

Stahl-Biskup / Reichling

Anatomie und Histologie der Samenpflanzen

Mikroskopisches Praktikum
für Pharmazeuten

4. AUFLAGE



Deutscher
Apotheker Verlag

Stahl-Biskup / Reichling

Anatomie und Histologie der Samenpflanzen

Mikroskopisches Praktikum für Pharmazeuten

Elisabeth Stahl-Biskup, Hamburg

Jürgen Reichling, Heidelberg

4., völlig neu bearbeitete Auflage

Mit 200 Abbildungen und 11 Tabellen



Deutscher
Apotheker Verlag

Anschriften der Autoren

Prof. Dr. Elisabeth Stahl-Biskup

Bei der Lutherbuche 29
22529 Hamburg

Prof. Dr. Jürgen Reichling

Keplerstr. 33
69207 Sandhausen

Alle Angaben in diesem Buch wurden sorgfältig geprüft. Dennoch können die Autoren und der Verlag keine Gewähr für deren Richtigkeit übernehmen.

Ein Markenzeichen kann markenrechtlich geschützt sein, auch wenn ein Hinweis auf etwa bestehende Schutzrechte fehlt.

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet unter <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Jede Verwertung des Werkes außerhalb der Grenzen des Urheberrechtsgesetzes ist unzulässig und strafbar. Das gilt insbesondere für Übersetzungen, Nachdrucke, Mikroverfilmungen oder vergleichbare Verfahren sowie für die Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen.

4., völlig neu bearbeitete Auflage 2016

ISBN 978-3-7692-6118-9 (Print)

ISBN 978-3-7692-6567-5 (E-Book, PDF)

© 2016 Deutscher Apotheker Verlag
Birkenwaldstr. 44, 70191 Stuttgart
www.deutscher-apotheker-verlag.de

Printed in Germany

Satz: primustype Hurler GmbH, Notzingen
Druck und Bindung: Druckerei Kohlhammer, Stuttgart
Umschlagabbildung: Prof. Dr. Elisabeth Stahl-Biskup
Umschlaggestaltung: deblik, Berlin

Vorwort

Die Motivation zu diesem Buch erwuchs vor über fünfzehn Jahren aus unserer langjährigen Erfahrung als Hochschullehrer in den mikroskopischen Praktika des Pharmaziestudiums. Wir mussten feststellen, dass die Studierenden der ersten Semester nur geringe Pflanzenkenntnisse haben; im Mikroskopieren geübt sind nur Einzelne.

Dieses Buch will die unterschiedliche Vorbildung der Studierenden ausgleichen und ein Basiswissen über Morphologie, Anatomie und Histologie der Samenpflanzen vermitteln. Darauf aufbauend will es einen möglichst großen Gewinn aus den praktischen Übungen – unabhängig von der individuellen zeichnerischen Begabung – ermöglichen. Zu Beginn werden die lichtmikroskopischen Strukturen der pflanzlichen Zelle beleuchtet, dann die Gestalt und Funktion der verschiedenen Gewebe; anschließend wendet sich das Buch der Anatomie und Histologie der Pflanzenorgane zu. Als solche werden Spross und Wurzel sowie die zur Reproduktion wichtigen Pflanzenteile wie Blüte, Frucht und Samen behandelt.

Jedes Kapitel beginnt mit einem theoretischen Teil. Er soll es den Studierenden ermöglichen, den notwendigen Lehrstoff zu rekapitulieren, vorhandene Lücken zu schließen und offene gebliebene Fragen zu beantworten. Den Studierenden die Pflanze als „Lebewesen“ und somit als Einheit aus Struktur und Funktion verständlich zu machen, war dabei unser Anliegen. Im jeweils anschließenden praktischen Teil werden die Objekte, die Präparation und die mikroskopische Beobachtung detailliert beschrieben. Dadurch sollen die Studierenden in die Lage versetzt werden, die Aufgaben weitgehend selbstständig zu erledigen. Das Mikroskopieren, d. h. das Sehen und Erkennen mikroskopisch kleiner Strukturen und deren zeichnerische Übertragung, wird durch ein ausführliches Kapitel über Mikroskopie und Zeichentechnik erleichtert. Die Zahl der ausgewählten praktischen Aufgaben ist bewusst höher gewählt als in dem zeitlichen Rahmen, den die Approbationsordnung

den mikroskopischen Praktika einräumt, zu bewältigen ist. Damit legen wir es in die Hand der Lehrenden, aus dem Angebot ein entsprechendes Programm zusammenzustellen.

Wir halten es für wichtig, dass schon im botanischen Grundpraktikum der Bezug zur pflanzlichen Droge hergestellt wird. Aus diesem Grund wurden als Objekte, so weit möglich, Arzneipflanzen ausgewählt. Diesem Anliegen dient auch in jedem Kapitel ein Abschnitt zur Mikroskopie pulverisierter Drogen. Die Auswahl der Drogenpulver erfolgte allein nach Kriterien der zur mikroskopischen Analytik wichtigen Strukturelemente und nicht nach der therapeutischen Aktualität der Drogen.

Die Konzeption unseres Praktikumsbuches hat sich bewährt, die hohe Nachfrage ermöglicht nun schon die 4. Auflage. Der Text wurde sorgfältig überarbeitet und mit den neuen Erkenntnissen zur Morphologie und Histologie abgeglichen. Erstmals wurden neben den bewährten Schwarz-Weiß-Abbildungen auch farbige mikroskopische Schnittbilder in das Buch aufgenommen. Durch die farbliche Abgrenzung der verschiedenen Zellen und Gewebe sind diese für die Studierenden in ihrer Lage und Struktur besser erkennbar. Farbliche Diskrepanzen lassen sich allerdings nicht vermeiden und müssen in Kauf genommen werden. Die taxonomischen Bezeichnungen auf Art-, Gattungs- und Familienebene wurden aktualisiert und den derzeit anerkannten Abstammungserkenntnissen angepasst. Nur in wenigen Fällen – um eine unnötige Verwirrung bei den Studierenden zu vermeiden – haben wir die Pflanzennamen des Europäischen Arzneibuches 8.0 übernommen (z. B. *Matricaria recutita* L. anstelle des derzeit gültigen Namens *Matricaria chamomilla* L.).

Die Approbationsordnung für Apotheker sieht das Erlernen mikroskopischer Fertigkeiten nach wie vor als einen Bestandteil des Studiums vor. Auch in der Ausbildung der Pharmazeutisch-technischen Assistenten wird darauf großen Wert gelegt. Wer sonst soll diese wichtige Arbeit der Qualitätskontrolle pflanzlicher Dro-

gen leisten? Das Buch ist aber nicht nur für die pharmazeutische Praxis ausgelegt, sondern soll im Verbund mit anderen Kurs- und Vorlesungsangeboten das Interesse an Botanik und Allgemeiner Biologie wecken.

Dr. Anke Heisig, Hamburg, danken wir für die kritische und konstruktive Durchsicht der theoretischen Textteile, dem Deutschen Apotheker Verlag danken wir wiederum für seine gute Unterstützung und die hervorragende Zusammenarbeit.

Hamburg und Heidelberg, Elisabeth Stahl-Biskup
im Herbst 2015 Jürgen Reichling

Inhaltsverzeichnis

Vorwort.....	V
1 Die Technik des Mikroskopierens	1
1.1 Aufbau des Mikroskops und Strahlengang.....	1
1.1.1 Okular	1
1.1.2 Objektive.....	2
1.1.3 Kondensator.....	2
1.1.4 Strahlengang.....	3
1.2 Handhabung des Mikroskops.....	4
1.2.1 Einstellen des mikroskopischen Bildes.....	4
1.2.2 Die Beobachtung.....	5
1.2.3 Benutzung von Immersionsobjektiven.....	5
1.2.4 Mikroskopieren im polarisierten Licht.....	5
1.2.5 Mikroskopische Messungen.....	5
1.2.6 Pflege des Mikroskops.....	6
1.2.7 Fehler beim Mikroskopieren.....	6
1.3 Das Schneiden und Präparieren der Objekte.....	6
1.3.1 Präparative Hilfsmittel.....	6
1.3.2 Schnittrichtungen.....	7
1.3.3 Handgefertigte Schnitte.....	8
1.3.4 Präparation von pulverisierten Drogen.....	10
1.4 Histochemische Nachweise auf dem Objektträger.....	11
1.5 Mikroskopisches Zeichnen.....	12
1.5.1 Übersichtszeichnungen.....	12
1.5.2 Detailzeichnungen.....	12
1.5.3 Beschriftung.....	13
1.5.4 Zeichenfehler.....	13
1.6 Färbemethoden und Reagenzien.....	14
2 Die pflanzliche Zelle	18
2.1 Die Entdeckung der Zelle	18
2.2 Lichtmikroskopische Strukturen der pflanzlichen Zelle.....	20
2.2.1 Cytoplasma.....	20
2.2.2 Zellkern.....	21
2.2.3 Plastiden.....	21
2.2.4 Mitochondrien.....	22
2.2.5 Vakuole.....	23
2.2.6 Reservestoffe und Kristalle.....	23
2.2.7 Zellwand.....	24
2.2.8 Interzellularen.....	29

2.3	Kriterien des Lebens im Lichtmikroskop	29
2.3.1	Plasmaströmung.....	29
2.3.2	Plasmolyse.....	29
2.4	Praktische Aufgaben	30
2.4.1	Die Zelle im Lichtmikroskop	30
2.4.2	Kriterium Leben – Plasmaströmung	31
2.4.3	Kriterium Leben – Plasmolyse/Deplasmolyse	32
2.4.4	Der Zellkern – Kernteilung (Mitose).....	33
2.4.5	Plastiden – Chloroplasten	35
2.4.6	Plastiden – Chromoplasten.....	35
2.4.7	Plastiden – Amyloplasten	37
2.4.8	Reservestoffe – Stärke	38
2.4.9	Reservestoffe – Inulin	39
2.4.10	Kristalle – histochemischer Nachweis von Calciumoxalat	40
2.4.11	Formenvielfalt der Kristalle.....	41
3	Die pflanzlichen Gewebe	44
3.1	Bildungsgewebe (Meristem)	44
3.2	Grundgewebe (Parenchym)	45
3.3	Ausscheidungsgewebe (Exkretionsgewebe)	46
3.4	Abschlussgewebe	48
3.4.1	Primäre Abschlussgewebe	50
3.4.2	Sekundäre Abschlussgewebe.....	51
3.4.3	Tertiäres Abschlussgewebe	52
3.5	Festigungsgewebe	52
3.5.1	Kollenchym.....	52
3.5.2	Sklerenchym.....	53
3.6	Leitgewebe	54
3.6.1	Xylem	54
3.6.2	Phloem.....	55
3.6.3	Leitbündel.....	56
3.7	Praktische Aufgaben	57
3.7.1	Bildungsgewebe (Meristem) – Scheitelmeristem.....	57
3.7.2	Grundgewebe – Markparenchym	57
3.7.3	Das Aerenchym von Sumpf- und Wasserpflanzen	58
3.7.4	Exkretionsgewebe – Ölzellen.....	60
3.7.5	Exkretionsgewebe – lysigene Ölbehälter	60
3.7.6	Exkretionsgewebe – Lamiaceen-Drüzenschuppe	61
3.7.7	Exkretionsgewebe – Asteraceen-Drüzenschuppe	62
3.7.8	Exkretionsgewebe – Ätherische Öle in Drogen.....	63

3.7.9	Abschlussgewebe – Epidermis und Cuticula	65
3.7.10	Abschlussgewebe – Kurzzellenepidermis der Gräser	65
3.7.11	Haare – Auswüchse der Epidermis	66
3.7.12	Formenvielfalt der Haare	70
3.7.13	Brennhaare der Brennnessel	71
3.7.14	Lebendes Festigungsgewebe – Eckenkollenchym	72
3.7.15	Lebendes Festigungsgewebe – Plattenkollenchym	73
3.7.16	Lebendes Festigungsgewebe – Lückenkollenchym	73
3.7.17	Totes Festigungsgewebe – Sklerenchym und Steinzellen	74
3.7.18	Totes Festigungsgewebe – Sklerenchymfasern	74
3.7.19	Formenvielfalt des Sklerenchyms	76
3.7.20	Leitgewebe im Längsschnitt	77
4	Die Sprossachse	78
4.1	Morphologie der Sprossachse	78
4.1.1	Nodien, Internodien	78
4.1.2	Verzweigungsformen	79
4.2	Anatomie der primären Sprossachse	80
4.2.1	Sprossspitze	80
4.2.2	Die primäre Sprossachse im Querschnitt	81
4.2.3	Das sekundäre Dickenwachstum	83
4.3	Die sekundäre Sprossachse	84
4.3.1	Bast	84
4.3.2	Der Holzkörper	85
4.3.3	Sekundäres und tertiäres Abschlussgewebe	88
4.4	Wuchsformen und Sprossmetamorphosen	88
4.5	Praktische Aufgaben – Mikroskopie von Gewebeschnitten der Sprossachse	90
4.5.1	Der Sprossvegetationskegel – Scheitelmeristem	90
4.5.2	Die monokotyle Sprossachse – geschlossen kollaterales Leitbündel	91
4.5.3	Die primäre, dikotyle Sprossachse – offen kollaterales Leitbündel	93
4.5.4	Die sekundäre Sprossachse – sekundäres Dickenwachstum	94
4.5.5	Die sekundäre Rinde – Hartbast/Weichbast	96
4.5.6	Die sekundäre Rinde in der räumlichen Vorstellung	97
4.5.7	Periderm – sekundäres Abschlussgewebe	100
4.5.8	Das Holz der Gymnospermen in der räumlichen Vorstellung	101
4.5.9	Das Holz der Angiospermen in der räumlichen Vorstellung	104
4.5.10	Rhizom – konzentrisches Leitbündel	106
4.6	Praktische Aufgaben – Mikroskopie von pulverisierten Rindendrogen (Cortex)	108

4.7	Praktische Aufgaben – Mikroskopie von pulverisierten Holzdrogen (Lignum)	111
4.8	Praktische Aufgaben – Mikroskopie von pulverisierten Wurzelstockdrogen (Rhizoma)	112
5	Das Blatt	116
5.1	Morphologie der Laubblätter	116
5.1.1	Blattspreite	117
5.1.2	Blattstiel und Blattgrund	118
5.1.3	Nervatur	118
5.2	Blattfolge an der Sprossachse	119
5.3	Blattstellung	120
5.4	Anatomie des Laubblatts	121
5.4.1	Querschnitt des bifazialen Laubblatts	121
5.4.2	Querschnitte weiterer Blatt-Typen	124
5.5	Ökologische Anpassung und Blattmetamorphosen	125
5.6	Praktische Aufgaben – Mikroskopie von Gewebeschnitten des Blattes	126
5.6.1	Blatt – Spaltöffnungsapparat	126
5.6.2	Blatt – Spaltöffnungsapparat der Gräser	127
5.6.3	Blatt – Anatomie des bifazialen Laubblatts	128
5.6.4	Blatt – Xeromorphes Nadelblatt	129
5.7	Praktische Aufgaben – Mikroskopie von pulverisierten Blattdrogen (Folium)	132
5.8	Praktische Aufgaben – Mikroskopie von pulverisierten Krautdrogen (Herba)	136
6	Die Wurzel	140
6.1	Morphologie der Wurzel	140
6.2	Anatomie der Wurzel	141
6.2.1	Wurzelspitze	141
6.2.2	Die primäre Wurzel	142
6.2.3	Das sekundäre Dickenwachstum	144
6.3	Wurzelmetamorphosen	145
6.4	Praktische Aufgaben – Mikroskopie von Gewebeschnitten der Wurzel	146
6.4.1	Die Wurzelspitze	146
6.4.2	Die Wurzel der monokotylen Pflanzen	147
6.4.3	Die sekundäre Wurzel der dikotylen Pflanzen	149

6.5	Praktische Aufgaben – Mikroskopie von pulverisierten Wurzeldrogen (Radix).....	151
7	Die Blüte	155
7.1	Blütenstände.....	155
7.2	Blütenbau und Blattkreise	158
7.2.1	Blütenhülle.....	159
7.2.2	Androeceum.....	159
7.2.3	Gynoeceum.....	161
7.2.4	Blütendiagramme und Blütenformeln	163
7.3	Bestäubung.....	163
7.4	Praktische Aufgaben – Mikroskopie von Gewebeschnitten der Blüte .	165
7.4.1	Die Blüte in der Gesamtansicht.....	165
7.4.2	Blüte – Kronblatt.....	167
7.4.3	Androeceum – Feinbau der Anthere.....	168
7.4.4	Das coenokarpe Gynoeceum	169
7.5	Praktische Aufgaben – Mikroskopie von pulverisierten Blütendrogen (Flos).....	170
8	Samen und Frucht.....	174
8.1	Der Samen.....	174
8.1.1	Bildung der Samenanlage	174
8.1.2	Befruchtung.....	176
8.1.3	Bildung und Bau des Samens	176
8.2	Die Frucht	179
8.2.1	Einzelfrüchte	179
8.2.2	Sammelfrüchte	181
8.2.3	Fruchtstände	182
8.3	Verbreitung von Samen und Früchten	182
8.4	Praktische Aufgaben – Mikroskopie von Gewebeschnitten des Samens und der Frucht	182
8.4.1	Der Samen – Bau der Samenschale (Testa)	182
8.4.2	Frucht mit Samen – die Achäne der Apiaceae.....	184
8.4.3	Frucht mit Samen – die Karyopse der Gräser.....	187
8.5	Praktische Aufgaben – Mikroskopie von pulverisierten Samen- und Fruchtdrogen (Semen; Fructus).....	188
	Literatur.....	194
	Bildnachweis	194
	Sachregister	195
	Die Autoren.....	203

1 Die Technik des Mikroskopierens

1.1 Aufbau des Mikroskops und Strahlengang

Im botanisch-mikroskopischen Praktikum wird meist eine Hellfeld-Durchlichtmikroskopie angewendet. In **Abb. 1.1** ist ein solches Kursmikroskop dargestellt. An einem stabilen Stativkörper (Tubusträger), der auf einem Stativfuß mit Beleuchtungseinheit ruht, sind der Objektstisch, der Tubus und der Objektivrevolver mit den Objektiven angebracht. Auf dem Tubus sitzt das Okular. Im vorliegenden Fall handelt es sich um ein Gerät mit Binokulartubus. Einfachere Kursmikroskope werden auch mit einem Monokulartubus angeboten.

1.1.1 Okular

Das Okular befindet sich am oberen Tubusende und ist dem Auge (lat. oculus = Auge) zugewandt. Es besteht aus einfachen Linsen und erfüllt die Funktion einer Lupe, die das vom Objektiv entworfene reelle Zwischenbild noch einmal vergrößert. Die Eigenvergrößerung ist jedem Okular aufgraviert; üblich sind Kompensationsokulare mit einer Vergrößerung von $8\times$, $10\times$ oder $12,5\times$. Für besondere Methoden stehen spezielle Okulare, wie z.B. Messokulare, Zeigerokulare, Zeichenokulare und Kompensations-Planokulare, zur Verfügung.

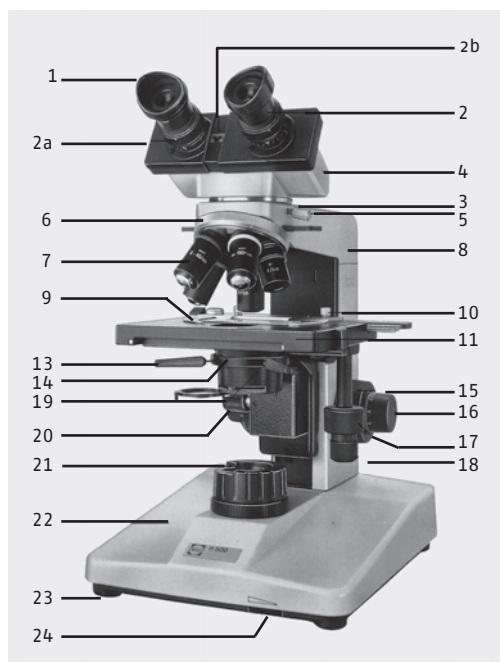


Abb. 1.1 Binokulares Kursmikroskop: 1 Okulare, 2 Okularstutzen, 2a Griffleisten zum Einstellen auf Augenabstand, 2b Skala für Augenbasis, 3 Ringschwalbe, 4 Schrägtubus, 5 Feststellschraube für Tubus, 6 Objektivrevolver, 7 Objektive, 8 Stativrücken, 9 Präparathalter, beweglich, 10 Präparathalter, starr, 11 Kreuztisch mit Noniusteilung, 13 Zentrierschraube für Kondensator, 14 Kondensatorhalter, 15 Grobtrieb, 16 Feintrieb, 17 Objektischbewegung, vertikal, 18 Objektischbewegung, horizontal, 19 Kondensator-Höhenverstellung, 20 Kondensator, 21 Beleuchtungskopf (Leuchtfeld), 22 Stativfuß, 23 Gummifüße für Rutschfestigkeit, 24 Dimmer für Beleuchtung (aus Jung)

1.1.2 Objektive

Objektive sind hochwertige Linsensysteme, die sich dem Objekt zugewandt am unteren Tubusende befinden. Üblicherweise sind drei oder vier Objektive unterschiedlicher Vergrößerung in einen beweglichen **Objektivrevolver** eingeschraubt, mit Hilfe dessen die Objektive nacheinander in den Strahlengang eingeschwenkt werden können. Die verschiedenen Objektive sind so aufeinander abgestimmt, dass das Objekt nach einem Objektivwechsel scharf eingestellt bleibt oder die Schärfe nur geringer Korrektur bedarf.

Für Kurs- und Labormikroskope verwendet man gewöhnlich **Achromatobjektive** (Achromate), die aus verschiedenen Linsen zusammengesetzt und für die Farben grün und gelb farbkorrigiert sind. Die Objektive müssen der Tubuslänge angepasst sein, die heutzutage meist auf 160 mm genormt ist. Jedes Objektiv verlangt eine bestimmte Deckglasdicke, meist 0,17 mm. Zur Unterscheidung und Kennzeichnung tragen Objektive eine Kurzbeschriftung. In der oberen Reihe ist die mechanische Tubuslänge und die zu verwendende Deckglasdicke jeweils in Millimeter eingraviert; in der Reihe darunter die Eigenvergrößerung (Maßstabzahl) und die numerische Apertur (z. B. 160/0.17–20/0.40).

Multipliziert man die Eigenvergrößerung des jeweiligen Objektivs mit derjenigen des Okulars, so erhält man die tatsächliche **Gesamtvergrößerung** (▣ Tab. 1.1).

Mit Rücksicht auf das Auflösungsvermögen des Auges müssen bei der Kombination von Objektiv und Okular die Bedingungen der sog. nutzbaren oder **förderlichen Vergrößerung** ein-

gehalten werden, da nur dann das Leistungsvermögen des optischen Systems voll ausgeschöpft werden kann. Die förderliche Vergrößerung ist erreicht, wenn die Gesamtvergrößerung das 500-fache bis 1000-fache des Aperturwertes beträgt. Bei einem Aperturwert von 1,25 läge die förderliche Vergrößerung zwischen der 625-fachen und der 1250-fachen Vergrößerung.

Das Medium zwischen Objekt und Objektiv ist auch Bestandteil der abbildenden Optik. Dort befindet sich das Deckglas und bei den **Trockenobjektiven** Luft. Zur Untersuchung kleinster Strukturelemente werden sog. **Immersionsobjektive** verwendet. Bei diesen wird der Raum zwischen Frontlinse und Deckglas mit einer **Immersionsflüssigkeit** ausgefüllt, deren Brechungsindex gleich oder ähnlich dem von Glas ist. Beim Übertritt des Lichtes vom Deckglas zur Immersionsflüssigkeit finden deshalb keine oder nur sehr geringe Brechungen der Lichtstrahlen statt. Außerdem bricht die Immersionsflüssigkeit das Licht viel günstiger als Luft, wodurch mehr Lichtstrahlen als bei den Trockenobjektiven zum Objektiv gelangen.

1.1.3 Kondensator

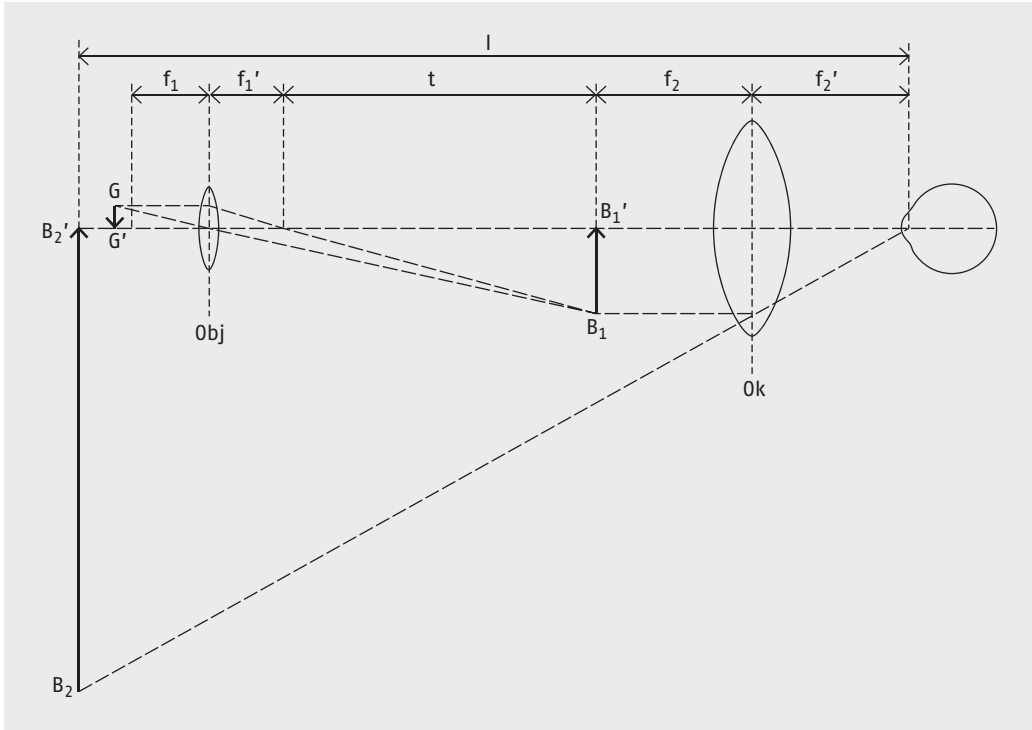
Der Kondensator bündelt die Strahlen der Lichtquelle und leuchtet so das Objekt optimal aus. Er besteht aus der Kondensorlinse, der Irisblende (Kondensorblende oder Aperturblende) und einem Filterhalter, in den Grau-, Farb- oder Polarisationsfilter eingelegt werden können. Ist der Kondensator beweglich eingebaut, soll er bei der Hellfelddurchlichtmikroskopie bis knapp unterhalb des Objektisches hochgedreht werden.

Achtung: Mit dem Abstand der Kondensorlinse sollte nicht die Bildhelligkeit reguliert werden. Diese verändert man durch Einlegen von Graufiltern oder an der Lichtquelle selbst, falls diese regulierbar ist.

Da Objektive verschieden große Öffnungswinkel haben, kann mit der **Irisblende** die Lichtöffnung dem jeweiligen Objektiv angepasst werden. Die Öffnungsweite der Irisblende beeinflusst die Tiefenschärfe, den Kontrast und das

▣ Tab. 1.1 Beispiele der Gesamtvergrößerung

Objektiv	Okular	Vergrößerung
10 ×	8	80-fach
10 ×	12,5	125-fach
40 ×	8	320-fach
40 ×	12,5	500-fach



• **Abb. 1.2** Strahlengang des Mikroskops: **Obj** Objektiv, **Ok** Okular, in der Abbildung sind beide Linsensysteme als einfache Linsen dargestellt, f_1, f_1' Brennweite des Objektivs, f_2, f_2' Brennweite des Okulars, t optische Tubuslänge, l Bezugssehweite, GG' Objekt, B_1B_1' umgekehrtes reelles Bild, B_2B_2' virtuelles Bild (aus Nultsch)

Auflösungsvermögen. Sie soll etwa zu zwei Drittel geöffnet sein. Man prüft dies, indem man das Okular herausnimmt und die Irisblende so weit schließt, bis man beim Hineinblicken in den Tubus die Hinterlinse des Objektivs nahezu ganz ausgeleuchtet sieht. Weiteres Schließen der Blende erhöht zwar die Tiefenschärfe, vermindert jedoch das Auflösungsvermögen.

1.1.4 Strahlengang

Der Strahlengang ist in • Abb. 1.2 wiedergegeben. Das Objektiv erzeugt vom Objekt GG' ein vergrößertes, umgekehrtes und seitenvertauschtes reelles Zwischenbild B_1B_1' in der Brennebene des Okulars (1. Vergrößerungsstufe). Das Zwischenbild B_1B_1' wird durch das Okular, das als Lupe wirkt, noch einmal vergrößert (2. Vergrößerungsstufe). Das entstehende virtuelle Bild B_2B_2' liegt für das Auge im Unendlichen und

kann mit entspanntem, auf unendlich akkommodiertem Auge betrachtet werden.

Die **Vergrößerung** V errechnet sich aus der Bezugssehweite (25 cm), der optischen Tubuslänge und den Brennweiten von Objektiv und Okular nach folgender Formel:

$$V = \frac{l \times t}{f_1 \times f_2}$$

| l = Bezugssehweite (hier 25 cm) | t = optische Tubuslänge | f_1 = Brennweite des Objektivs | f_2 = Brennweite des Okulars.

Das **Auflösungsvermögen** d bezeichnet den Abstand zwischen zwei Objektpunkten, die gerade noch getrennt wahrgenommen werden. Es ist ausschließlich von den Eigenschaften des Objektivs abhängig, nicht von denen des Okulars. Es berechnet sich aus der Wellenlänge der benutzten Strahlung, dem Brechungsindex des

Mediums zwischen Objekt und Objektiv und dem Öffnungswinkel α der Objektivlinse nach folgender Formel:

$$d = \frac{\lambda}{n \times \sin \alpha}$$

$|\lambda = \text{Wellenlänge der benutzten Strahlung} | n = \text{Brechungsindex des Mediums zwischen Objekt und Objektiv} | \alpha = \text{halber Öffnungswinkel der Objektivlinse, gemessen von der optischen Achse bis zum äußeren Rand des vom Objektiv aufgenommenen Lichts (Grenzstrahl).}$

Der Nenner des Bruchs $[n \times \sin \alpha]$ wird als **numerische Apertur** bezeichnet. In der Praxis erreicht die numerische Apertur von Trockenobjektiven mit Deckglas ($n = 1,52$) und Luft ($n = 1,00$) als Medium einen Wert von 0,95. Sie erhöht sich bei Verwendung von Immersionsobjektiven mit Deckglas ($n = 1,52$) und Immersionsflüssigkeit ($n = 1,52$) als Medium auf einen Wert von 1,4 (● Abb. 1.3). Entsprechend der Formel gilt, je höher die numerische Apertur, umso besser ist das Auflösungsvermögen.

1.2 Handhabung des Mikroskops

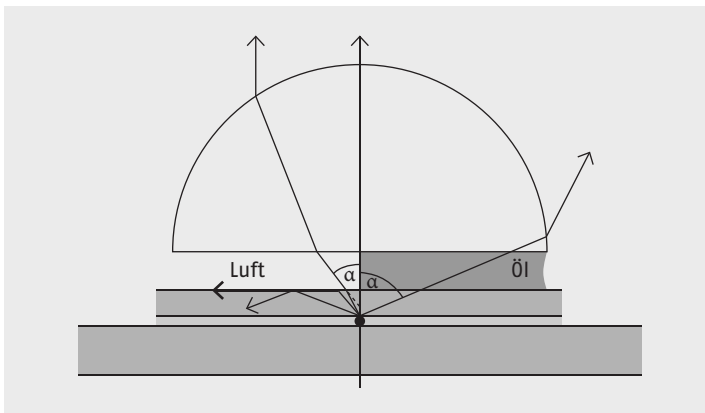
1.2.1 Einstellen des mikroskopischen Bildes

Der Objektträger mit dem darauf präparierten Objekt wird auf dem **Objekttisch** fixiert. Zunächst wird das Objektiv mit der kleinsten Vergrößerung in den Strahlengang eingeschwenkt.

Um den richtigen Arbeitsabstand zwischen Frontlinse und Deckglas einzustellen, hebt man den Objektisch mittels **Grobtrieb** solange in Richtung Objektiv an, bis die Strukturen im Präparat sichtbar werden. Das Scharfstellen oder **Fokussieren** erfolgt dann mittels **Feintrieb**.

Vorsicht: Durch zu ungestümes Drehen am Grobtrieb setzt das Objektiv schnell auf dem Deckglas auf, wodurch das Präparat oder – schlimmer – die Frontlinsen der Objektive beschädigt werden können. Besondere Vorsicht ist bei stark vergrößernden Objektiven (40:1) angezeigt, da in diesem Fall der Arbeitsabstand zwischen Objektiv und Deckglas nur Bruchteile von Millimetern beträgt.

Erscheint nach Scharfeinstellung das Objekt überstrahlt bzw. nicht kontrastreich genug, so kann die Irisblende etwas zugezogen werden. Beim Absuchen des Objektes müssen die Unebenheiten des Objekts ständig durch Bewegen des Feintriebs ausgeglichen werden. Der gewünschte Bereich wird genau in der Mitte des Gesichtsfelds positioniert und scharf gestellt. Erst dann kann die nächste Vergrößerungsstufe eingestellt werden. Dabei wird durch Drehen des Objektivrevolvers das nächst längere Objektiv in den Strahlengang geschwenkt. Bei Anfängern ist es angeraten, beim Einschwenken stärkerer Objektive den Vorgang durch seitliches Betrachten zu verfolgen. So kann verhindert werden, dass beim Heben des Objektisches die



● **Abb. 1.3** Strahlengang durch Deckglas und Frontlinse: linke Seite: Trockenobjektiv, rechte Seite: Immersionsobjektiv (aus Nultsch)

Frontlinse des Objektivs durch das Deckglas beschädigt wird.

1.2.2 Die Beobachtung

Um beim Mikroskopieren ein schnelles Ermüden des betrachtenden Auges zu vermeiden, muss „entspannt“ beobachtet werden. Der optimale Abstand vom Auge zum Okular ist erreicht, wenn das Sehfeld möglichst groß und scharf begrenzt erscheint. Bei Mikroskopen mit Monokulartubus sollte das nicht beobachtende Auge nicht zugekniffen werden, sondern offen bleiben.

Beachte: Um dem Auge die ermüdende Arbeit des Akkommodierens abzunehmen, wird beim Mikroskopieren ständig der Feintrieb des Mikroskops leicht hin- und hergedreht! Durch diese minimale Höhenverstellung gleicht man auch die geringe Tiefenschärfe der Objektive aus.

1.2.3 Benutzung von Immersionsobjektiven

Zunächst wird das Präparat wie beschrieben mit den zur Verfügung stehenden Trockenobjektiven betrachtet. Soll eine weitere Vergrößerung unter Verwendung eines Immersionsobjektivs erfolgen, wird mit einer Tropfflasche ein Tropfen der Immersionsflüssigkeit (Immersionsöl, Methylbenzoat, Glycerol) genau über dem Objekt auf das Deckglas gegeben. Anschließend wird das Immersionsobjektiv in den Strahlengang eingeschwenkt und durch die Immersionsflüssigkeit ein Kontakt zwischen Objektivlinse und Deckglas hergestellt.

Achtung: Wird das Bild während der Betrachtung unscharf, dann ist die Verbindung zwischen Objektivlinse und Deckglas abgerissen! Nach dem Mikroskopieren muss die Frontlinse des Objektivs sofort mit einem mit Xylol oder Leichtbenzin getränkten Baumwolltuch gereinigt werden.

Vorsicht: Immersionsobjektive können nicht als Trockenobjektive verwendet werden; Trockenobjektive dürfen nicht mit Immersionsflüssigkeit in Kontakt kommen.

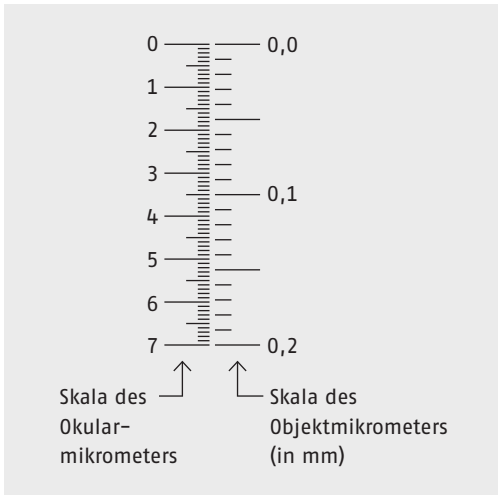
1.2.4 Mikroskopieren im polarisierten Licht

Sollen die Natur von Kristallen bestimmt oder sonstige gerichtete, anisotrope Strukturelemente sichtbar gemacht werden, ist das Mikroskopieren im polarisierten Licht sehr vorteilhaft. Zwischen gekreuzten **Polarisationsfiltern** leuchten die Kristalle im sonst dunklen Objekt hell auf. Somit sind auch kleinste Kristalle gut zu erkennen. Auch Stärkekörner als radial angeordnete Kristallite fallen infolge ihrer Doppelbrechung auf; man sieht das schwarz-weiße Polarisationskreuz. Ähnliche Effekte zeigen auch andere gerichtet aufgebaute Zellstrukturen, wie z. B. die gestreckten Cellulosefasern der Zellwand.

Zum „Umrüsten“ eines normalen Mikroskops benötigt man zwei Polarisationsfilter, einen **Polarisator** und einen **Analysator**. Der Polarisator wird in den Filterhalter des Kondensors gelegt, den Analysator setzt man entweder auf das Okular oder, wenn vorhanden, in eine spezielle Halterung im Tubus zwischen Objektiv und Okular. Unter Beobachtung dreht man den Analysator oder den Polarisator bis zur maximalen „Dunkelheit“ (minimale Lichtdurchlässigkeit) des Bildfelds. Dann stehen die beiden Schwingungsrichtungen der Filter um 90° gegeneinander verdreht (= gekreuzte Stellung). Die gerichteten gebauten Strukturen leuchten vor dem dunklen Hintergrund hell auf.

1.2.5 Mikroskopische Messungen

Die Längenmessung von Objekten erfolgt mit einem **Messokular** (Mikrometerokular). Es besitzt eine höhenverstellbare Augenlinse. Beim Durchschauen wird eine 100-Strich-Skala sichtbar, die durch Verschieben der Augenlinse scharf eingestellt werden kann. Zum Eichen benötigt man zusätzlich ein **Objektmikrometer**. Als solches bezeichnet man einen Objektträger, auf den ein 2 mm langer Maßstab, in Einheiten von 10 µm geteilt, eingeritzt ist. Damit wird der **Mikrometerwert** eines Mikrometerokulars bestimmt (● Abb. 1.4).



● **Abb. 1.4** Bestimmung des Mikrometerwerts: Objektmikrometer und Okularmikrometer werden zur Deckung gebracht (aus Frohne)

Durchführung: Zunächst werden die „0-Striche“ von Mikrometerokular und Objektmikrometer zur Deckung gebracht. Dann sucht man nach zwei weiteren in Deckung stehenden Skalenteilen. Kommen dabei, wie in ●Abb. 1.4, 70 Skalenteile des Mikrometerokulars mit $200\ \mu\text{m}$ des Objektmikrometers zur Deckung, so ist der Mikrometerwert für diese Okular-Objektiv-Kombination: $200\ \mu\text{m} : 70 = 2,8\ \mu\text{m}$. Wenn dann das zu messende Objekt 12 Skalenteile des Messokulars misst, errechnet sich seine Länge aus dem Produkt von 12 mit dem Mikrometerwert des Okulars ($12 \times 2,8\ \mu\text{m} = 38,6\ \mu\text{m}$). Der ermittelte Mikrometerwert gilt nur für die bei der Eichung verwendete Messokular-Objektiv-Kombination.

1.2.6 Pflege des Mikroskops

Ein Mikroskop ist ein Meisterwerk feinmechanischer Präzisionsarbeit und von entsprechendem Wert. Vom Zustand des Mikroskops und seines optischen Systems ist ganz wesentlich der Erfolg beim Mikroskopieren abhängig. Aus diesen Gründen ist es notwendig, nach jedem Gebrauch einige Reinigungsarbeiten vorzunehmen; sie nehmen nur wenige Minuten in Anspruch.

1. Die Oberfläche des Objektisches wird mit einem feuchten Lappen gereinigt. Reste von angetrocknetem Chloralhydrat oder von anderen Reagenzien müssen rückstandsfrei entfernt werden.
2. Okular (Wimperntusche!) und die Objektive (Chloralhydrat, Reagenzienreste!) werden mit einem feuchten Baumwolltuch durch Reiben mit leichtem Druck gereinigt. Anschließend muss gut nachgetrocknet werden. Trikotlappchen (nicht aus Kunstfaser) sind für die optischen Linsen besser geeignet als normale Gewebe.
3. Wenn Immersionsöl verwendet wurde, muss dieses unverzüglich von den Linsen des Kondensors und des Objektivs entfernt werden. Dazu benutzt man ein mit Xylol oder Leichtbenzin befeuchtetes, weiches Lappchen. Durch Reiben bei leichtem Druck wird das Immersionsöl beseitigt; mit einem trockenen Lappen wird nachgereinigt.
4. Die Linse des Kondensors muss wie die der Objektive gereinigt werden.

1.2.7 Fehler beim Mikroskopieren

Die häufigsten Fehler, die beim Mikroskopieren auftreten können, sind in ■Tab. 1.2 aufgeführt. Dem Anfänger sei vor allem geraten, die einzelnen Punkte vor Beginn des Praktikums genau durchzulesen. Dadurch können Frustrationen vermieden und die Motivation beim Mikroskopieren erhöht werden.

1.3 Das Schneiden und Präparieren der Objekte

1.3.1 Präparative Hilfsmittel

Zur mikroskopischen Ausrüstung gehören:

- ein Paket Objektträger ($76 \times 26\ \text{mm}$)
- eine Dose Deckgläser ($18 \times 18\ \text{mm}$)
- Rasierklingen (fabrikneu)
- zwei Präpariernadeln
- eine spitze Pinzette
- nicht fuselndes Baumwolltuch
- weicher, kleiner Haarpinsel

- Becherglas mit Glasstab für Wasser
- schmale Streifen Saug- bzw. Filtrierpapier
- feinkörniges Styropor

Die Objektträger und die Deckgläser müssen sauber sein und dürfen nur am Rand angefasst werden. Fingerabdrücke auf den Gläsern ver-

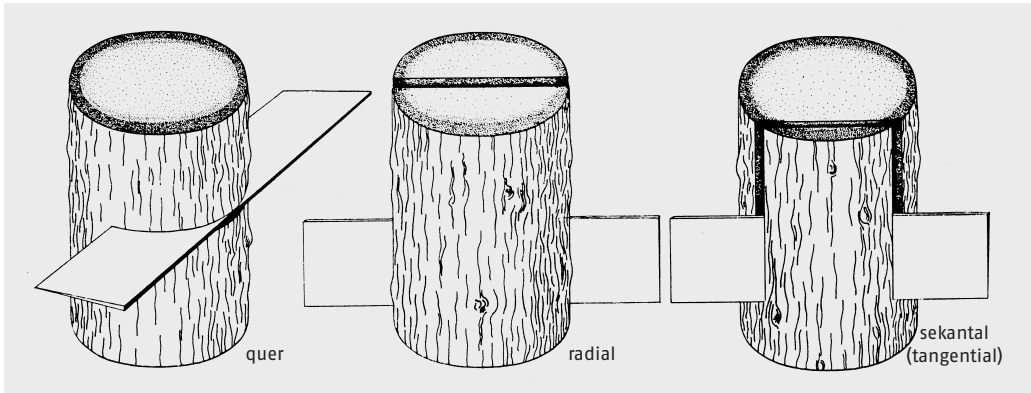
mindern die Qualität des mikroskopischen Bildes.

1.3.2 Schnittrichtungen

Die Schnittrichtung, in der ein Objekt geschnitten werden soll, hängt vom Beobachtungsziel ab. Die wichtigsten Schnittrichtungen sind Quer-

■ Tab. 1.2 Die häufigsten Fehler beim Mikroskopieren

Erscheinungen	Mögliche Ursachen
Bildfeld ist dunkel oder nur unvollständig ausgeleuchtet	Objektivrevolver nicht eingerastet; Kondensor nicht zentriert
Fokussieren führt zu Verschiebungen im Bild	Objekt schief geschnitten (Abhilfe: neuen Schnitt anfertigen); Objektivrevolver nicht richtig eingerastet; zwischen Deckglas und Frontlinse befindet sich Wasser
Bild sehr kontrastreich, Beugungsringe; Vortäuschung von Feinstrukturen	Irisblende zu weit geschlossen
Trübes Bild bei Verwendung von Trockenobjektiven	Deckglasdicke stimmt nicht; Frontlinse verschmutzt (Abhilfe: vgl. Pflege des Mikroskops); Wasser unter Deckglas verdunstet; Deckglas verschmutzt (Abhilfe: sauberes Deckglas verwenden); Okular beschlagen oder verschmutzt; Wasser zwischen Frontlinse und Deckglas
Bild sehr hell, Strukturfeinheiten werden überstrahlt	Irisblende zu weit geöffnet
Bildfeld nicht voll ausgeleuchtet, Rand dunkler	Irisblende nicht weit genug geöffnet
Bild dunkel und nicht gestochen scharf	Förderliche Vergrößerung überschritten; Okular hat zu starke Eigenvergrößerung
Dunkle, störende Ränder im Objekt	Luftblasen unter dem Deckglas (Abhilfe: Präparat mit Chloralhydrat kurz erhitzen oder neues Präparat herstellen)
Bei Verwendung des Immersionsobjektivs kein scharfes Bild, Objekte schwimmen weg	Objekt zu dick (Abhilfe: neue Schnitte anfertigen)
Beim Einstellen des Immersionsobjektivs schieben sich dunkle Schatten ins Bildfeld	Luftblasen im Immersionsöl (Abhilfe: Objektiv nochmals aus dem Immersionsöl heben, einen kleinen Tropfen Immersionsöl an die Frontlinse bringen, dann wieder eintauchen)
Beim Einstellen des Immersionsobjektivs trübes Bild	Frontlinse verschmutzt (Abhilfe: vgl. Pflege des Mikroskops); Immersionsöl trüb; Immersionsflüssigkeit mit Wasser vom Deckglasrand vermischt (Abhilfe: neues Präparat)



● **Abb. 1.5** Schnittrichtungen: Querschnitt, radialer Längsschnitt und tangentialer Längsschnitt (nach Frohne)

schnitt, Längsschnitt und Flächenschnitt. Um sich eine Vorstellung vom räumlichen Aufbau eines Objekts oder eines Gewebes machen zu können, ist es hilfreich, verschiedene Schnittrichtungen zu betrachten und zu vergleichen. Wichtig ist, dass die Schnittrichtung immer sehr exakt ausgerichtet wird. Andernfalls ist das mikroskopische Bild untypisch und macht eine korrekte Interpretation des Objekts unmöglich.

Querschnitt

Der Querschnitt vermittelt einen guten Überblick über die Anordnung der Gewebe und die Gestalt der Zellen verschiedener Gewebetypen. Die Schnittführung erfolgt im rechten Winkel zur Hauptachse (● Abb. 1.5).

Achtung: Trotz größter Sorgfalt verläuft die Schnittebene nach einigen Schnitten zwangsläufig schräg. Die Schnittebene muss daher immer wieder kontrolliert und neu ausgerichtet werden!

Längsschnitte

Längsschnitte liefern in Ergänzung zum Querschnitt die zur räumlichen Vorstellung fehlende dritte Dimension. Sie werden parallel zur Längsachse des Organs geführt, wobei in zwei verschiedenen Ebenen geschnitten werden kann, die deutlich unterschiedliche Bilder liefern. Beim **radialen Längsschnitt** verläuft die Schnittebene durch die Mitte des Organs (● Abb. 1.5). Er eignet sich besonders gut zur Beobachtung

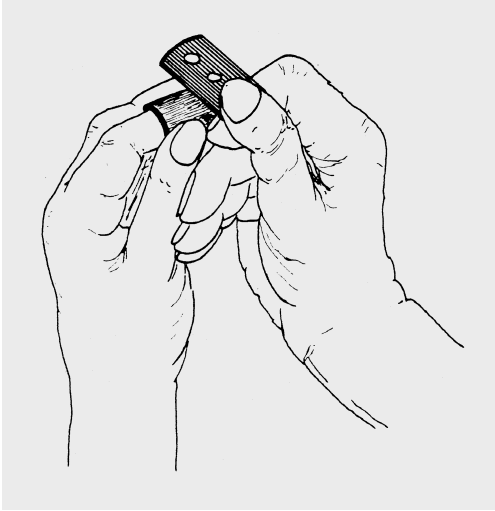
des Verlaufs der Holz- und Baststrahlen oder zur Analyse der Vegetationskegel von Spross und Wurzel. Beim **tangentialen Längsschnitt** verläuft die Schnittebene parallel zur Tangente (● Abb. 1.5). Aus dem Tangentialschnitt erhält man Informationen über den Durchbruch von Seitenwurzeln durch die Wurzelrinde sowie über die Größe von Markstrahlen und den Verlauf von Harzgängen.

Flächenschnitt

Diese Schnittrichtung wird vor allem bei Blättern angewendet. Hierzu werden die Blattspreiten mit Hilfe des Daumens und des Mittelfingers über den dazwischen liegenden Zeigefinger gespannt (● Abb. 1.6). Mit der Rasierklinge werden dann parallel zur Oberfläche des Blatts sehr dünne Gewebestücke abgehoben.

1.3.3 Handgefertigte Schnitte Vorbehandlung der Objekte

Frischpflanzen brauchen zum Schneiden meist nicht speziell vorbehandelt zu werden. Trockene Pflanzenteile, wie z. B. Rinde, Hölzer und Wurzeln, lassen sich leichter schneiden, wenn die Gewebe vorher in ein Gemisch aus gleichen Teilen Ethanol, Glycerol und Wasser eingelegt werden. Nach max. 24 h ist so viel Flüssigkeit in die trockenen Pflanzengewebe eingedrungen, dass sie weich sind und problemlos geschnitten werden können. Objekte können auch über einen langen Zeitraum in Ethanol 70 % aufbewahrt



● **Abb. 1.6** Handhaltung beim Flächenschnitt: Das weiche, biegsame Objekt (z. B. Blattfläche) wird über den Zeigefinger gelegt (nach Eschrich, aus Grünsfelder)

werden. Solche Objekte sind dann ohnehin weicher und lassen sich gut schneiden.

Schneidetechnik

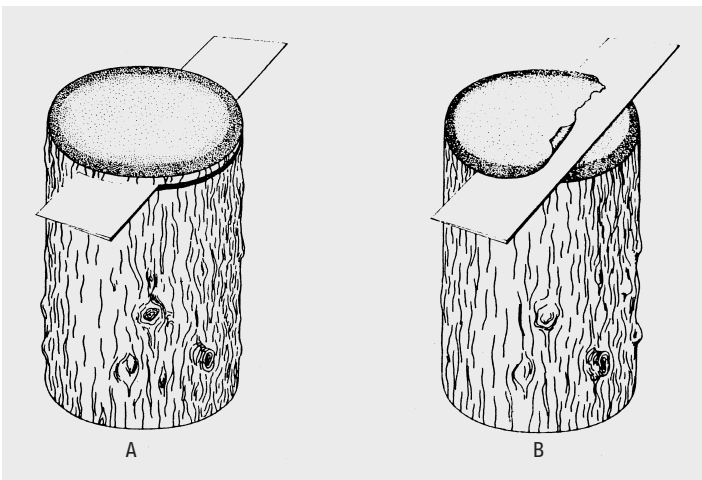
Wichtig: Vor dem Schneiden muss der Objektträger mit einigen Tropfen des Einbettungsmediums (Chloralhydrat oder Wasser) vorbereitet werden!

Das Objekt wird zunächst frisch angeschnitten, damit es in der gewünschten Ebene eine glatte Fläche aufweist (das muss sehr exakt sein!). Bei Verwendung von Styropor als Schneidehilfe sollte die Schnittfläche des Objektes möglichst mit der glatten Fläche des Styroporblöckchens abschließen. Nun folgt der sog. Glatt- oder Feinschnitt, der das fertige Präparat liefert. Die Rasierklinge wird auf der Schnittfläche aufgesetzt und in einem Zug zum Körper hin voll durchgezogen. Da man nicht erwarten kann, dass schon der erste Schnitt gelingt, müssen immer mehrere Schnitte angefertigt werden. Der dünnste Schnitt wird für die mikroskopische Untersuchung verwendet.

Beachte: Ein kontrollierter Schnitt kann immer nur zum Körper hin durchgeführt werden, niemals vom Körper weg. Die Rasierklinge sollte dabei nicht am Rand der Schnittfläche ansetzen, da hierbei der Schnitt meist zu dick ausfällt. Besser ist es, mit der Rasierklinge ganz flach in die Schnittfläche einzutauchen (● Abb. 1.7). Solche Schnitte sind gerade an den Rändern besonders dünn.

Anfertigen von Styroporblöckchen

Kleine, dünne Gewebestücke, wie z. B. Blattstücke, werden am besten in ein Styroporblöckchen fest eingeklemmt. Das Styropor muss so zu-



● **Abb. 1.7** Eintauchen in die Schnittebene bei der Anfertigung von Querschnitten: A für Übersichtszeichnungen, B für Detailzeichnungen (aus Frohne)