

## 1. EINFÜHRUNG

### 1. 1. DAS MIKROSKOPIEREN

#### 1. 1. 1. Bau und Handhabung des Mikroskops

Der Aufbau und die wichtigsten Bestandteile des Mikroskops sind aus Abb. 1 ersichtlich. Das **optische System**, bestehend aus **Leuchte**, **Kondensator** mit **Irisblende**, **Objektiv** und **Okular** liefert von dem im Präparat eingeschlossenes Objekt ein vergrößertes, seitenverkehrtes Bild. Die drei Objektive erlauben verschieden starke Vergrößerungen zu wählen: das Objektiv mit dem gelben Ring (10/0,22) ermöglicht zusammen mit einer 10-fachen Okularvergrößerung eine 100-fache Gesamtvergrößerung, das Objektiv mit dem blauen Ring (40/0,65) eine 600-fache Gesamtvergrößerung und das Objektiv mit dem weissen Ring (100x/ 1,25) eine 1000-fache Gesamtvergrößerung. **ACHTUNG!** Es ist ein Öl-objektiv!!

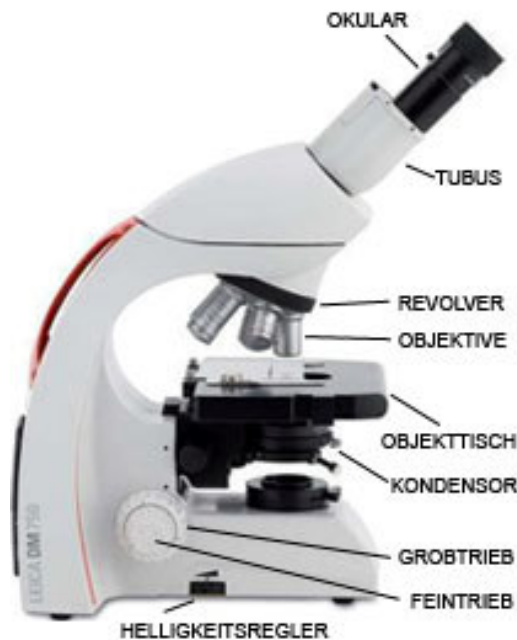


Abb. 1 Das Kurzmikroskop

• Zum Mikroskopieren wird das Mikroskop so aufgestellt, daß der Objektisch vor dem Stativ liegt und so dem Beobachter zugewandt ist (der geneigte Tubus mit dem Okular kann nach Lockern der rechts liegenden Rändelschraube nach vorne geschwenkt werden). Um den Okularabstand anzupassen, werden die Okulare so lange

zusammen oder auseinander bewegt, bis sie dem Augenabstand entsprechen.

• Nach dem Einschalten des Lichtes legt man das Präparat mit dem Deckglas nach oben so auf den Objektisch, daß das eingeschlossene Objekt genau über der Mitte der Kondensatorlinse zu liegen kommt und befestigt es mit den Präparateklammern. Die Helligkeit kann stufenlos geregelt werden. Bei den in den Übungen verwendeten Kurzmikroskopen ist eine Skaleneinstellung zwischen 6 und 8 empfehlenswert. Der Kondensator hat die Aufgabe, das Licht zu bündeln, wobei der Brennpunkt in der Präparateebene liegen soll. Das ist beim Kurzmikroskop dann der Fall, wenn sich der Kondensator in der höchsten Stellung (oberer Anschlag) befindet. Zunächst soll die Irisblende soweit geschlossen werden, daß das Präparat gerade noch beleuchtet wird.

• Die optische Scharfstellung erfolgt durch Heben und Senken des Objektisches. Um Beschädigungen am Mikroskop oder Präparat zu vermeiden, soll dabei folgendermaßen vorgegangen werden:

Es wird zunächst das schwach vergrößernde Objektiv (gelber Ring) in die senkrechte Position geschwenkt. Sodann wird mit dem Grobtrieb das Präparat zu einem Abstand von etwa 5 mm an das Objektiv herangebracht. Nun blickt man in das Okular und senkt mit dem Grobtrieb den Objektisch solange, bis das mikroskopische Bild des Objektes erscheint. Die weitere Scharfstellung wird mit dem Feintrieb vorgenommen, mit der Irisblende wird auf optimalen Kontrast eingestellt.

• Wünscht man eine bestimmte Stelle im Präparat stärker zu vergrößern, so wird das Präparat auf dem Objektisch solange verschoben, bis diese Stelle genau in der Mitte des Blickfeldes zu liegen kommt. Nun schwenkt man das stärker vergrößernde Objektiv in die optische Achse; Achtung! Fassen und drehen Sie zu diesem Zweck den Objektivrevolver, NICHT das Objektiv selber. Das nunmehr erscheinende Bild wird meist unscharf, auf jeden Fall aber zu dunkel sein. Man korrigiert die Beleuchtungsstärke mit der Blende und stellt mit dem Feintrieb die Schärfe nach. Auf keinen Fall darf der Grobtrieb betätigt werden, da der Abstand zwischen Objektiv und Präparat jetzt nur noch etwa 0,2 mm beträgt!

• Vor jedem Präparatewechsel muß auf das kleinere Objektiv gewechselt werden, eine Veränderung der Mikroskopeinstellung durch Betätigen des Grobtriebes ist aber nicht notwendig.

#### 1. 1. 2. Das mikroskopische Bild

Das im Mikroskop beobachtete Bild erscheint zweidimensional, dennoch kann man eine Vorstellung von der räumlichen Ausdehnung eines Objektes gewinnen. Die Schärfentiefe ist (wie bei einem Photoapparat) von der Einstellung der Irisblende abhängig; bei kleiner Blende ist die Schärfentiefe groß, das Objekt erscheint in seiner

ganzen räumlichen Tiefe scharf, bei geöffneter Blende wird die Schärfentiefe gering, sodaß nur noch ein schmaler Bereich des Objektes scharf abgebildet wird → man beobachtet einen **optischen Schnitt**. Beobachtet man nun, während man den Feintrieb betätigt, eine Abfolge von solchen Schnittbildern, entsteht ein räumlicher Eindruck vom Objekt.

### 1. 1. 3. Das mikroskopische Präparat

Zur Beobachtung im Mikroskop wird das Objekt in ein geeignetes Medium zwischen zwei Glasplatten (Objektträger und Deckglas) eingeschlossen (Abb. 2). Als Einbettungsmedium kann man in Abhängigkeit von der Art des Präparates z.B. Wasser, eine wässrige Lösung oder Alkohol verwenden. Bei der Herstellung eines Dauerpräparates, in dem das Objekt über einen längeren Zeitraum konserviert wird, schließt man in ein Kunstharz ein. Die Vorbehandlung und Präparation der zu untersuchenden Objekte werden jeweils in den einzelnen Präparationsanleitungen beschrieben.

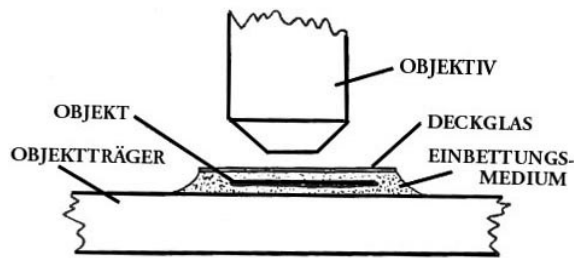


Abb. 2 Schnitt durch ein Präparat

### 1. 1. 4. Dokumentation des Präparates

Genaue Beobachtung, Verständnis und Auswahl des mikroskopischen Bildes sind Voraussetzung für eine erfolgreiche Dokumentation. In Abhängigkeit vom Objekt wird eine unterschiedliche Dokumentation der einzelnen Präparate erforderlich sein.

In vielen Fällen können Zeichnungen vom mikroskopischen Bild angefertigt werden. Dabei soll von Unwesentlichem, Zufälligem oder gar Störendem abstrahiert werden. Alle Zeichnungen sind möglichst groß anzulegen und sollen etwa 2/3 bis 3/4 der zur Verfügung stehenden Fläche einnehmen. Sie werden ausschließlich mit Bleistift auf radierfähigem, glattem Papier angefertigt, die Linien sollen durchgehend und nicht gestrichelt sein. Zunächst werden mit dünnen Linien Lagebeziehungen und Proportionen festgelegt und anschließend Details eingezeichnet. Erst nach Fertigstellung des Entwurfes wird stärker nachgezogen. Eine schraffierte Darstellung von gefärbten Flächen oder die Verwendung von Farbstiften ist nicht erwünscht. Alle identifizierten Strukturen müssen beschriftet werden, wobei man dünne Bleistiftlinien von dem betreffenden Bereich nach außen

zieht. Jede Zeichnung muß einen Titel tragen, der der betreffenden Präparationsanleitung entnommen werden kann.

Bei Objekten, deren Beobachtung spezielle optische Zusatzeinrichtungen erfordert, wird es möglich sein, das mikroskopische Bild mit Hilfe einer Digitalkamera zu dokumentieren.

Bisweilen wird es auch notwendig sein, über die Übungsbeispiele zusätzlich oder ausschließlich ein kurzes Protokoll anzufertigen.

## 2. PRÄPARATIONSANLEITUNGEN

### 2.1. Lebendbeobachtung von Pflanzenzellen

aus der reifen Frucht des Ligusters

Pflanzliche Zellen besitzen im Gegensatz zu tierischen Zellen typischerweise als äußerste Abgrenzung eine **Zellwand**. Innerhalb der Zellwand befindet sich der lebende **Protoplast**. Der Protoplast gliedert sich in das **Protoplasma** und in meist große, flüssigkeitserfüllte Räume im Inneren der Zelle, die in Ein- oder Mehrzahl vorliegen können und als **Vakuolen** bezeichnet werden. Die Vakuole(n) nehmen bei ausgewachsenen Pflanzenzellen einen großen Teil des Zell-Lumens ein (Abb.3).

Alle Lebensvorgänge einer Zelle laufen im Protoplasma ab, das durch zwei Biomembranen begrenzt ist: die äußere bezeichnet man als **Plasmalemma**, die innere als **Tonoplast**. Diese Membranen sind wegen ihres geringen Querschnitts lichtmikroskopisch nicht auflösbar (die aneinandergrenzenden Räume sind nur auf Grund der Lichtbrechung an der Phasengrenze der unterschiedlichen Medien unterscheidbar). Das Protoplasma besteht aus dem im Lichtmikroskop strukturlos und homogen erscheinenden **Cytoplasma** und den von Membranen umgebenen **Organellen** (lichtoptisch erkennbar: Zellkern, Plastiden, Mitochondrien).

(Ausführlichere Erklärungen zum Bau der Pflanzenzelle erfolgen in der Vorlesung)

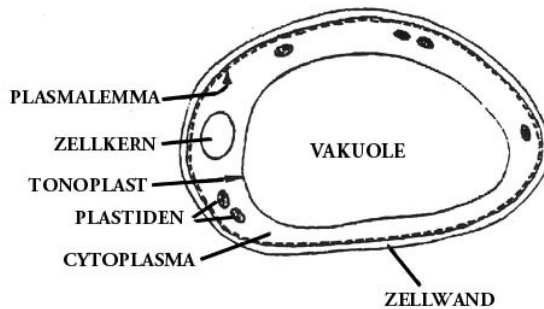


Abb. 3 Pflanzenzelle, schematisch

**Herstellung und Beobachtung des Präparates**

An den dunkelvioletten bis schwarzen Beeren wird die glatte Außenhaut mit der Rasierklinge eingeschnitten und mit der Pinzette zurückgezogen. An der Außenhaut klebender, körniger Gewebebrei wird nun mit der Spitze der Präpariernadel abgeschabt. Es genügt eine Menge, die gerade als Körnchen sichtbar ist. Der Gewebebrei wird in einen vorbereiteten Tropfen dest. Wasser auf einem gereinigten Objektträger eingebracht und durch Umrühren zerteilt (Abb. 4).

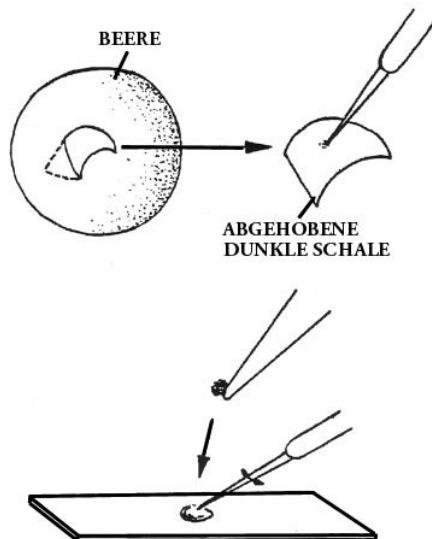


Abb.4 Präparation von Zellen aus einer Liguster-Beere

Sodann setzt man das Deckglas schräg an den Tropfen und läßt es mit Unterstützung durch die Präpariernadel langsam auf den Objektträger niedersinken (Abb. 5). Überschüssiges Wasser verursacht ein Wegschwimmen des Deckglases und kann am Deckglasrand mit einem Tuch vorsichtig weggesaugt werden. Wurde zu wenig Wasser verwendet, entstehen Lufteinschlüsse und empfindliche Objekte werden durch den hohen Adhäsionsdruck zerstört.

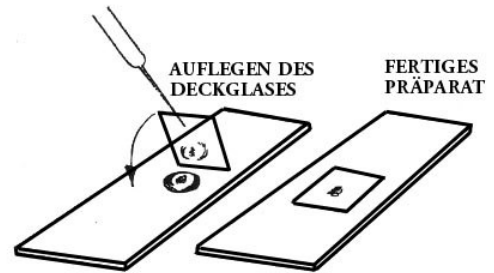


Abb. 5 Herstellung des Präparates

Bei schwacher Vergrößerung zeigt sich das in Wasser eingebettete Körnchen als eine Ansammlung miteinander verklebter Zellen. Am Rande sind immer einzelne Zellen ausgeschwemmt. Davon sind möglichst ungeschädigte auszuwählen und mit der stärkeren Vergrößerung zu beobachten.

Man erkennt die **Zellwand**, den durch den Farbstoff Anthocyan violett gefärbten **Inhalt der Vakuole** und dazwischen als sehr schmalen Saum das **Plasma**. Darin eingebettet finden sich kleine grüne Körnchen, die **Chloroplasten**. Der **Zellkern** ist nur schwer erkennbar.

**Dokumentation**

Zur Dokumentation soll eine Zeichnung von ein bis zwei Zellen im **optischen Schnitt** angefertigt werden, d.h. die optische Ebene wird durch die Mitte der Zelle gelegt. Dieses Bild ergibt sich dann, wenn die Zellwand an der breitesten Stelle der Zelle scharf erscheint.

Falsch wäre es, Chloroplasten und Kern so darzustellen, als lägen sie in der Vakuole.