets bewußt, daß sich beim mikroskopischen Betrachten eine Welt offenbart, die unserem Auge nur mit Hilfe von Instrumenten und durch Präparation sichtbar gemacht werden kann! Kritik am eigenen Beobachten und Zurückhaltung bei der Darstellung von Ergebnissen sind daher immer geboten. Viele Faktoren beeinflussen das wahrnehmbare Bild und können Strukturen vortäuschen, die in Wirklichkeit nicht vorhanden sind.

Bei der Beobachtung eines Präparats zweckmäßigerweise folgendes beachten:

1. Das Präparat (Objektträger mit Objekt und Deckglas) auf den Objektisch des Mikroskops legen. Bei einiger Übung kann das Präparat zum Durchmustern mit freier Hand geführt werden.
2. Beleuchtung einstellen, wenn immer möglich nach dem Köhlerschen Beleuchtungsverfahren (Reg. 12).
Die Lichtintensität richtet sich nach dem Objekt. Sehr zarte Strukturen (z. B. Zytoplasma, Nukleus, stark aufgehellte Gewebe) erscheinen bei schwacher Beleuchtung deutlicher, dichtere Präparatstellen (z. B. Borke, Korkgewebe, dickere Handschnitte) werden durch stärkeres Licht besser erkennbar.
3. Bei schwacher Vergrößerung (z. B.: Okular 10x /Objektiv 6,3x /0,12) das Objekt nach geeigneten Stellen durchmustern. Anfangs bereitet es Schwierigkeiten, den Objektträger mit freier Hand spiegelbildlich zu bewegen. Auch bei stärkster Vergrößerung (Immersionsobjektiv) muß es gelingen, das Präparat mit der Hand so langsam zu verschieben, daß dabei das Objekt beobachtet werden kann. Die Ecken des Objektträgers nur zart mit Daumen und Zeigefinger berühren und mit den übrigen Fingern die Hand auf dem Objektisch abstützen. Die andere Hand muß für die Bedienung von Grob- und Feintrieb freibleiben.
4. Ist eine geeignete Stelle gefunden, wird mit dem Objektiv der gewünschten numerischen Apertur scharf eingestellt:

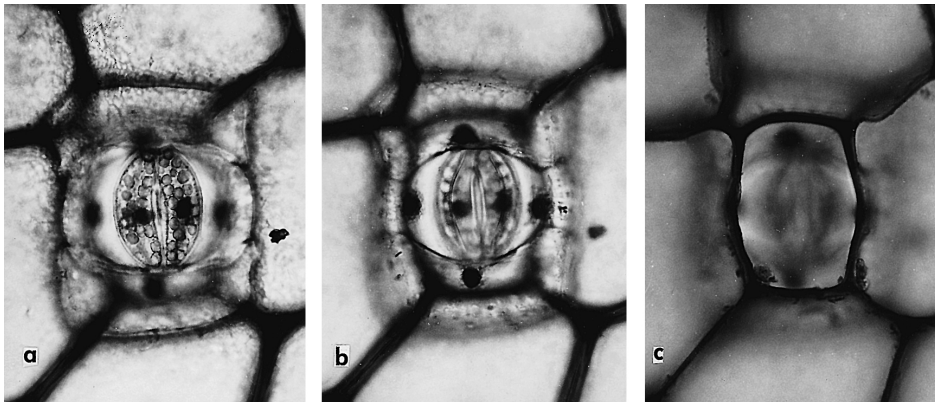
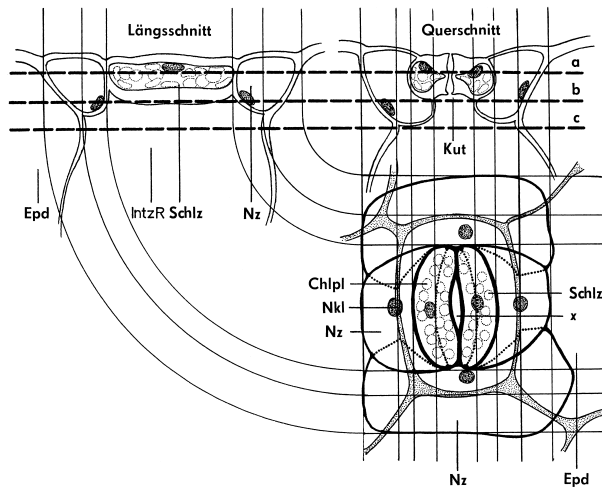


Abb. 2. Spaltöffnungsapparat von *Rhoeo spathacea*. Die Fotos entsprechen – von links nach rechts – den drei Ebenen a, b und c, die in der Zeichnung zu einem Bild vereinigt sind. Zum Verständnis des Gesamtaufbaues wurde der Längs- und Querschnitt in entsprechender Form mit dargestellt. Die optische Ebene wurde bei den Aufnahmen von oben nach unten durch den Spaltöffnungsapparat gesenkt. Vergleiche den Aussagewert von Foto und Zeichnung! **Chlpl**: Chloroplasten, **Epd**: Epidermiszellen, **IntzR**: substomatärer Interzellularraum, **Kut**: Kutikularleiste, **Nkl**: Nukleus, **Nz**: Nebenzelle, **Schlz**: Schließzelle, **x**: Zentralspalt. 280 : 1.

Bei Objektiven hoher Apertur ist der Abstand zwischen Frontlinse und Deckglas (Arbeitsabstand) sehr gering (s. Tabelle 1). Vorsicht beim Senken des Tubus bzw. Heben des Objektisches! Frontlinse des Objektivs und Präparat können beschädigt werden.

Zur Arbeit mit Immersionsobjektiven s. Reg. 62.

5. Um beide Augen zu schonen, muß mit auf Fernsicht eingestellten Augen mikroskopiert werden. Stelling am Okularstutzen des Mikroskops nutzen:

- Mikroskopisches Bild für das rechte Auge mit dem Fokussiertrieb scharfstellen.
- Mikroskopisches Bild für das linke Auge mit dem Stelling scharfstellen (nicht mit Fokussiertrieb!). Nach dieser einmaligen Einstellung des Stellinges ist das mikro-

skopische Bild für beide Augen ein und desselben Beobachters immer scharf, wenn fortan nur noch mit dem Fokussiertrieb fokussiert wird.

Während des Beobachtens stets mit dem Feintrieb fokussieren! Die optische Ebene soll ständig durch das Objekt wandern, damit alle Feinheiten sichtbar werden. **Das ständige Fokussieren muß zu einer Selbstverständlichkeit werden!**

Fehler, die bei mikroskopischem Beobachten unterlaufen können:

Erscheinung	Mögliche Ursachen
Fokussieren führt zu scheinbaren Verschiebungen im Bild	Objekt schief geschnitten (z. B. Sproßachse nicht senkrecht zur Längsachse getroffen) Ungeeignete Lichtführung im Beleuchtungsstrahlengang (Schrägllicht) Objektivrevolver nicht richtig eingerastet Wasser zwischen Frontlinse und Deckglas
Trübes Bild bei Verwendung von Trockensystemen	Deckglasdicke stimmt nicht Frontlinse verschmutzt (mit Lupe kontrollieren!) Wasser unter Deckglas verdunstet Deckglas verschmutzt Okular beschlagen oder verschmutzt Wasser zwischen Frontlinse und Deckglas Objektiv in Immersionsflüssigkeit eingetaucht
Bild sehr kontrastreich, Beugungsringe; Vortäuschung von Feinstrukturen	Aperturblende zu weit geschlossen
Bild sehr hell, Strukturfeinheiten werden überstrahlt	Aperturblende zu weit geöffnet
Bildfeld nicht voll ausgeleuchtet, Rand dunkler	Leuchtfeldblende nicht weit genug geöffnet
Bild dunkel und nicht gestochen scharf	Förderliche Vergrößerung überschritten – Okular mit zu starker Eigenvergrößerung
Bei Verwendung des Immersionsobjektivs kein scharfes Bild, Objekte schwimmen weg	Deckglas oder Objekt zu dick. Vorsicht! Beschädigung der Frontlinse und des Präparates möglich
Beim Einstellen des Immersionsobjektivs trübes Bild	Frontlinse verschmutzt (Abhilfe: eingetrocknetes Immersionsöl mit wenig Benzin und weichem Leinenlappen beseitigen) Immersionsöl trüb Immersionsflüssigkeit mit Wasser vom Deckglasrand vermischt
Bei Einstellung des Immersionsobjektivs schieben sich dunkle Schatten ins Blickfeld	Luftblasen im Immersionsöl (Abhilfe: Objektiv nochmals aus dem Immersionsöl heben, kleinen Tropfen Immersionsöl an die Frontlinse bringen, dann wieder eintauchen)

Oberflächliches Beobachten ist wertlos.

Die stärkste Vergrößerung ist nicht immer die geeignetste.

Alle Präparate kritisch betrachten – die selbstgefertigten besonders kritisch!

2.3. Mikroskopisches Zeichnen

2.3.1. Bedeutung und Grenzen

Das mikroskopische Zeichnen ist eine wertvolle Methode wissenschaftlicher Darstellung, die durch die Mikrofotografie in ihrem didaktischen Wert **nicht** ersetzt, höchstens ergänzt werden kann. Bei anatomischen Studien liegt ihr Sinn weniger in der Dokumentation als vielmehr im **Vorgang** des Zeichnens, denn das Zeichnen zwingt zum notwendigen geistigen Durchdringen des geschauten Bildes. Daher kann keine andere Technik (Beschreibung, Mikrofotografie, Mikroprojektion) den Bildungswert des Zeichnens ersetzen.

Wie alle Methoden, so hat auch die mikroskopische Zeichnung ihre Vor- und Nachteile:

Vorteile:

- Erziehung zu intensivem Beobachten und sauberem Arbeiten.
- Festigung der Erkenntnisse.
- Die notwendigen Beschriftungen zwingen dazu, den Lehrstoff theoretisch zu durchdringen.
- Die optischen Ebenen durch das Objekt können zu einer räumlichen Darstellung vereint werden (s. Abb. 2).
- In der Zeichnung kann Wesentliches hervorgehoben, Unwesentliches nur angedeutet und Störendes und Überflüssiges (Verunreinigungen, Beschädigungen des Objekts) weglassen werden.
- Durch Zeichnen kann typisiert und abstrahiert werden.
- Nicht fotografierbare (z. B. überfärbte, zu dick geschnittene, schwer zu präparierende) Präparate können noch dargestellt werden.
- Der Geräteaufwand ist gering, die Geräte sind immer einsatzbereit.

Nachteile:

- Mikroskopisches Zeichnen erfordert erheblichen Zeitaufwand.
- Schnell vergängliche und lebende Präparate können nur mangelhaft dargestellt werden.
- Es besteht die Gefahr der subjektiven Wiedergabe.

2.3.2. Zeichenmittel

Die mikroskopische Zeichnung besteht zum größten Teil aus Punkten und dünnen, scharfen Strichen. Deshalb mit glattem weißem Papier, gut gespitzten Bleistiften verschiedener Härtegrade und weichem Radiergummi arbeiten (evtl. für Zeichnungen, die der Dokumentation dienen sollen, Tuschefedern, schwarze Zeichentusche, Lanzettnadel oder Rasierklinge zum Radieren). Größere Gewebeabschnitte (z. B. Sproß- und Blattquerschnitte) zell- und maßstabsgetreu zu zeichnen, ist schwierig und mühevoll. Es gibt Zeichengeräte (Hilfsnetz, Projektionszeichenspiegel, Zeichenokulare und Zeicheneinrichtungen nach Abbeschem Prinzip), die diese Arbeiten erleichtern.

Hilfsnetz:

Auf der Sehfeldblende (S. 19) liegt ein Glasplättchen mit eingraviertem Hilfsnetz. Es erleichtert das Erkennen und Festlegen von Proportionen und Lagebeziehungen.

Projektionszeichenspiegel:

In einem abgedunkelten Raum wird das mikroskopische Bild mit Hilfe eines Projektionszeichenspiegels auf die Zeichenfläche projiziert. Das Projektionsbild kann dann nachgezeichnet werden. Feinheiten sind durch direktes Beobachten zu ergänzen.

Zeichenokulare und Zeicheneinrichtungen für Mikroskope:

Diese Geräte spiegeln die Zeichenfläche in das Sehfeld. Beim Einblick in das Okular ist dann das Objekt zusammen mit der Zeichenfläche und der stiftführenden Hand zu sehen.

2.3.3. Darstellungsmöglichkeiten

Das mikroskopische Bild kann in verschiedener Weise mit dem Zeichenstift festgehalten werden. Von der Hilfsskizze bis zur vollendeten zellgetreuen Zeichnung bieten sich alle Variationen. Der jeweilige Zweck bestimmt die entsprechende Form (Abb. 3).

Mikroskopisches Zeichnen kann jeder erlernen!

Skizze: Einfachste Darstellungsform. Dient hauptsächlich der Verständigung am Mikroskop oder als Wandtafelskizze zur Erläuterung typischer Merkmale des zu behandelnden Stoffs. Mit wenigen klaren Strichen soll das Wesentliche zum Ausdruck gebracht werden. Die Skizze erfordert Abstraktion und daher mehr theoretisches Wissen und praktische Erfahrung als die zellgetreue Zeichnung.

Übersichtszeichnung (Schema): Stellt die Gewebekomplexe (Achsen-, Blatt-, Wurzelquerschnitte, Gefäßbündel) nur in ihren Umrissen dar und berücksichtigt Proportionen und Lagebeziehungen. Unterschiedliche Schraffur oder Punktierung setzt die Gewebearten voneinander ab.

Halbschematische Zeichnung: Einzelheiten in typischer und stark verallgemeinerter Form, aber nicht zellgetreu wiedergegeben (z. B. Kambium, Periderm, Gefäße).

Zeichnung mit einfachen Konturen: Zellgetreue Wiedergabe. Alle Zellwände als einfache Linien dargestellt. Mit dünnen und starken Linien und Punktierungen unterschiedlicher Dichte lassen sich wirksame zeichnerische Aussagen erzielen. Besonders dicke Zellwände (z. B. Sklerenchymfasern, Sklereide, Fasertracheiden, Tracheen) müssen in ihrer relativen Stärke abgebildet werden. Zellinhalt kann eingezeichnet werden.

Zeichnung mit doppelten Konturen: Zellgetreue Wiedergabe, alle Zellwände werden in ihrer relativen Stärke dargestellt und der Zellinhalt berücksichtigt. Diese Art der Zeichnung liefert naturgetreue Abbildungen, ist aber mit großem Arbeitsaufwand verbunden. Wird meist nur für Ausschnitte und Einzelheiten verwendet (z. B. Gefäßbündel, Kambium, Periderm, Stomata, Epidermis, Exkretionsgewebe). In einer Zeichnung können mehrere Darstellungsformen miteinander vereinigt werden.

Allgemein gilt für das Anfertigen mikroskopischer Zeichnungen: Die Zeichnung beginnt mit der Herstellung und der Auswahl des Präparates. Je besser das Präparat, desto leichter läßt sich danach zeichnen. Ein Präparat, das wichtige Details nur ahnen läßt, eignet sich niemals zum zeichnerischen Durcharbeiten, sondern verführt nur zur Ungenauigkeit.

Wenn eine Stelle im Objekt gefunden ist, die alle Strukturen klar und eindeutig zeigt, wird die gewünschte Vergrößerung eingestellt und eventuell das Zeichengerät eingerichtet.

Auf dem Papier die Grenzen des gewählten Ausschnittes festlegen und auffallende Strukturen in richtiger Lage und Proportion mit weichem Bleistift andeuten. Von diesen Anhaltspunkten aus allmählich das zellgetreue Bild in dünnen Linien als Zellnetz entstehen lassen. Erst dann unter Berücksichtigung der Zellwandverhältnisse (Mittellamellen, Wandstärke, Tüpfel, Interzellularen) und des Zellinhaltes (Zytoplasma, Plastiden, Nukleus, Vakuolen usw.) die Zeichnung vollenden (Abb. 4). Auf jeder Zeichnung sollten präparationstechnische und theoretische Bemerkungen protokollarisch festgehalten werden; Abb. 5 möge als Beispiel für eine ordnungsgemäß angelegte Zeichnung dienen.

2.3.4. Zeichenfehler

Fehler in den Zeichnungen verraten, daß ein Präparat nur oberflächlich beobachtet bzw. die Anatomie des Objekts nicht richtig verstanden wurde. Einige dieser Fehler unterlaufen recht oft:

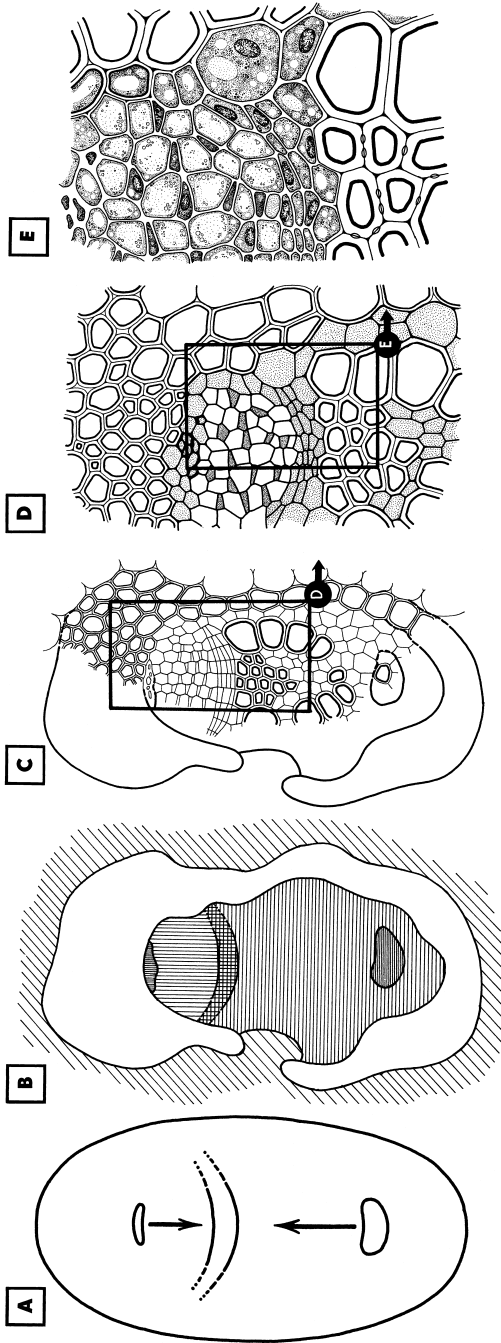


Abb. 3. Möglichkeiten der zeichnerischen Darstellung eines mikroskopischen Objekts. **A:** Skizze, die hier z. B. zur Erklärung des Differenzierungsablaufes von Metaphloem und -xylem aus dem Prokambium dient. **B:** Übersicht (Schema). Die verschiedenen Gewebe können durch unterschiedliche Schraffierung angedeutet werden. **C:** Halbschema. Einzelheiten in verallgemeinerter Form. **D:** Ausschnitt von C. Zellgetreue Darstellung mit einfachen Konturen. **E:** Ausschnitt von D. Zellgetreue Darstellung. Zellwände im richtigen Größenverhältnis zueinander gezeichnet. Zellinhalt eingezeichnet. Die arbeitsintensiven Darstellungsformen D und E sollten nur für Ausschnitte verwendet werden. (*Ranunculus spec.*, Leitbündel aus der Sprossachse im Querschnitt.)

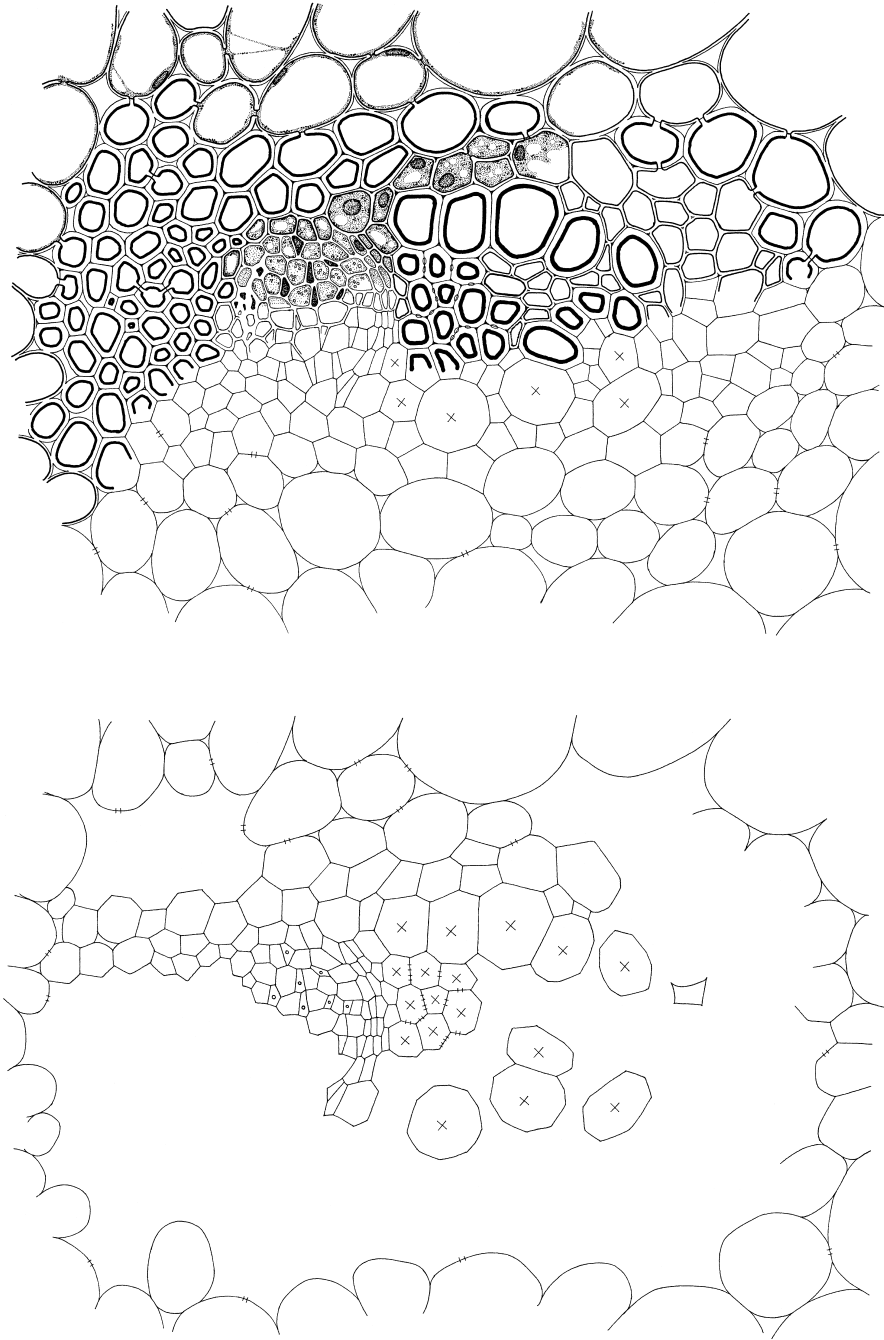
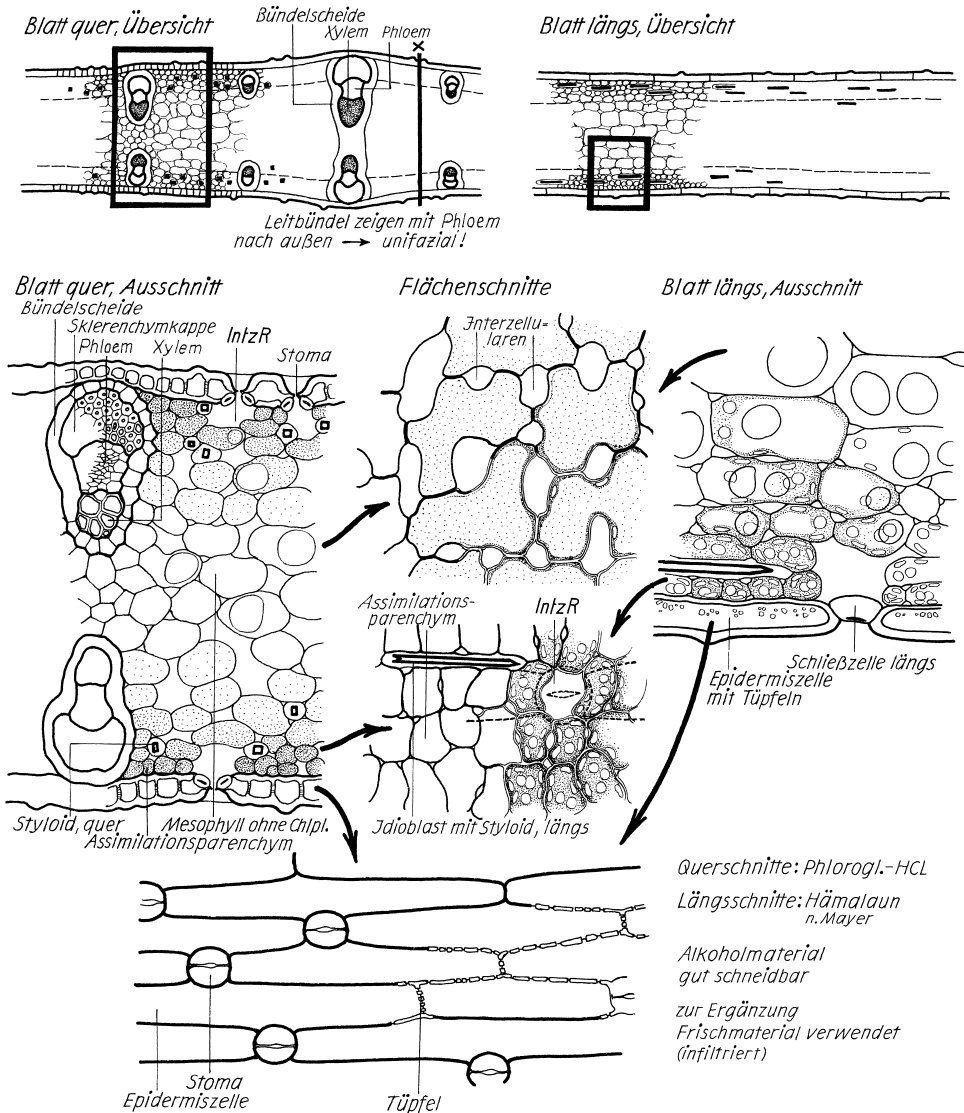


Abb. 4. Anlegen einer mikroskopischen Zeichnung (hier mit Zeichenokular). Nach dem Markieren des Bildrandes (linkes Bild) werden besonders auffallende Zellelemente gezeichnet und gekennzeichnet (hier z.B. Tracheen mit Kreuzchen, Geleitzellen mit Punkten). Von diesen Markierungsstellen aus wird zum vollständigen Zellnetz ergänzt. Anschließend können die Zellwände in ihrer unterschiedlichen Stärke gezeichnet und der Zellinhalt dargestellt werden. (*Ranunculus spec.*, Leitbündel aus der Sproßachse im Querschnitt.)

Iris germanica (Iridaceae) Deutsche Schwertlilie

Unifaziales Flachblatt, in der basalen Hälfte jedoch bifazial gebaut.

Vorliegende Untersuchungen wurden am unifazialen Teil des Blattes durchgeführt.



unifazialer Teil des Flachblattes

(Spitzenregion! Im basalen Teil ist das Blatt bifazial gebaut)

Auffallend runde bis ovale Löcher in den Mesophyllzellen (bes. im Längsschnitt): Ausbuchtungen der Zellwände, die beim Schneiden abgetrennt wurden (Flächenschnitt beachten!)

Datum: _____

Name : _____

Abb. 5. Beispiel für das zeichnerische Durchdringen eines mikroskopischen Objektes und das Beschriften der Zeichnung. *Iris germanica*, Blatt. Ausführliche Beschreibung s. S. 205.

- Bei jungem Parenchym wird die hexagonale Grundform der pflanzlichen Zelle nicht erkannt, sondern mehr oder weniger ellipsoide Zellen werden lose aneinandergereiht gezeichnet. Es entsteht daher nicht der Eindruck eines zusammenhängenden Gewebes.
- Durch schematisches Aneinanderreihen von Zellen entsteht das Muster eines „Ziegeldaches«. Eine solche Zeichnung beweist, daß ihr Autor nur wenig vom Vorgang der Zellteilung und Wandbildung weiß.
- Interzellularen werden vernachlässigt oder falsch eingezeichnet. Das mag seinen Grund darin haben, daß die Interzellularen im Präparat mitunter nicht auffallend hervortreten. Eine andere Ursache ist neben mangelhafter Beobachtung Unklarheit über Entstehung und Funktion dieser Gebilde.
- Nukleus und Plastiden sind immer in das Zytoplasma eingebettet und dürfen nicht den Anschein erwecken, als ob sie auf dem Plasmawandbelag schwimmen.

2.4. Mikrofotografie

2.4.1. Bedeutung und Grenzen

Das Mikrofoto dient als Belegmaterial und Dokumentationsmittel für wissenschaftliche Arbeiten. Pflanzenanatomische Kurse eignen sich gut, um die Technik der Mikrofotografie kennenzulernen. Auf manchen Gebieten ist die Mikrofotografie allein jedoch nicht die Methode der Wahl. Erst ihre Verbindung mit der mikroskopischen Zeichnung, deren Aussagewert sie bekräftigt und ergänzt, ergibt das ideale Informationsmittel für wissenschaftliche Publikationen. Der Praktikant überschätzt häufig die Leistungsfähigkeit der Mikrofotografie und wertet die »veraltete« mikroskopische Zeichnung ihr gegenüber ab. Das wissenschaftlich wertvolle Mikrofoto erfordert gut fundiertes theoretisches Wissen und einen reichen Erfahrungsschatz. Wie die mikroskopische Zeichnung, so hat auch das Mikrofoto seine Vor- und Nachteile:

Vorteile:

- Objektive Darstellung.
- Das Objekt kann in kurzer Zeit zellgetreu im Bilde festgehalten werden.
- Das Negativ oder Diapositiv kann durch Projektion einem großen Hörerkreis zugänglich gemacht werden.
- Farbaufnahmen haben einen höheren Informationsgehalt, erfordern allerdings besondere Erfahrung.

Nachteile:

- Verunreinigungen und andere störende Erscheinungen im Objekt (Beschädigungen, mangelhafte Präparation) werden mit abgebildet.
- Der Film kann nicht Wesentliches von Unwesentlichem trennen.
- Das Anfertigen eines Mikrofotos erzieht nur in geringerem Maße zu intensiver Beobachtung.
- Nicht von allen Präparaten, die sich gut beobachten lassen, können gute Mikrofotos hergestellt werden. Ein gutes Mikrofoto stellt höchste Ansprüche an die Qualität des Präparats. Zu dicke, überfärbte, zerrissene, unebene Schnitte mögen zur Beobachtung geeignet sein, zum Fotografieren sind sie es nicht.
- Das Mikrofoto stellt nur eine optische Ebene dar. Das Objekt kann daher nicht oder nur durch behelfsmäßige Kunstgriffe räumlich erfaßt werden.
- Die Mikrofotografie ist kostenaufwendig.

2.4.2. Technische Ausrüstung

Die aus dem Okular austretenden Strahlen können als reelles Bild auf fotografischem Film aufgefangen werden, z. B. durch geringes Defokussieren des Objektivs. Anstelle von Okularen benutzt man heute vorzugsweise **Projektive**, die speziell für die Mikrofotografie gerechnet sind und das optisch nachteilige Defokussieren des Objektivs überflüssig machen. Es gibt auch spezielle mikrofotografische Lupenobjektive für Aufnahmen mit geringem Abbildungsmaßstab; sie werden ohne Projektiv bzw. Okular verwendet, d. h. als einstufig vergrößernde Systeme, übertreffen zweistufige Systeme (schwaches Objektiv + Projektiv) in der Bildqualität, sind aber für direktes Beobachten ungeeignet.

Auf dem Markt wird eine Vielzahl mikrofotografischer Einrichtungen angeboten. Sie reichen von sehr einfachen Aufbauten bis zu mikroprozessorgesteuerten Geräten, die die Belichtungszeiten automatisch regeln und eine Anzahl weiterer mikrofotografischer Bedingungen berücksichtigen. Auf diese kostspieligen Automaten soll hier nicht näher eingegangen werden. In Abb. 6 sind einfache und anspruchsvollere Geräte dargestellt, mit denen alle mikrofotografischen Aufgaben bewältigt werden können. Eine apparativ einfache Lösung zeigt Abb. 6 A. Jedes Mikroskop mit normalem Tubusdurchmesser und jede Spiegelreflexkamera mit abnehmbarer Optik sind in dieser Kombination verwendbar. Die Belichtungsuhr ermöglicht erschütterungsfreie Belichtung. Mit großem Vorteil verwendet man in einem solchen Aufbau eine handelsübliche Kamera mit Innenlichtmessung, die die Ausbeute an richtig belichteten Aufnahmen wesentlich erhöht.

Um das Bildfeld gleichmäßig auszuleuchten, muß das Beleuchtungsprinzip nach Köhler (Reg. 12) eingehalten werden.

Mikroskopische Präparate werden zweckmäßig mit sehr feinkörnigem Film fotografiert. Bei Aufnahmen mit Achromaten (vorteilhafter mit Planachromaten) auf panchromatischem Film (für alle Farben etwa gleich empfindlich) verwendet man Gelbgrünfilter. Bei Schwarzweißaufnahmen von gefärbten Präparaten kann der Kontrast durch sinnvoll ausgewählte Farbfilter beeinflusst werden.

Für Farbaufnahmen sind Bedingungen einzuhalten, die Farbrichtigkeit gewährleisten: Anpassung der Farbtemperatur der Lichtquelle an die Sensibilisierung des verwendeten Films (Kunstlicht- oder Tageslichtfilm) durch Konversionsfilter (sonst Gelb-, seltener Blaustich), Korrektur farbverfälschender Wirkung der Mikroskopoptik durch Korrektionsfilter (sonst Gelbstich), Anpassung der Belichtungsdauer an die Erfordernisse des verwendeten Films (sonst Schwarzschild-Effekt). Man informiert sich zweckmäßig zuvor in einem Fachbuch für Foto- oder Mikrofototechnik.

2.4.3. Aufnahmetechnik

Alle mikrofotografischen Aufnahmen erfordern **erschütterungsfreie Aufstellung von Mikroskop und Kamera**. Schon kleinste Vibrationen bewirken bei hohen Vergrößerungen totale Bildunschärfe. Bei Einsatz einfacher Einrichtungen (Abb. 6A) möglichst Kamera vom Mikroskop trennen (z. B. Reprostativ oder Vergrößerungsstativ verwenden); selbst der Verschuß der Kamera kann bei kurzen Belichtungszeiten zu Bildunschärfen führen. Darum nach Möglichkeit die Mikroskopbeleuchtung mit Hilfe einer Belichtungsuhr steuern, um den Film zu belichten. Grob- und Feintrieb des Mikroskops müssen straff genug gehen, daß sie sich während der Aufnahme nicht von selbst verstellen.

Mit solchen einfachen Einrichtungen verfährt man zweckmäßig wie folgt:

- Einrichten des Präparates auf dem Mikroskoptisch.
- Wahl der geeigneten Optikkombination: Der Abbildungsmaßstab im beabsichtigten Endbild (z. B. vergrößertes Papierpositiv 9×12) soll im Bereich der förderlichen Vergrößerung liegen (vgl. S. 16); Berechnung des Abbildungsmaßstabes s. unter 2.4.4.).
- Scharfstellen und beleuchten nach Köhler (Reg. 12). Es ist schwierig, das mikroskopische

Bild auf der Mattscheibe der Kamera scharfzustellen, da sie im Verhältnis zu den abgebildeten mikroskopischen Strukturen sehr grobkörnig ist. Verschiedene Hilfsmittel (Klarglasfleck, aufgekitteter Deckglassplitter, Fettfleck, Lupenvorsatz, Fresnellinse oder ein spezielles Einstellfernrohr der mikrofotografischen Einrichtung) erleichtern das Einstellen.

- Ermittlung der Belichtungszeit: fotometrisch (z. B. bei Einrichtungen, die den Einsatz handelsüblicher Belichtungsmesser vorsehen, oder Innenmessung der Kamera ausnutzen) oder eine sogenannte Belichtungsreihe anfertigen. Belichtungszeit von Bild zu Bild jeweils verdoppeln, z. B. 0,5 – 1 – 2 – 4 – 8 sec. Meist liegt eine richtig belichtete Aufnahme in dem gewählten Bereich.
- Belichtung durchführen: Mikroskopierleuchte ausschalten – auf B oder T eingestellten Kameraverschluß mit (möglichst feststellbarem) **Drahtauslöser** öffnen – Erschütterungen (Verschluß, Pendeln des Drahtauslösers) abklingen lassen – mit Hilfe der Belichtungsuhr belichten – nach der Belichtung Verschluß mit Drahtauslöser wieder schließen, Film weitertransportieren.

2.4.4. Auswertung der Aufnahmen

Den belichteten Schwarzweißfilm nach den Vorschriften, die den Film- und Entwicklerpackungen beiliegen, entwickeln. Zu bevorzugen sind Fein- und Feinstkornentwickler. Die Wahl des Papiers für die Positivvergrößerung richtet sich nach der Qualität des Negativs und den fotografischen Absichten des Bildautors. Man entwickelt mit einem der üblichen Papierentwickler.

Für alle Aufnahmen sollten immer **ausführliche Protokolle** angefertigt und gesammelt werden. Man gewinnt auf diese Weise einen Fundus konservierter Erfahrungen, die bei zukünftigen fotografischen Vorhaben Filmmaterial und mit Mißerfolgen vertane Zeit einsparen. Bei Farbaufnahmen lohnen solche Protokolle selbst dann, wenn mit Automaten gearbeitet wird. Nicht auf das Gedächtnis verlassen! Schon nach kurzer Zeit lassen sich Einzelheiten nicht mehr hinreichend genau rekapitulieren.

Beispiel für ein Aufnahmeprotokoll:

Präparat:	genaue Angaben, s. S. 26 ff.
Optik:	z. B. Planachromat 40 × 0,65, Projektiv 3,2 : 1, Öffnungswert der Aperturblende: 11, Betriebsspannung der Lampe: 4,8 V, Kamera-Länge (= Abstand Projektivlinse – Filmebene: 125 mm)
Filter:	Grau-, Grün-, Kontrast-, gegebenenfalls Konversions- und Korrekturfilter; Typ, Dicke der Filter
Belichtungszeit:	z. B. 2 sec, mit Belichtungsuhr
Negativmaterial:	Firma, Filmtyp
Entwicklung:	Entwicklertyp, Verdünnung, Dauer, Temperatur

Berechnung des Abbildungsmaßstabes

Abbildungsmaßstab des Negativs =

$$\text{Vergr. d. Okulars} \times \text{Vergr. d. Objektivs} \times \frac{\text{optische Kameralänge in mm}}{250 \text{ (= deutl. Sehweite in mm)}}$$

oder

$$\text{Maßstabszahl d. Projektivs} \times 2 \times \text{Vergr. d. Objektivs} \times \frac{\text{optische Kameralänge in mm}}{250 \text{ (= deutl. Sehweite in mm)}}$$

bei der Arbeit mit Projektiven und der optischen Kameralänge 125 mm (mit der die Projektive optimale Bildscharfe liefern) vereinfacht sich die Rechnung:

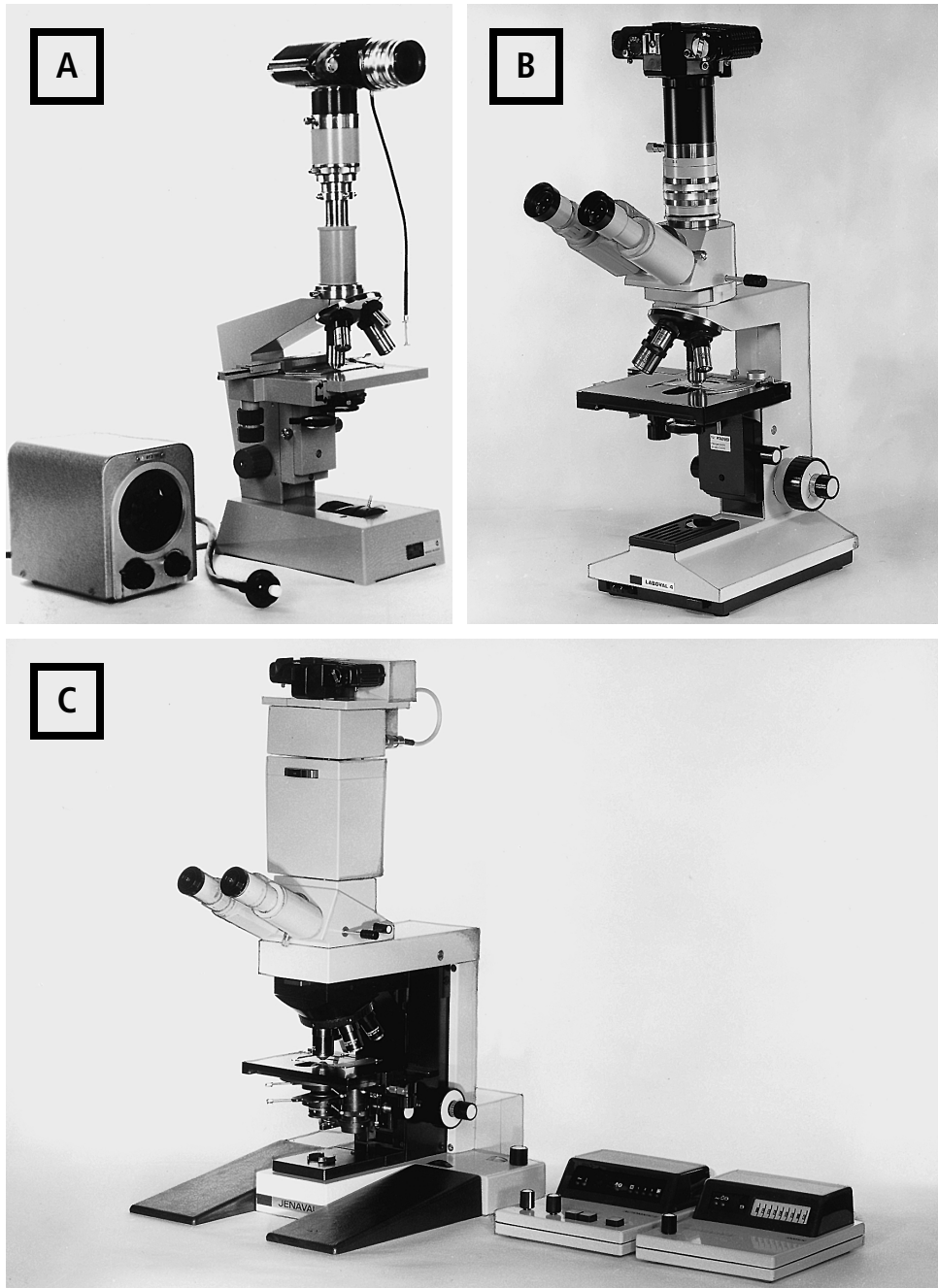


Abb. 6. Mikrofotografische Einrichtungen. **A:** Mikroskop mit aufgesetzter Kleinbildkamera, sehr einfache Variante; die Fotooptik ist über einen Lupeneinsatz als Einstellhilfe montiert, die Belichtung kann über die Dunkelkammer-Belichtungsuhr (links im Bild) ausgelöst werden. Fast alle Mikrofotos im praktischen Teil dieses Buches wurden mit einer ähnlichen Einrichtung hergestellt. **B:** Mikroskop mit einfacher Einrichtung zum Aufsetzen einer handelsüblichen Kleinbildkamera; Vorteile: Innenlichtmessung der Kamera kann ausgenutzt werden, um die Belichtungszeit zu

Abbildungsmaßstab des Negativs = Maßstabszahl des Projektivs $\times$ Vergrößerung des Objektivs

Beispiel: Projektiv 3,2 : 1; Objektiv 25 $\times$ /0,50; optische Kameralänge 150 mm

Abbildungsmaßstab des Negativs = $3,2 \times 2 \times 25 \times \frac{150}{250} = 96$. Schreibweise: 96 : 1, d.h., das Bild auf

dem Negativ ist 96 $\times$ größer als das Objekt. Die Nachvergrößerung des Negativs, z.B. zum Papierpositiv von 9 $\times$ 12, ergibt einen Abbildungsmaßstab des Positivs von ca. 370 : 1, der im Bereich der förderlichen Vergrößerung liegt.

2.5. Mikroskopische Längenmessung

Eine häufig angewendete Methode ist der Längenvergleich der zu vermessenden Struktur im mikroskopischen Bild mit dem Bild eines geeichten Maßstabes. Der Vergleichsmaßstab befindet sich auf einer **Okularmeßplatte** (= Glasscheibe mit Strichteilung), die auf die Sehfeldblende des Okulars gelegt und dadurch – unabhängig von dem verwendeten Objektiv – im Sehfeld abgebildet wird (bei Fehlsichtigkeit ist ein Okular mit stellbarer Augenlinse erforderlich!). Für jede Kombination Okular/Objektiv muß der Abstand zweier benachbarter Striche der Okularmeßplatte durch einen einmaligen Eichvorgang ermittelt werden, da dieses Maß jeweils in verschieden stark vergrößerte Objektbilder hineinprojiziert wird. Man eicht durch Vergleich des Okularmaßstabs mit einem weiteren Maßstab (= **Objektmeßplatte**: ein Objektträger mit eingravierter Strichteilung), dessen Maß genau bekannt ist (z.B. 1 mm in hundert Intervalle geteilt, 1 Intervall = 10 μ m) und der zu diesem Zweck an die Stelle des Objekts tritt. Dadurch wird die Länge eines Intervalls in der Okularmeßplatte für jede einzelne Okular/Objektiv-Kombination bestimmt (= Mikrometerwert). Über den Eichvorgang s. Reg. 89.

Die Okularmeßplatte muß für jede Okular/Objektiv-Kombination geeicht werden! Auch Okulare und Objektive mit dem gleichen Vergrößerungsfaktor stimmen in ihrer Eigenvergrößerung nicht genau überein (beim Auswechseln der Optik muß der Mikrometerwert neu bestimmt werden!). Die auf den Objektiven und Okularen eingravierten Maßstabszahlen bzw. Lupenvergrößerungen geben meist nur den garantierten Mindestwert an.

bestimmen, Lage des visuellen und des Filmbildes sind konjugiert (im Okular scharf erscheinendes Bild ist auch in der Filmebene scharf), optische Kameralänge immer 125 mm. C: Mikroskop mit mikrofotografischer Einrichtung für hohe Ansprüche: automatische Regelung der Belichtungszeit, automatischer Filmtransport, automatische Dateneinbelichtung, Projektivrevolver, universelle Um- und Ausbaufähigkeit. Fotos: Zeiss-Werke Jena.

Pflanzenanatomisches Praktikum I
Zur Einführung in die Anatomie der Vegetationsorgane
der Samenpflanzen

Braune, W.; Leman, A.; Taubert, H.
2007, II, 368 S. 119 Abb., Softcover
ISBN: 978-3-8274-2289-7