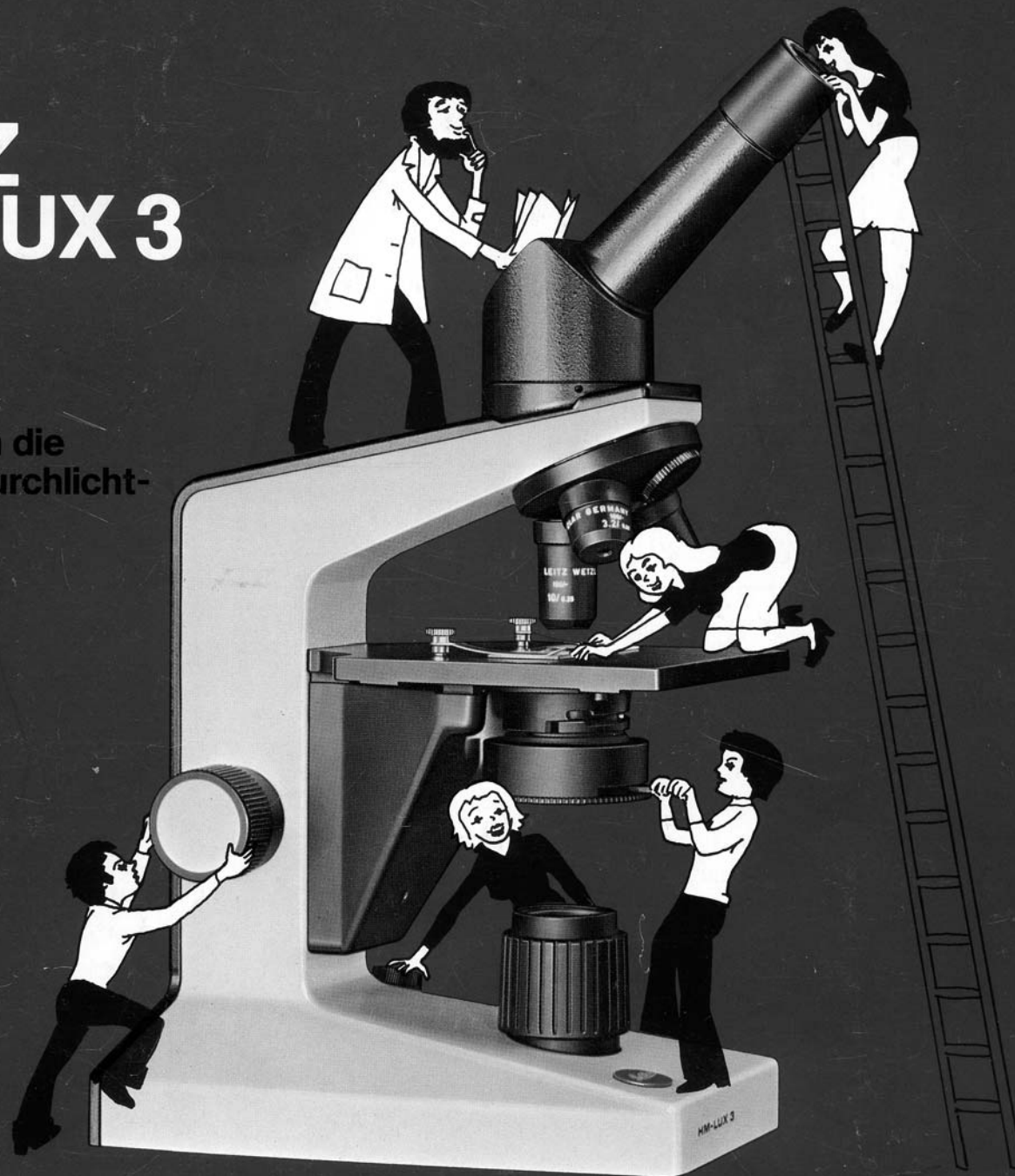


LEITZ HM-LUX 3

Einführung in die
Praxis der Durchlicht-
Mikroskopie



Bestell-Nr. 933 004



LEITZ HM-LUX 3

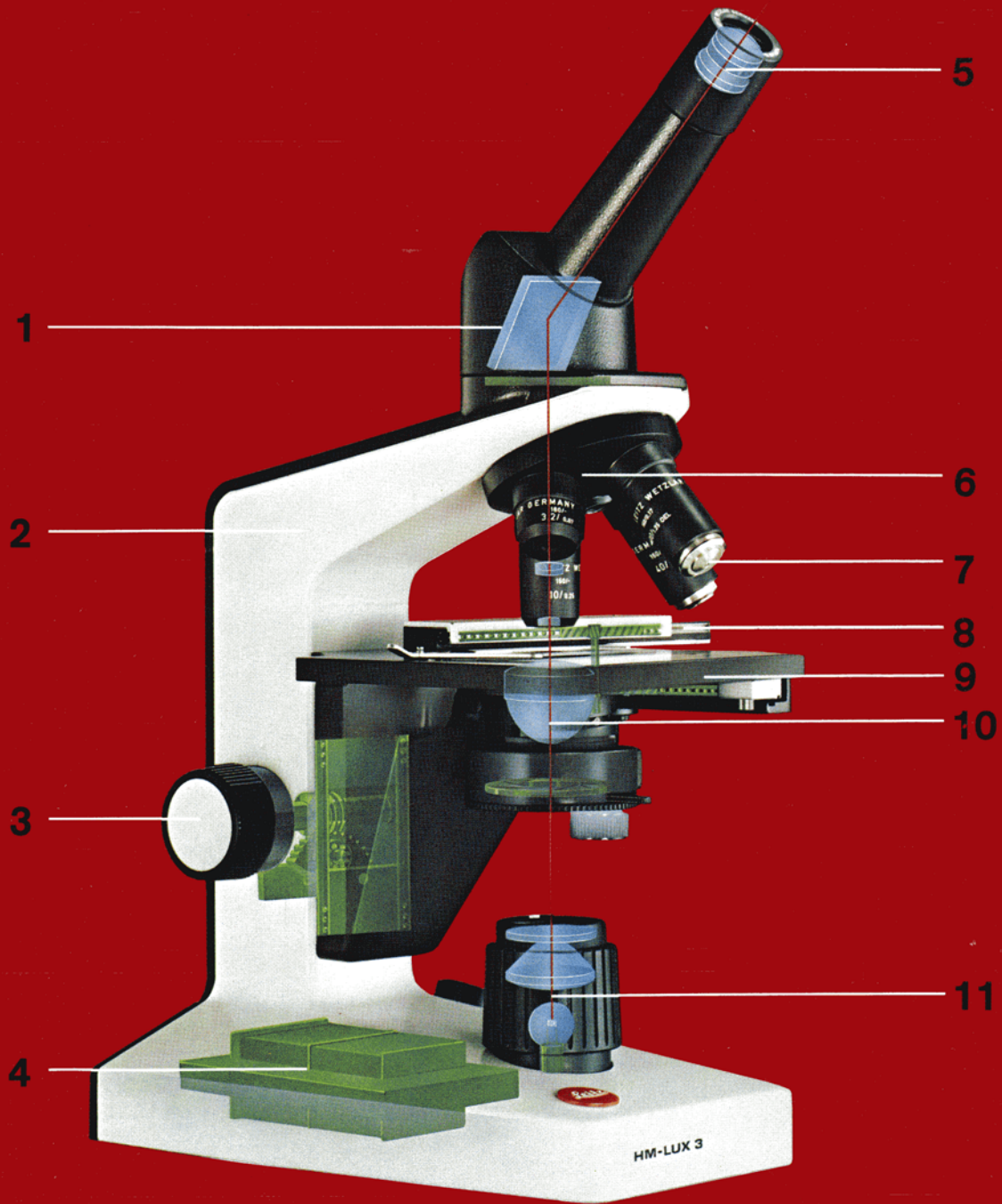
Über 125 Jahre LEITZ-Erfahrung, verbunden mit den neuesten Erkenntnissen in Konstruktion und Herstellungstechnik, haben in Ihrem LEITZ HM-LUX 3 ein Mikroskop entstehen lassen, das Sie durch Leistung und Präzision beeindrucken wird.

Bei sachgemäßer Behandlung kann es Ihnen ein Leben lang nützliche Dienste erweisen.

Über die Handhabung Ihres Mikroskops HM-LUX 3 unterrichtet Sie diese anwendungsbezogene Anleitung, die am besten immer griffbereit in Ihrer Nähe ist.

Studieren Sie diese Anleitung bevor Sie das Mikroskop in Gebrauch nehmen, denn es soll Ihnen doch beim Mikroskopieren kein Kopfzerbrechen bereiten.

Wenn Sie aber wirklich einmal Hilfe benötigen, so stehen Ihnen – nicht nur in Deutschland sondern weltweit – unsere Vertretungen zur Verfügung, die durch ihre Verbindung mit uns in der Lage sind Ihr Mikroskop sachgemäß zu warten.



Lernen Sie Ihr Mikroskop mit mir zusammen kennen!



Gestatten, mein Name
ist Aperturix

1 Tubus

Monokularer Tubus P

Durch diesen Tubus wird das mikroskopische Bild mit Hilfe eines Okulars betrachtet.

Binokularer Tubus S (ohne Abb.)

Dieser Tubus dient der beidäugigen Betrachtung des mikroskopischen Bildes mit zwei Okularen.

2 Mikroskopstativ

Das Stativ ist das zentrale Element durch das alle mechanischen und optischen Teile zu einem Ganzen, dem Mikroskop, verbunden werden.

3 Akkommodationstrieb

Dieser neuartige Einstellmechanismus gewährleistet eine sichere Scharfeinstellung des mikroskopischen Bildes. Durch Drehen der beidseitig angeordneten Knöpfe wird die Höhe des Objektisches verändert.

Bei gleicher Drehgeschwindigkeit findet im objektivfernen Bereich eine Grob- und im objektivnahen Bereich eine Feineinstellung der Bildscharfe statt.

4 Transformator

Er sorgt dafür, daß die vorhandene Netzspannung auf den Wert der Niedervolt-Leuchte (6V) reduziert wird. Ein Potentiometer ermöglicht die stufenlose Einstellung der Bildhelligkeit.

2

5 Okulare

Durch Brillenträgerokulare PERIPLAN® 10x 6/ wird das vom Objektiv projizierte Zwischenbild wie mit einer Lupe nachvergrößert und betrachtet. Diese Okulare können auch ohne Einschränkung von Nicht-Brillenträgern benutzt werden.

6 Objektivrevolver

Der Revolver kann 4 Objektive aufnehmen. Sie können zum Vergrößerungswechsel nacheinander in den Strahlengang eingeschwenkt werden.

7 Objektive

Das Objektiv bildet das Objekt vergrößert in die Zwischenbildebene ab.

8 Objektführer

Der Objektführer ermöglicht die präzise Bewegung des Präparates in x- und y-Richtung.

9 Objektisch

Der Objektisch dient zur Aufnahme des Präparates. Zum HM-LUX 3 stehen zwei Tischvarianten zur Verfügung:

- Eine einfache Tischplatte, bei der das Präparat entweder von zwei Objektklemmen oder von dem seitlich ansetzbaren Objektführer (Verstellbereich 76 mm x 26 mm) gehalten wird. Bei der Wiederverpackung des Mikroskops in seinen Transportbehälter

muß der Objektführer von der Tischplatte abgeschraubt werden.

- Ein Kreuztisch mit eingebauter Vorrichtung für die Objektverschiebung in x- und y-Richtung im Bereich 76 mm x 26 mm.

Dieser Kreuztisch mit tiefliegenden koaxialen Bedienungsknöpfen, angeordnet in Nähe des Akkommodationstriebes, gewährleistet eine präzise Verschiebung des Präparates.

10 Kondensator

Der Kondensator hat die Aufgabe, das Licht zu sammeln und das Objekt gleichmäßig auszuleuchten. Mit der Aperturblende werden Kontrast und Tiefenschärfe des Bildes eingestellt.

11 Beleuchtung

Die Niedervolt-Beleuchtung im Stativfuß ist stufenlos einstellbar. Damit kann die Bildhelligkeit den jeweiligen Erfordernissen angepaßt werden.

Ist keine Elektrizität vorhanden, so kann das Tageslicht mit einem dreh- und neigbaren Spiegel eingefangen werden, der nach Entfernen des Beleuchtungsstutzens und der Niedervolt-Glühlampe in die verbleibende Öffnung gesteckt wird.

Machen Sie sich den Anfang so leicht wie möglich.

Eine entspannte Körperhaltung ist die Voraussetzung für bequemes Arbeiten mit Ihrem Mikroskop.

Sitzen Sie gut?

Abb. 3



Abb. 4



Dann kanns los gehn!

Ist das LEITZ HM-LUX 3 mit einem Kreuztisch versehen, so lösen Sie bitte die Rändelschraube, die zur Befestigung der Objektaufnahme dient. Anschließend schieben Sie die Objektaufnahme gegen den linken Anschlag und befestigen denselben durch Anziehen der Rändelschraube. Präparat auflegen.

Bei Wiederverpackung des Mikroskops in den Transportbehälter ist die Objektaufnahme nach Lösen der Rändelschraube in ihre ursprüngliche Position zurückzuschieben. Rändelschraube anziehen.

Legen Sie ein Präparat auf den Objektisch und befestigen Sie dieses mit den beiden Objektklemmen oder mit dem Klemmhebel des Objektführers bzw. des Kreuztisches.

Präparate selbst hergestellt, siehe Seite 25 – 37.

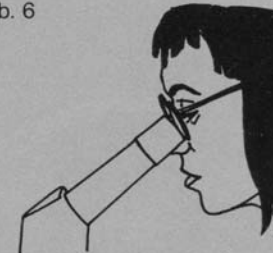


Abb. 5



Ohne Brille – mit Augenmuschel

Abb. 6



Mit Brille – ohne Augenmuschel

Abb. 7

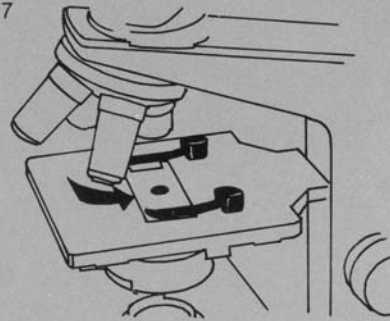
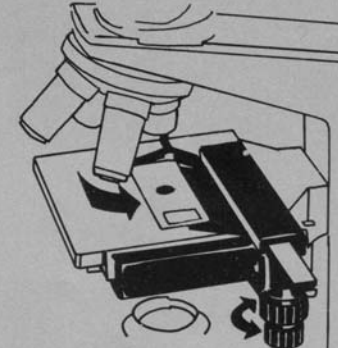


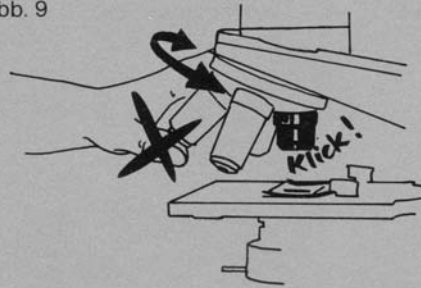
Abb. 8



Für die erste Einstellung

sollten Sie das Objektiv 3,2/0.07 einschwenken; dies ist das Objektiv mit der größten Übersicht und dem größten Abstand zwischen Objekt und Frontlinse (Freier Arbeitsabstand = FAA).

Abb. 9



Anschließend für die richtige Beleuchtung sorgen.

Wenn Ihr Mikroskop mit einem Beleuchtungsspiegel ausgestattet ist, dann richten Sie diesen so aus, daß diffuses Tageslicht oder das Licht einer Schreibtischlampe das Bildfeld so gleichmäßig wie möglich ausleuchtet. Eventuell die Rasterscheibe verwenden.

In der Ausstattung mit Niedervolt-Leuchte 6 V 5 W ist die Lampe vorzentriert. Dadurch ist eine optimale Ausleuchtung des Bildfeldes gewährleistet. Helligkeit der Lampe mittels Rändelknopf einstellen (Abb. 11).

Abb. 10

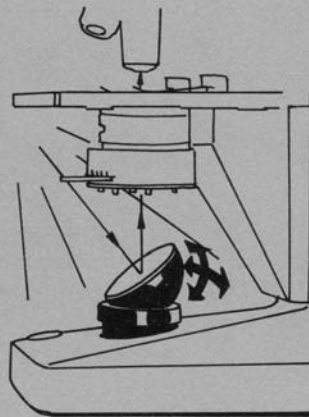
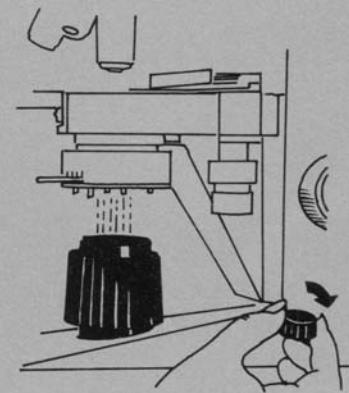


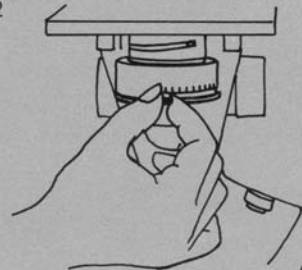
Abb. 11



Achten Sie darauf,

daß der Kondensator am oberen Anschlag steht und öffnen Sie die Aperturblende.

Abb. 12



Ist die Lampe zu hell?

Beleuchtungsintensität am Rändelknopf reduzieren.

Helligkeit nie mit der Aperturblende einstellen!



Wie entsteht das mikroskopische Bild?

Es entsteht in der **ersten Vergrößerungsstufe** durch das Objektiv. Dieses bildet eine vom Licht durchstrahlte Objektstelle vergrößert in die 10 mm unterhalb des Tubusrandes liegende Zwischenbildebene ab.



Abb. 17

In der **zweiten Vergrößerungsstufe** wird das Zwischenbild mit dem Okular wie mit einer Lupe nachvergrößert und auf der Netzhaut des Auges abgebildet. Siehe schematische Darstellung auf Seite 9.

Dies gilt gleichermaßen für monokulare wie für binokulare Mikroskope. Mit der Maßstabszahl des Objektivs und der Vergrößerung des Okulars (Die Vergrößerung ist auf dem Okularrand ablesbar) können Sie die Gesamtvergrößerung des Mikroskops errechnen. $M \text{ Objektiv} \times V \text{ Okular} = V \text{ Mikroskop}$. Hier ein Beispiel mit dem Objektiv 3,2/0.07 und dem Okular 10x (Abb. 18). Damit ist 1 mm im Objekt gleich 32 mm in dem vom Auge wahrgenommenen Bild.

Die Gesamtvergrößerung eines Mikroskops ist also immer eine **zweistufige Abbildung**.

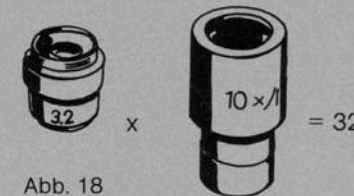


Abb. 18

Objektiv	Okular	Gesamtvergrößerung
3,2/0.07	10x	32 :1
10 /0.25	10x	100 :1
40 /0.65	10x	400 :1
100 /1.25 OEL	10x	1000 :1

Maßstabszahl des Objektivs x Vergrößerung des Okulars =
Gesamtvergrößerung des Mikroskops

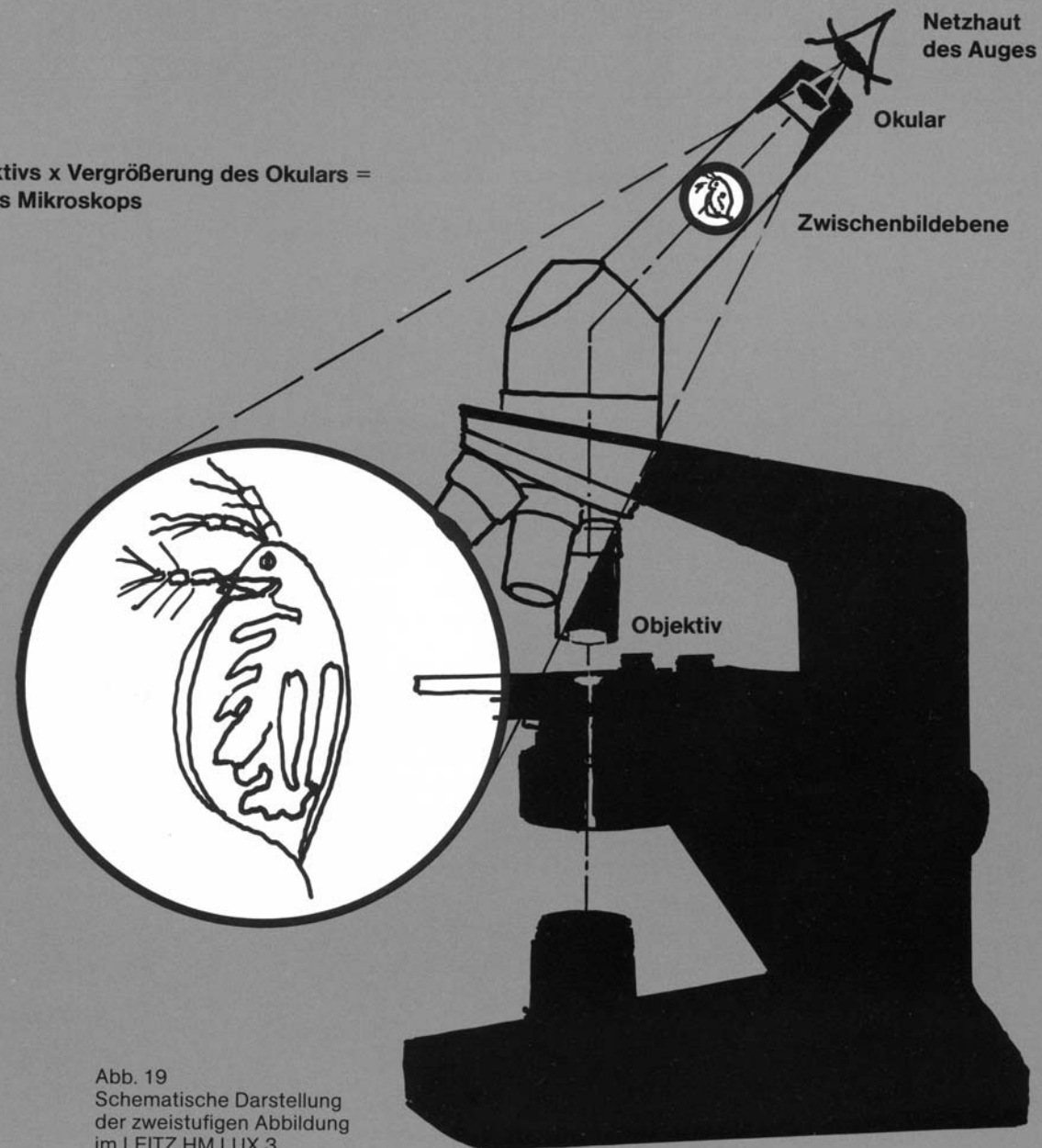


Abb. 19
Schematische Darstellung
der zweistufigen Abbildung
im LEITZ HM LUX 3.

Hinter dem Vergrößerungswert des Okulars steht noch die Zahl 18. Sie gibt den Durchmesser der Sehfeldblende in mm an und heißt Sehfeldzahl. Diese Blende begrenzt das vom Objektiv entworfene Zwischenbild. Mit der Sehfeldzahl 18 wird der Durchmesser des im Mikroskop überschaubaren Objektfeldes errechnet.

Beispiel:

$$\frac{\text{Sehfeldzahl}}{M \text{ Objektiv}} = \frac{\text{Durchmesser des überschaubaren Objektfeldes in mm}}{\text{Sehfeldzahl}}$$

Je höher die Maßstabszahl des Objektivs, desto kleiner das überschaubare Objektfeld.

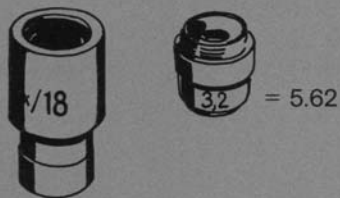


Abb. 20

Objektfeldgröße

Objektiv	Okular 10x/	Objektfelddurchmesser in mm
3,2/0.07	18	5,62
10 /0.25	18	1,8
40 /0.65	18	0,45
100 /1.25 OEL	18	0,18

Was ist für die Qualität des Bildes wichtig?

Betrachten wir dazu jetzt das Objektiv 10/0.25.

Die Objektivbeschriftung zeigt hinter der Maßstabszahl noch eine zweite Zahl. Hier handelt es sich um die „**numerische Apertur**“. Es ist wichtig zu wissen, daß diese Zahl Aufschluß über die Leistung des Objektivs hinsichtlich der noch erkennbaren kleinsten Details im mikroskopischen Bild gibt. Wir sprechen in diesem Falle von dem **Auflösungsvermögen** eines Objektivs.

Das menschliche Auge ist so beschaffen, daß es aus einer Entfernung von 25 cm (Bezugssehweite Abb. 22) zwei Punkte, welche 0,15 mm voneinander getrennt stehen, noch als 2 einzelne Punkte erkennt, d. h. sie werden vom Auge aufgelöst. Wird ihr Abstand geringer, so verschmelzen sie zu einem Punkt.

Durch das Objektiv werden einzelne Punkte des Objektes vergrößert dargestellt. Die Entfernung der einzelnen Punkte untereinander erscheint dabei größer (Abb. 23).

Um die Punkte wirklich getrennt erkennen zu können, spielt nicht nur der Ab-



Abb. 21

10 / 0.25
Maßstabszahl/ numerische Apertur (nA)

stand, sondern auch der Strahlenkegel, der von der Frontlinse des Objektivs aufgenommen wird, eine wichtige Rolle. Aus seiner Öffnung und aus dem Brechungsindex des Mediums, welches sich zwischen unserem Objekt und der Frontlinse befindet (in unserem Falle Luft = Brechungsindex 1) errechnet sich die numerische Apertur.

Je höher die numerische Apertur des Objektivs, desto höher ist sein Auflösungsvermögen.



Die numerische Apertur ist demnach auch ein Maß für die Leistungsgrenze des Objektivs. Es gilt die Regel, daß die obere Grenze und damit auch die totale Vergrößerung des Mikroskops bei dem tausendfachen Wert der numerischen Apertur liegt.

Dem Vergrößerungsbereich – er wird auch förderliche Vergrößerung des Mikroskops genannt – sind also Grenzen gesetzt, welche mit lichteoptischen Mitteln nicht überschritten werden können.

Die Auflösungsgrenze der Objektive

Objektiv	numerische Apertur	Auflösungsgrenze
3,2	0.07	3,93 μm
10	0.25	1,1 μm
40	0.65	0,43 μm
100	1.25	0,25 μm

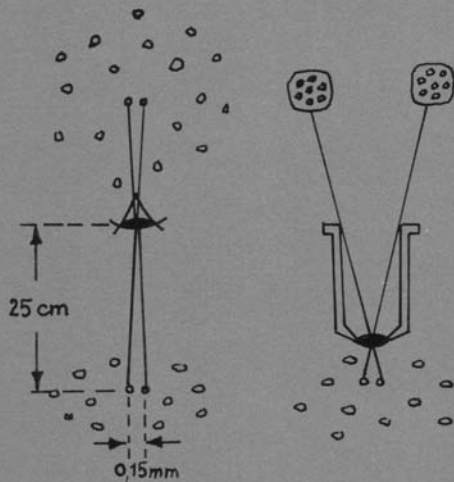


Abb. 22

Abb. 23

Außer der Vergrößerung (Maßstabszahl) und der numerischen Apertur (A) sind noch zwei weitere Daten auf dem Objektiv vorhanden:

160/-

oder

160/0.17

Die Zahl **160** bedeutet die mechanische Tubuslänge in Millimeter für die das Objektiv gerechnet worden ist. Es ist dies der Abstand von der Anschraubfläche des Objektivs bis zum oberen Tubusrand.

Das Zeichen /- sagt aus, daß mit diesem Objektiv sowohl Präparate mit als auch ohne Deckglas untersucht werden können.

Die Zahl **0.17** gibt die Deckglasdicke in mm an, mit dem das Objekt abgedeckt sein muß, um beste Ergebnisse zu erzielen.

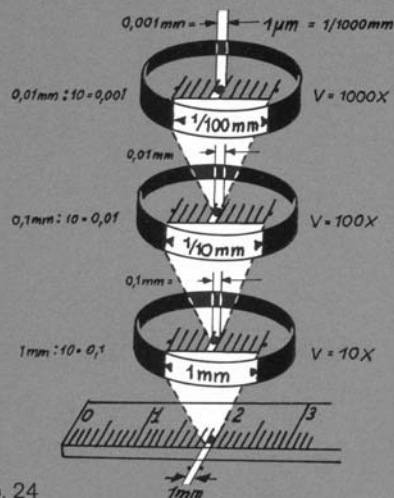


Abb. 24

Diese sehr schematische Darstellung soll eine Vorstellung davon vermitteln, wie man mit Hilfe der optischen Vergrößerung z. B. den mit bloßem Auge aufgelösten Abstand zweier Striche von 1 mm Abstand bis zur Auflösung $0,001 \text{ mm} = 1 \mu\text{m}$ unterteilen kann. $V =$ Gesamtvergrößerung.

Freier Arbeitsabstand (FAA).

Für die nächste Untersuchung schwenken Sie bitte das Objektiv 40/0.65 ein.

Es wird Ihnen auffallen, daß sich das Objektiv sehr nahe über dem Objekt befindet. Diese Distanz wird als „freier Arbeitsabstand“ bezeichnet.

Objektiv	Freier Arbeitsabstand in mm
3,2/0.07	39,4
10 /0.25	5,6
40 /0.65	0,42
100 /1.25 OEL	0,09

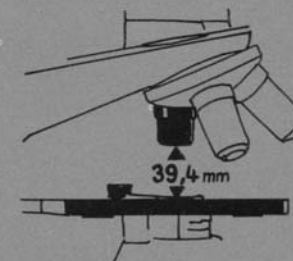


Abb. 25

Wann und warum brauchen wir ein Deckglas?



Auf diese Frage soll uns die folgende Untersuchung antworten. Dafür stellen wir uns selbst ein Joghurt-Präparat nach der auf Seite 28 angegebenen Präparationsmethode her.

Nur auf eine Hälfte des Objektes einen Tropfen Rizinusöl tupfen und diese Hälfte mit einem Deckglas versehen. Das Präparat auf dem Objektisch befestigen. (Das Deckglas zeigt zum Objektiv 40/0.65). Das mit dem Deckglas abgedeckte Objekt in den Beleuchtungsstrahlengang bringen und mit dem Akkommodationstrieb scharf einstellen. Es erscheinen die blaugefärbten Bakterien kontrastreich abgegrenzt zum ebenfalls blaugefärbten Umfeld.

Zum Vergleich den unabgedeckten Teil des Objektes (ohne Öl und ohne Deckglas) in den Strahlengang bringen, und das Bild scharf einstellen.

Ergebnis: Die Bakterien sind noch zu erkennen, aber der Kontrast und die Auflösung sind geringer. Die Information gegenüber dem abgedeckten Objekt ist wesentlich schlechter geworden.

Bei diesen Untersuchungen wird deutlich, welchen Einfluß das Deckglas auf die Abbildungsqualität hat.



Wird mit dem Objektiv 40/0.65 gearbeitet, sind grundsätzlich Präparate mit Deckglas zu verwenden.

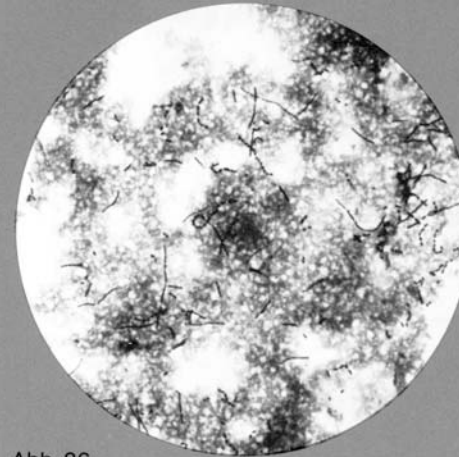


Abb. 26
Bakterien in einem Joghurt-Präparat mit einem Deckglas abgedeckt.

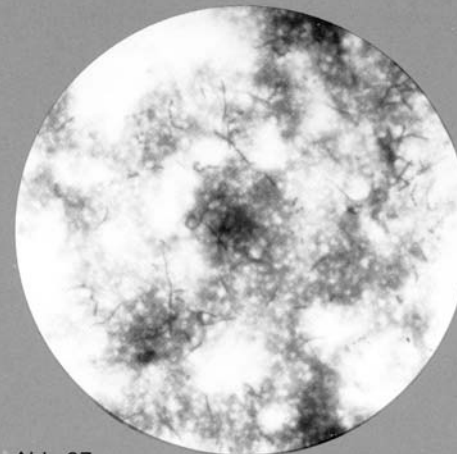


Abb. 27
Bakterien in einem Joghurt-Präparat ohne Deckglas.

Auch die richtige Einstellung des Kondensators ist wichtig!



Der Kondensator bleibt beim LEITZ HMLUX 3 grundsätzlich in oberster Anschlagstellung.

Lediglich bei Verwendung der Ölimmersionskappe ist eine besondere Einstellung erforderlich, siehe Seite 17.

Mit der Aperturblende werden Kontrast und Tiefenschärfe des Bildes eingestellt.

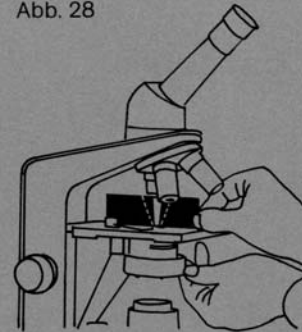
Was passiert, wenn man den Durchmesser der Aperturblende verändert?

Mit Hilfe eines Kartons (ca. 30 mm x 100 mm) können Sie leicht selbst eine Veränderung des Strahlenkegels sichtbar machen:

- Objektisch in unterste Stellung bringen.
- Objektiv 3,2/0.07 einschwenken
 - klick –
- Beleuchtung einschalten.

Den Karton in das hintere Drittel des Strahlengangs halten (leichte Schrägstellung). Es erscheint ein Strahlenkegel. Beim Verstellen der Aperturblende verändert sich dieser Strahlenkegel.

Abb. 28



Bei offener Aperturblende erscheint ein weit geöffneter Strahlenkegel. Schließt man die Blende, so wird ein schlanker Strahlenkegel daraus.

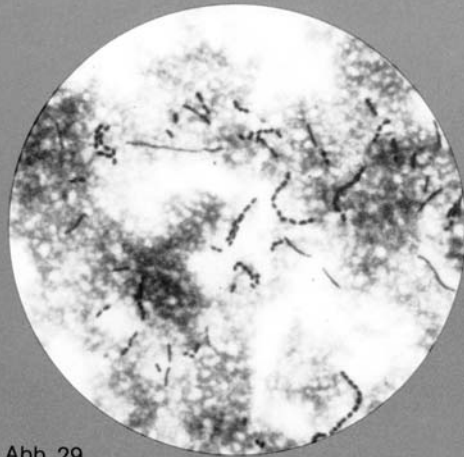


Abb. 29
Die Aperturblende ist ganz geöffnet.

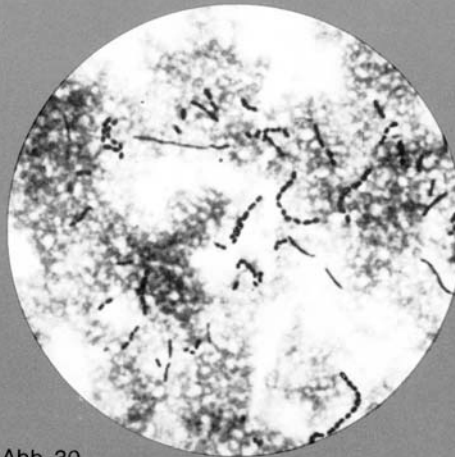


Abb. 30
Die Aperturblende ist richtig eingestellt.

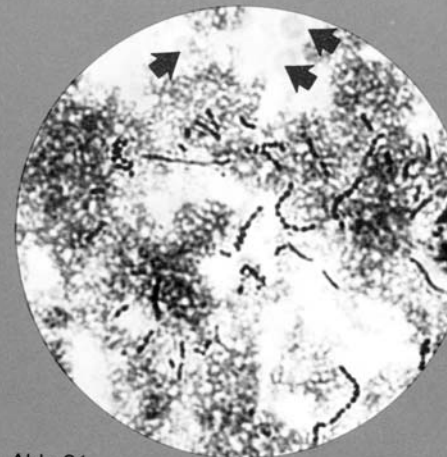


Abb. 31
Die Aperturblende ist zu weit geschlossen.
(Beugungserscheinungen sind durch Pfeile gekennzeichnet.)

Den Einfluß der Blende auf das mikroskopische Bild beobachten wir am besten an unserem Joghurt-Präparat mit dem Objektiv 40/0.65.

Mikroskopisches Bild bei geöffneter Aperturblende scharf einstellen und anschließend Blende langsam schließen.

Sobald der Aperturblendenhebel etwa den fünften Markierungsstrich erreicht, kann eine Kontraststeigerung beobachtet werden.

Einzelheiten treten besser hervor und oft erkennen wir sogar bisher nicht sichtbare Teilchen.

Durch weiteres Abblenden vermindert sich die Bildhelligkeit und ein gleichzeitiger Schärfeverlust ist erkennbar. Einzelheiten verschmelzen. Darüber hinaus werden Beugungserscheinungen von Schmutzpartikeln sichtbar, die sich auf dem Deckglas bzw. der Objektträgerunterseite befinden.

Ungefärbte Präparate können (wenn keine Dunkelfeld- oder Phasenkontrast-Einrichtung zur Verfügung steht) durch Abblenden – über das zulässige Maß hinaus – sichtbar gemacht werden. Das geht allerdings auf Kosten der Bildqualität.

Schließen Sie die Aperturblende nur so weit wie es unbedingt zur Kontraststeigerung und zur Verbesserung der Schärfentiefe notwendig ist. Eine Einstellung der Bildhelligkeit dürfen Sie auf keinen Fall mit ihr vornehmen!



Arbeiten mit dem Immersionsobjektiv



Benutzen Sie das Objektiv 100/1.25 OEL grundsätzlich mit Leitz-Immersionsöl, nur so können Sie die Leistung des Objektivs nutzen. Beim Immersieren darauf achten, daß sich keine Luftblasen im Immersionsöl befinden, da diese schlechte Abbildungen verursachen.

Um sehr kleine Objektdetails in der Größenordnung bis etwa $0,25 \mu\text{m}$ zu erkennen, ist ein Objektiv mit höchster Auflösung und Vergrößerung erforderlich.

Für das LEITZ HM-LUX 3 steht das Objektiv 100/1.25 OEL zur Verfügung. Mit dem Okular PERIPLAN 10x ϕ ergibt sich somit eine Gesamtvergrößerung von 1000:1. Bei Arbeiten mit diesem Objektiv wird grundsätzlich zwischen Präparat und Frontlinse ein Tropfen Immersionsöl gebracht. Nur so läßt sich das hohe Auflösungsvermögen nutzen.

Ein geeignetes Objekt für die erste Untersuchung mit dem Immersionsobjektiv ist wieder das Joghurt-Präparat. Damit der Öltropfen zwischen Präparat und Frontlinse ohne Luftblasen ist, sollte wie folgt eingestellt werden.

Mit dem Objektiv 40/0.65 die interessierende Objektstelle in der Mitte des Bildes scharf einstellen.

Objektiv 3,2/0.07 einschwenken.

Bringen Sie nun mit der Pipette des Ölfläschchens einen Tropfen Immersionsöl auf das Deckglas über die Stelle, die Sie untersuchen möchten.

Nun das Objektiv 100/1.25 OEL langsam einschwenken – klick –.

Anschließend sollten Sie in den Tubus blicken und den Objektstisch mit dem Akkommodationstrieb so lange in Objektivrichtung bewegen, bis das Bild scharf erscheint.

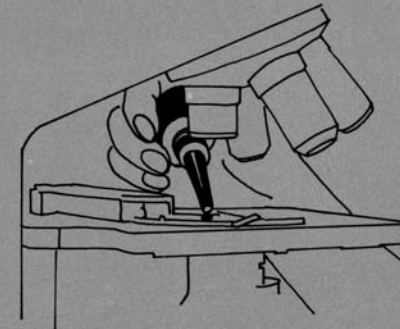


Abb. 32

So wird das Immersionsöl auf das Präparat gebracht!

Nicht vergessen:

Wischen Sie nach der Untersuchung das Öl mit einem trockenen Tuch wieder ab. Den restlichen Ölfilm entfernt man am besten mit einem alkoholbefeuchteten Läppchen.

Das Immersionsöl bildet das Medium zwischen Präparat und Objektivfrontlinse (Brechungsindex = 1,515).

Abb. 33



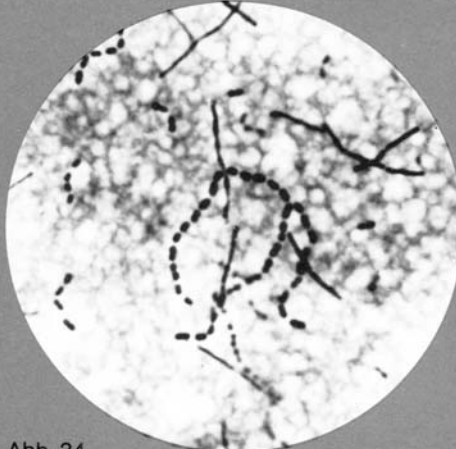


Abb. 34
Bakterien in einem Joghurt-Präparat.
Objektiv 100/1.25 OEL, Einstellung mit
Immersionsöl.

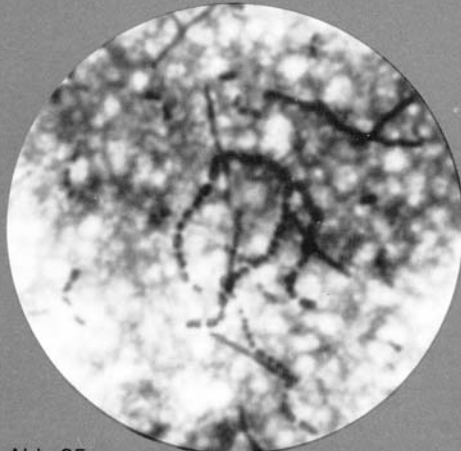


Abb. 35
Bakterien in einem Joghurt-Präparat.
Objektiv 100/1.25 OEL, Einstellung ohne
Immersionsöl.

Arbeiten mit dem Immersionskondensator

Für alle Routinearbeiten mit dem Ölimmerionsobjektiv 100/1.25 OEL ist die Beleuchtungsapertur 0.90 des Kondensators völlig ausreichend. Um jedoch für besonders kritische Untersuchungen feinsten Strukturen die ganze Leistung des optischen Systems auszuschöpfen, kann auch die Apertur des Kondensators durch Verwendung einer Immersionskappe auf 1.25 gesteigert werden, so daß dieser die Apertur des Objektivs voll ausleuchtet.

Dazu den Kondensator aus der Fassung herausnehmen. Die Schutzkappe des Kondensators abschrauben und die Ölimmersionskappe einschrauben. Kondensator wieder einsetzen und einen Tropfen Öl auf die Linse der Kappe tupfen. Danach das Präparat auf dem Objektisch befestigen.

Bei eingeschalteter Beleuchtung und direkter Beobachtung, den Kondensator langsam nach oben drehen, bis der Öltropfen am Objektträger sichtbar aufleuchtet.

Das Immersieren des Objektivs wie auf Seite 16 beschrieben, vornehmen und die Bildschärfe einstellen.

Nach der Arbeit mit dem Immersionsöl, Reinigung nicht vergessen!



Abb. 36

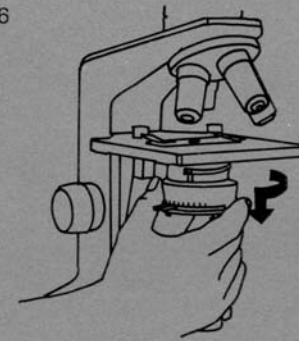
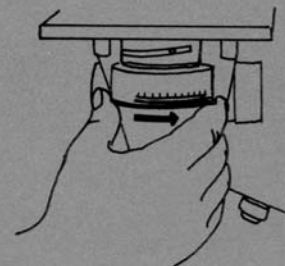


Abb. 37



Abb. 38



Mikroskopieren im Dunkelfeld

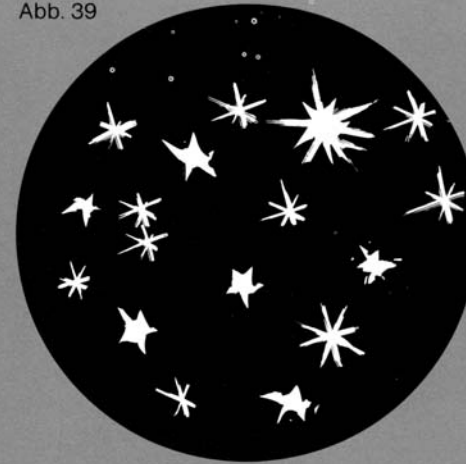


Bisher wurden die Untersuchungen mit der Hellfeld-Beleuchtung vorgenommen. Dabei durchstrahlt das vom Kondensator kommende Licht das Präparat, und man erkennt das Objekt auf hellem Untergrund.

Bei Präparaten, die aus bestimmten Gründen nicht angefärbt werden können, oder bei sehr kleinen Objekten (z. B. Bakterien) wird man zweckmäßigerweise mit Dunkelfeld-Beleuchtung arbeiten.

Bei dieser Methode erscheinen die Objektkanten leuchtend auf dunklem Untergrund. Das Objekt wird hierbei jedoch nicht durchleuchtet sondern seitlich angestrahlt. Der Hintergrund bleibt dunkel. Ein wesentlicher Vorteil der Dunkelfeld-Methode besteht darin, daß man kleinste Teilchen, die unter normalen Hellfeld-Bedingungen nicht erkennbar sind, noch sieht.

Abb. 39



Die Wirkung der Dunkelfeld-Beleuchtung kann man mit dem Sternenhimmel vergleichen. Am Tag sind die Sterne nicht erkennbar, da sie vom Tageslicht überstrahlt werden. In der Dunkelheit jedoch heben sich auch kleine Sterne gegen das dunkle Umfeld noch deutlich ab.

Beim LEITZ HM-LUX 3 können zwei Wege zur Darstellung der Dunkelfeld-Beleuchtung beschriftet werden:
1. Einsetzen des Schiebers mit Zentralblende DF/55-56 in die seitliche Öffnung des Hellfeldkondensators (Abb. 43). Bei Mikroskopen, die vor Jahresmitte 1984 geliefert wurden, wird die Blende wie in Abb. 40 beschrieben eingesetzt.

Abb. 40

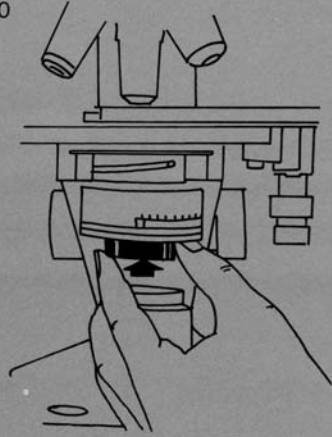
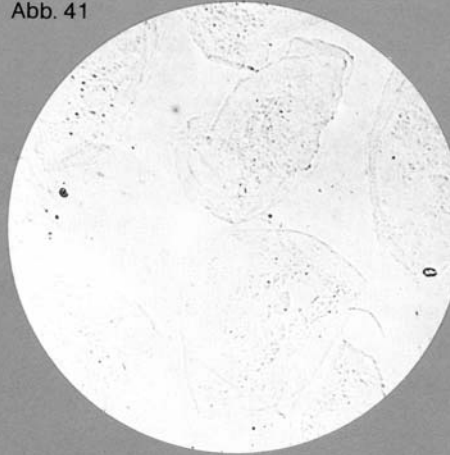
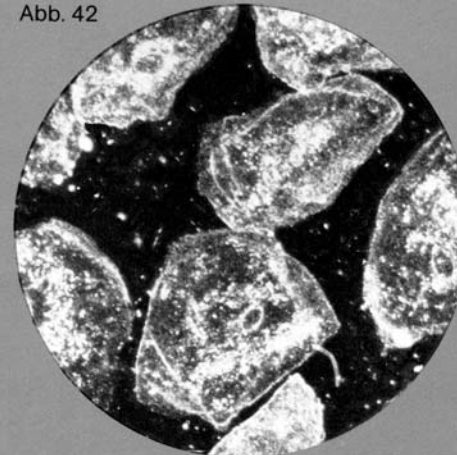


Abb. 41



Epithelzellen im Hellfeld; Objektiv 40/0.65

Abb. 42



Epithelzellen im Dunkelfeld; Objektiv 40/0.65

2. Anwendung des speziellen Dunkel-
feldkondensors D 0.80–0.95, der einen
optimalen Bildkontrast liefert.

Für Dunkelfeldbeobachtungen mit dem
LEITZ HM-LUX 3 eignen sich die Ob-
jektive 10/0.25 und 40/0.65.

Für den ersten Versuch fertigen wir uns
ein Epithelzellen-Präparat an (siehe
Seite 27).

Präparat auflegen.

Dunkelfeld mit Zentralblende DF/55–56

Der Hellfeldkondensator steht am obern
Anschlag. Die Aperturblende öff-
nen. Sperrklinke am Kondensator drük-
ken und Rasterscheibe herausziehen.
Schieber mit Zentralblende bis zum An-
schlag in die seitliche Öffnung des
Kondensators stecken (Abb. 43).

Objektiv 10/0.25 einschwenken und
das mikroskopische Bild scharf einstel-
len. Durch Ziehen und Drücken am
Schieber mit Zentraldunkelfeldblende
ist ein schneller Wechsel zwischen
Hellfeld- und Dunkel-
feldbeleuchtung möglich.

Dunkelfeld mit Dunkel- feldkondensator D 0.80–0.95

Vor dem Einsetzen des Dunkel-
feldkondensators in die unter dem Objekt-
tisch befindliche Kondensatoraufnahme
(Schiebehülse) muß zunächst der Hell-
feldkondensator entfernt werden.
Dunkelfeldkondensator in die Kondensator-
aufnahme stecken und bis zum
Anschlag nach oben drehen. Objektiv
10/0.25 einschwenken und das mi-
kroskopische Bild scharf einstellen.

Dunkelfeldkondensator durch geringfügiges
Drehen am Rändel bei gleichzeitiger
Beobachtung des mikroskopischen
Bildes etwas absenken, bis der opti-
male Bildkontrast erreicht ist.



**Achten Sie darauf, daß die Objekt-
träger und Deckgläser gründlich gerei-
nigt und kratzfrei sind.**

Im Phasenkontrast erkennen, was im Hellfeld kaum zu sehen ist!

Phasenkontrast ist ein Beleuchtungsverfahren, bei dem farblose und kontrastarme Objektstrukturen, welche mit der Durchlicht-Hellfeld-Methode überhaupt nicht oder nur sehr mangelhaft zu erkennen sind, im Mikroskop deutlich sichtbar gemacht werden können. Zum LEITZ HM-LUX 3 sind für Phasenkontrast-Untersuchungen zusätzlich erforderlich: der zweiinsige Hellfeld-Kondensator Nr. 55, Phasenkontrastobjektive 10/0.25 PHACO 1 und 40/0.65 PHACO 2 Best.-Nr. 519 757 und 519 758 und dazu abgestimmte Schieber mit Ringblenden 1/55-56 und 2/55-56 Best.-Nr. 513 621 und 513 622. Beim Phasenkontrast-Verfahren wird durch das Einschieben der Ringblende in den Hellfeldkondensator eine ringförmige Beleuchtung erzeugt. Dieser Lichtring deckt sich (richtige Kondensoreinstellung vorausgesetzt) exakt mit einem im Objektiv befindlichen sogenannten Phasenring. Durch Interferenzen von Lichtstrahlen, die vom Objekt kommen, und denen, die durch den Phasenring beeinflusst werden, entstehen hellfeldähnliche Abbildungen, wobei die dunkleren Objektstrukturen auf hellem (grauem) Grund sichtbar werden.

Einstellung des Phasenkontrasts

Der Hellfeldkondensator steht am oberen Anschlag. Die Aperturblende ganz öffnen. Sperrklinke am Kondensator drücken und Rasterscheibe herausziehen.

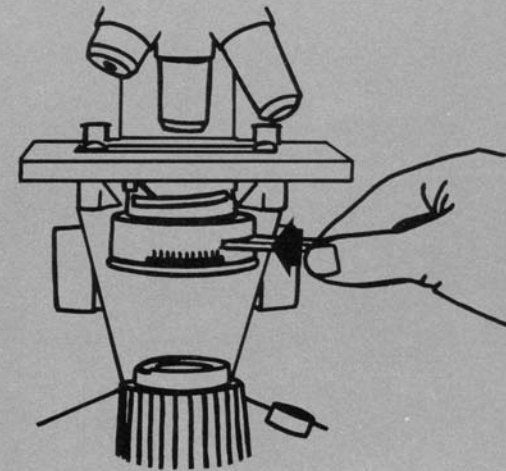


Abb. 43
Einstecken einer Blende mit Lichtring

Phasenkontrast-Objektiv 10/0.25 PHACO 1 und 40/0.65 PHACO 2 in den Revolver schrauben und einschwenken.

Schieber mit Ringblende 1 (bei Objektiv 10/0.25 PHACO 1) oder 2 (bei Objektiv 40/0.65 PHACO 2) bis zum Anschlag in die seitliche Öffnung des Kondensators stecken (Abb. 43).

Beleuchtung einschalten, Präparat auflegen und scharf einstellen.

Durch Ziehen und Drücken am jeweils eingesetzten Schieber mit Ringblende ist ein schneller Wechsel zwischen dem Hellfeld- und dem Phasenkontrast-Verfahren möglich.

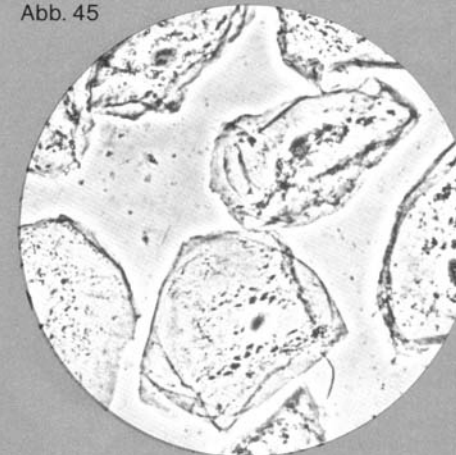
Ein geeignetes Objekt für die ersten Untersuchungen im Phasenkontrast ist das Epithelzellenpräparat (Seite 27), das man auf sehr einfache Art selbst herstellen kann.

Abb. 44



Epithelzellen im Hellfeld; Objektiv 40/0.65

Abb. 45



Epithelzellen im Phasenkontrast; Objektiv 40/0.65 PHACO 2



Für Phasenkontrast-Untersuchungen können nur Objektive mit der zusätzlichen Aufschrift PHACO 1 bzw. PHACO 2 verwendet werden. Zur Unterscheidung zum Hellfeld-Objektiv ist die Beschriftung der Phasenkontrast-Objektive in grüner Farbe ausgeführt.

Der Anfang in der Polarisationsmikroskopie

Eine sehr interessante Mikroskopiermethode ist die Beobachtung von doppelbrechenden Substanzen im polarisierten Licht.

Wir benötigen dazu eine Polarisations-einrichtung, die aus einem auf den Lichtstutzen auflegbaren Polarisationsfilter und einem auf die Okulare aufsteckbaren Analysator besteht.

Die Lampe im Mikroskop sendet Lichtwellen aus, die in alle möglichen Richtungen schwingen. Das aufgelegte Polarisationsfilter – der Polarisator – läßt aber nur solche Lichtwellen passieren, die in einer von ihm bestimmten Richtung schwingen. Hierdurch entsteht das sogenannte polarisierte Licht.

Der Analysator hat ebenfalls die Aufgabe, nur Licht einer bestimmten Schwingungsrichtung durchzulassen. Die beiden Filter können so zueinander gedreht werden, daß die Schwingungsrichtung des Polarisators in 90° -Stellung zur Schwingungsrichtung des Analysators steht. In diesem Fall kann zunächst kein Licht den Analysator passieren, man spricht von der Dunkelstellung.

Bringt man aber doppelbrechende Substanzen, das sind z. B. sehr viele kristallinen Stoffe und Fasern, zwischen die in Dunkelstellung stehenden beiden Filter (also in den Mikroskopstrahlengang), so erscheinen die Präparate hell und teilweise farbig auf dunklem Untergrund. Die Ursache dieses Effektes beruht auf deren Eigenschaft, eindringende Lichtstrahlen aufzuspalten (darum die Bezeichnung doppelbrechend) und dabei ihre Schwingungsrichtung zu verändern. So gedrehte Lichtstrahlen werden dann auch vom Analysator durchgelassen und somit dem Auge zugänglich. Die sichtbar werdenden Farben sind Interferenzerscheinungen, die u. a. durch Dickenunterschiede im Präparat verursacht werden.

Verwenden Sie für den ersten Versuch ein selbstgefertigtes Präparat aus Zuckerkristallen. Das Rezept dazu finden Sie auf Seite 29.

Der Anfang in der Polarisations- mikroskopie

Eine sehr interessante Mikroskopier-Methode ist die Beobachtung von doppelbrechenden Substanzen im polarisierten Licht.

Wir benötigen dazu eine Polarisations-einrichtung, die aus einem auf den Lichtstutzen auflegbaren Polarisationsfilter und einem auf die Okulare aufsteckbaren Analysator besteht.

Die Lampe im Mikroskop sendet Lichtwellen aus, die in alle möglichen Richtungen schwingen. Das aufgelegte Polarisationsfilter – der Polarisator – läßt aber nur solche Lichtwellen passieren, die in einer von ihm bestimmten Richtung schwingen. Hierdurch entsteht das sogenannte polarisierte Licht.

Der Analysator hat ebenfalls die Aufgabe, nur Licht einer bestimmten Schwingungsrichtung durchzulassen. Die beiden Filter können so zueinander gedreht werden, daß die Schwingungsrichtung des Polarisators in 90° -Stellung zur Schwingungsrichtung des Analysators steht. In diesem Fall kann zunächst kein Licht den Analysator passieren, man spricht von der Dunkelstellung.

Bringt man aber doppelbrechende Substanzen, das sind z. B. sehr viele kristallinen Stoffe und Fasern, zwischen die in Dunkelstellung stehenden beiden Filter (also in den Mikroskopstrahlengang), so erscheinen die Präparate hell und teilweise farbig auf dunklem Untergrund. Die Ursache dieses Effektes beruht auf deren Eigenschaft, eindringende Lichtstrahlen aufzuspalten (darum die Bezeichnung doppelbrechend) und dabei ihre Schwingungsrichtung zu verändern. So gedrehte Lichtstrahlen werden dann auch vom Analysator durchgelassen und somit dem Auge zugänglich. Die sichtbar werdenden Farben sind Interferenzerscheinungen, die u. a. durch Dickenunterschiede im Präparat verursacht werden.

Verwenden Sie für den ersten Versuch ein selbstgefertigtes Präparat aus Zuckerkristallen. Das Rezept dazu finden Sie auf Seite 29.



Abb. 46
Auflegen des Polarisators auf den
Beleuchtungsstutzen.

Polarisator auf den Beleuchtungsstutzen legen. Der Griff der Filterfassung muß dabei in der dafür vorgesehenen Aussparung liegen.

Beleuchtung einschalten.

Objektiv 3,2/0.07 (wenn vorhanden) benutzen.

Analysator auf das Okular aufstecken (vorher Augenmuschel abnehmen).

Beim Binokulartubus werden zwei Analysatoren benötigt.

Beim *Monokulartubus* Polarisator so weit drehen, bis bei der Beobachtung durch das Okular das Licht völlig gesperrt, d. h. bis die bestmögliche Dunkelstellung erzielt wurde.

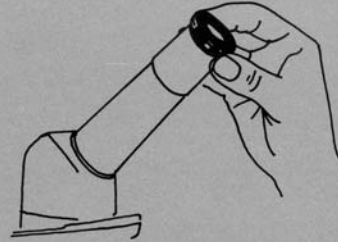


Abb. 47
Aufstecken des Analysators.

Beim *Binokulartubus* muß die bestmögliche Dunkelstellung für jedes Okular einzeln erreicht werden. Hierzu sind die beiden Okulare mit Analysatoren bei gleichzeitigem Blick durch dieselben zu drehen. Präparat auflegen und scharf einstellen. Aperturblende einstellen.



Abb. 48
Zuckerkristalle im polarisierten Licht.

Und nun wünscht Aperturix Ihnen viel Freude bei der „Forschungsarbeit“ mit Ihrem LEITZ HM-LUX 3, das Ihnen die Mikro-Welt zum Greifen nahe rückt.



Pssst!

Sollten Sie doch noch einige spezielle Fragen haben, so empfehle ich Ihnen unsere Broschüre „Das Mikroskop und seine Anwendung“.

Pflege des Mikroskops

Sollte von Zeit zu Zeit eine Reinigung notwendig sein, so verwendet man für die lackierten Teile einen Leinen- oder Lederlappen, der gegebenenfalls mit Benzin befeuchtet wird. Alkohol darf hierfür **nicht** verwendet werden, da dieser den Lack angreift.

Helle Flecken auf dem Objektisch lassen sich durch Einreiben mit Paraffinöl oder säurefreier Vaseline entfernen.

Wird mit Säuren oder anderen aggressiven Chemikalien gearbeitet, ist besondere Vorsicht geboten. Man vermeide unter allen Umständen die direkte Berührung der optischen und mechanischen Teile mit diesen Substanzen.

Die Mikroskop-Optik sollte peinlich sauber gehalten werden. Staub beseitigt man mit einem feinen Haarpinsel. Bei starker Verschmutzung kann ein mit destilliertem Wasser oder Alkohol angefeuchteter weicher Leinen- oder Lederlappen verwendet werden. Dabei ist besondere Vorsicht beim Reinigen reflexionsmindernder Schichten geboten. Die Außenflächen der Okulare und die Frontlinsen der Objektive tragen Schichten etwa von Glashärte und müssen entsprechend vorsichtig gereinigt werden.

Objektive dürfen zum Reinigen nicht auseinandergeschraubt werden. Zeigen sich Schäden in ihrem Inneren, so sind sie zur Instandsetzung an uns zu schicken. Auch von der Reinigung der

Innenflächen der Okulare wird abgeraten.

Mikroskope in warmen und feucht-warmen Klimaten brauchen außerdem besondere Pflege.

In feucht-warmen Klimaten ist es sinnvoll, der Fungusbildung keinen Vorschub zu leisten. Zu den Preventivmaßnahmen gehört an erster Stelle, neben der peinlichen Sauberkeit des Gerätes, die Aufbewahrung in einem Schrank, dessen Innentemperatur mindestens um 5° C über der Raumtemperatur liegt. Der Schrank muß unten und oben mit Lüftungslöchern versehen sein, die, zum Schutz vor Staub, mit Watte oder Gaze locker zugestopft werden. Besteht keine Möglichkeit solcher Aufbewahrung, ist das Mikroskop in einem geschlossenen Behälter mit ausreichender Menge eines Trockenmittels (z. B. Silikagel) zu stellen. Diese Vorsichtsmaßnahmen sollten selbst in Laboratorien mit Klimaanlage getroffen werden.

In warmen und trockenen Klimaten ist Staub der größte Feind des Gerätes. Deshalb sollte man es sofort nach Gebrauch mit der Schutzhülle zudecken bzw. nach Reinigung in einen Schrank stellen. Tritt eine Feuchtigkeitsperiode ein, die länger als einen Monat dauert, so ist die Aufbewahrung in einem warmen Schrank – wie oben beschrieben – notwendig.

Sachgemäße Behandlung erhält über Jahrzehnte die Leistungsfähigkeit eines Leitz-Mikroskops. Wird jedoch eine Überprüfung oder Reparatur notwendig, so wenden Sie sich bitte an die zuständige Leitz-Vertretung oder direkt an unseren

Technischer Service Instrumente
ERNST LEITZ WETZLAR GMBH
Postfach 20 27
D-6330 Wetzlar
Telex 4 83 727 elts

Stichwortverzeichnis

- Akkommodationstrieb 2, 6
Analysator 22, 23
Apertur (numerische Apertur) 10
Aperturblende 14, 15
Arbeitsabstand 11
Auflösung 10
Auflösungsgrenze 10
Auflösungsvermögen 10
Augenmuschel 4
Beleuchtungsspiegel 5
Deckglas 11, 13
Doppelbrechung 22
Dunkelfeld 18, 19
Einbaubeleuchtung 2, 5
Förderliche Vergrößerung 10
Freier Arbeitsabstand 11
Hellfeld 13–17
Immersionsöl 16, 17
Kondensator 5, 14, 19, 20
Kondensatorhalter 20
Kontrast 14, 15
Maßstabszahl 10
Mechanische Tubuslänge 11
Mikroskopstativ 2
Mikroskopvergrößerung 8, 9
Objektfeld 10
Objektführer 2, 4
Objektiv 2, 5, 8, 10, 11, 16
Objektivrevolver 2
Objekttisch 2, 4
Okular 2, 8, 10
Ölimmersion 16
Ölimmersionskappe 17
Phasenkontrast 20, 21
Polarisation 22, 23
Polarisator 22, 23
Sehfeldblende 10
Sehfeldzahl 10
Bezugssehweite 10, 11
Tiefenschärfe 14
Transformator 2
Tubus 2, 6
Zwischenbildebene 8, 9

Rezepte zur Herstellung einfacher mikroskopischer Präparate

von
Dr. H. Ahrberg



**Die im folgenden geschilderten Präparier-
techniken sollen lediglich Anregung sein zur
Herstellung einiger erster Total-, Zupf- oder
Schnittpräparate sowie deren mikro-
skopischen Untersuchung. In einigen Fällen
kann der durch das Mikroskop vermittelte
Eindruck des Präparates durch einfache
Nachweisreaktionen und Färbemethoden
noch vertieft und ergänzt werden.**

Erforderliches Material

Die wenigen präparativen Hilfsmittel sind zum Teil als sogenanntes „Kleines Präparierbesteck“ im Handel erhältlich.

Es sind dies:

- 1 spitze Pinzette
- 1 Federpinzette
- 2 Präpariernadeln
- 1 kleine spitze Schere
- 1 feiner Pinsel
- 1 Lanzettnadel
- 1 Skalpell
- 2 Pipetten
- Glas- und Holzstäbe
- einige neue Rasierklingen
- Objekträger (76 x 26 mm)
- Deckgläser
- Schreib- und Zeichenmaterial (Bleistifte versch. Härte, festes Zeichenpapier, weicher Radiergummi)
- Filterpapier
- Leinentuch

Reagenzien:

1. Jodjodkalium-Lösung (Lugolsche Lösung). Man löst zu ihrer Herstellung 2 g Kaliumjodid (KJ) und 1 g Jod in 300 ml destilliertem Wasser auf (Briefwaage).
2. Phloroglucin-Reagenz wird durch Auflösen von 1–5 g Phloroglucin in 100 ml 96%igem Alkohol hergestellt.
3. Methylenblau-Lösung (nach Löffler)
Herstellungsvorschrift:
2 g Methylenblau werden in 100 ml 70%igem Alkohol gelöst. 30 ml dieser haltbaren, unfiltrierten Stammlösung werden in 100 ml destilliertem Wasser verdünnt und mit 1 ml einer 1%igen Kalilauge versetzt. Die Gebrauchslösung ist lange haltbar. Tritt eine Trübung auf, muß sie filtriert werden.
4. Konzentrierte, aber nicht rauchende Salzsäure (HCl)
5. Einschlußmittel: Glycerin, Paraffinöl, Rizinusöl, Immersionsöl

Epithelzellen

Mit Hilfe eines Zahnstochers oder Spatels (Holzspachtel) wird im Mundinneren die Wangenschleimhaut leicht angekratzt. Das so entnommene Material wird mit einer Spur Speichel auf einen Objektträger aufgelegt und sofort mit einem Deckglas abgedeckt. Die so gewonnenen Epithelzellen sind im Hellfeld nur dann erkennbar, wenn die Aperturblende über das zulässige Maß hinaus eingengt wird.

Mikroskopierverfahren: Dunkelfeld, Phasenkontrast

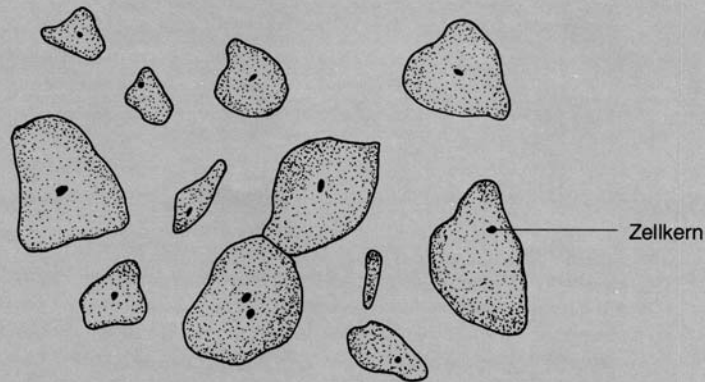


Abb. 1
Epithelzellen der Mundschleimhaut

Zahnbelag

Mit Hilfe eines Zahnstochers oder eines Holzstäbchens wird eine Spur Zahnbelag auf den Objektträger aufgebracht (als Immersionsmittel Wasser oder Speichel dazugeben) und ein Deckglas vorsichtig aufgedrückt (evtl. Zahnbelag mit dem Deckglas etwas verreiben).

Erkennbar sind verschiedenste Bakterienformen, insbesondere stäbchen- und kugelförmige.

Mikroskopierverfahren: Dunkelfeld, Phasenkontrast



Abb. 2
Bakterien des Zahnbelags
a) Stäbchenbakterien (*Bacillus maximus buccalis*
Leptothrix innominata)
b) Kugelbakterien (Mikrokokken)
c) Spirillen (*Spirochaeta dentium*)
d) Spirillen (*Vibrio buccalis*)

Joghurtpräparat

Eine weitere Bakterienform lernen wir mit dem Milchsäurebakterium (*Streptococcus lactis*) kennen. Es bildet aufgrund seines besonderen Teilungsrhythmus perlschnurartige Ketten. Zu seiner Darstellung zerreibt man mit einem Holzstäbchen etwas Joghurt auf einem Objektträger und zieht diesen daraufhin, um eine bessere Objekthftung zu erhalten, mit der Unterseite dreimal kurz durch eine Flamme. Nun läßt man einige Tropfen Methylblau-Lösung 15 Min. einwirken, spült dann mit Wasser kräftig ab und läßt antrocknen. Auf diese Weise haben wir uns ein einfaches Dauerpräparat hergestellt.

Zur Beobachtung wird mit einem Deckglas abgedeckt, als Einschlußmittel eignet sich Rizinusöl.

Mikroskopierverfahren: Hellfeld

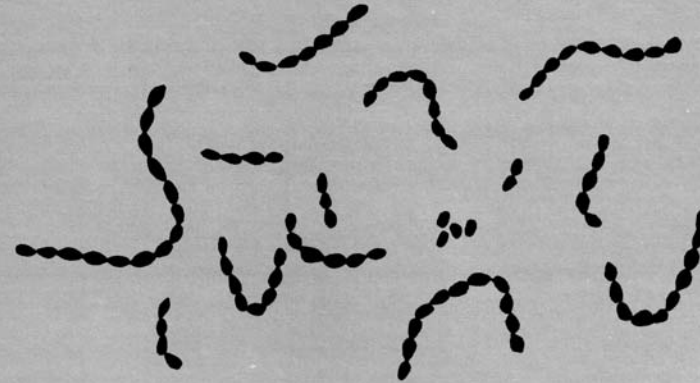


Abb. 3.
Streptococcus lactis in einem Joghurtpräparat

Blutausstrich

Ein Tropfen Blut wird mittels der schmalen Kante eines Objektträgers über die Fläche eines zweiten Objektträgers gezogen, so daß eine dünne, gleichmäßige Schicht entsteht. Um das Austrocknen zu verhindern, ist sofort ein Deckglas aufzulegen und mit Nagellack abzudichten.

Die Beobachtung zeigt uns fast ausschließlich rote Blutkörperchen. Sie haben die Form runder Scheibchen und sind in der Mitte etwas eingedellt. Ihr Durchmesser beträgt ca. $7\ \mu$ (Menschenblut).

Mikroskopierverfahren: Dunkelfeld, Phasenkontrast

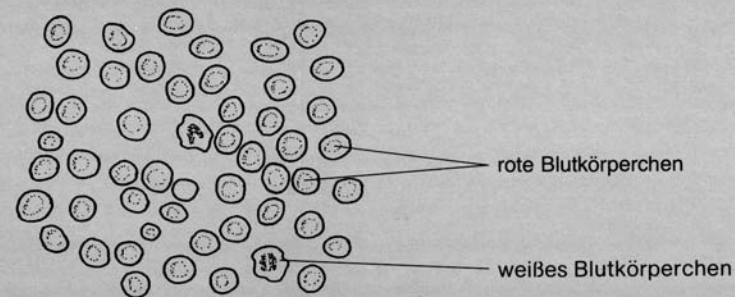


Abb. 4
Blutausstrich

Salz- und Zuckerkristalle

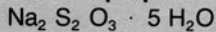
Einige Körnchen Kochsalz und Zucker werden auf dem Objektträger in zwei voneinander getrennten Tropfen Wasser aufgelöst; nach dem Eintrocknen erfolgt Einschluß in ein wasserfreies Medium (z. B. Paraffinöl, Immersionsöl) und Abdecken mit einem Deckglas. Langsames Eintrocknen (Glas überstülpen) begünstigt das Entstehen von regelmäßigen Kristallen. Schnelles Eintrocknen, z. B. auf der Heizung, führt zu skelettförmigen Kristallen (Dendriten).

Lediglich die Form und evtl. Einschlüsse der Kristalle sind nun sichtbar.

Kochsalz bleibt im polarisierten Licht dunkel, da es nicht doppelbrechend ist. Dünne Zuckerpräparate zeigen dagegen die typischen Polarisationsfarben.

Mikroskopieverfahren: Hellfeld, Dunkelfeld, Phasenkontrast, Polarisation

Schmelzpräparat von Fixiersalz (Natriumthiosulfat)



Man bringt ein etwa stecknadelkopfgroßes Stückchen Fixiersalz auf einen Objektträger. Auf das Salz legt man ein Deckglas locker auf. Nun läßt man das Salzkörnchen schmelzen, indem man den Objektträger auf eine Heizplatte (Stufe I) legt oder ihn einige Male mit der Unterseite durch eine Flamme zieht.

Durch leichten Druck mit einer Präpariernadel auf das Deckglas breitet sich das geschmolzene Fixiersalz darunter gleichmäßig in einer dünnen Schicht aus. Während des Abkühlvorgangs kristallisiert das Fixiersalz wieder aus, was sich im polarisierten Licht direkt beobachten läßt.

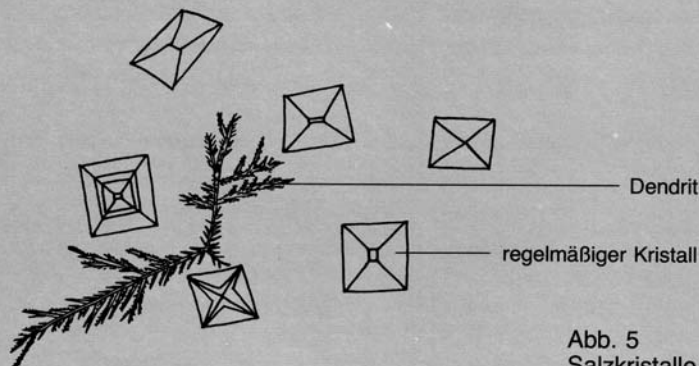


Abb. 5
Salzkristalle

Heuaufguß

Übergießt man in einem offenen Gefäß etwas Heu oder Stroh mit Wasser aus einem Tümpel, so bedeckt sich der Aufguß nach einigen Tagen mit einer Haut, der sogenannten Kahnhaut. Sie besteht vorwiegend aus Bakterien. Darüber hinaus entwickeln sich aber auch im Innern der Flüssigkeit eine Vielzahl von Kleinstlebewesen (Infusorien), meist Einzeller, wie z. B. das bekannte Pantoffeltierchen (Paramecium), das festsitzende Glockentierchen (Vorticella) oder auch das Trompetentierchen (Stentor). Sie alle sind, nachdem sie in einem Tropfen Aufgußwasser zwischen Deckglas und Objektträger gebracht worden sind, interessante und reizvolle Objekte für den Beobachter.

Mikroskopieverfahren: Hellfeld, Dunkelfeld und Phasenkontrast

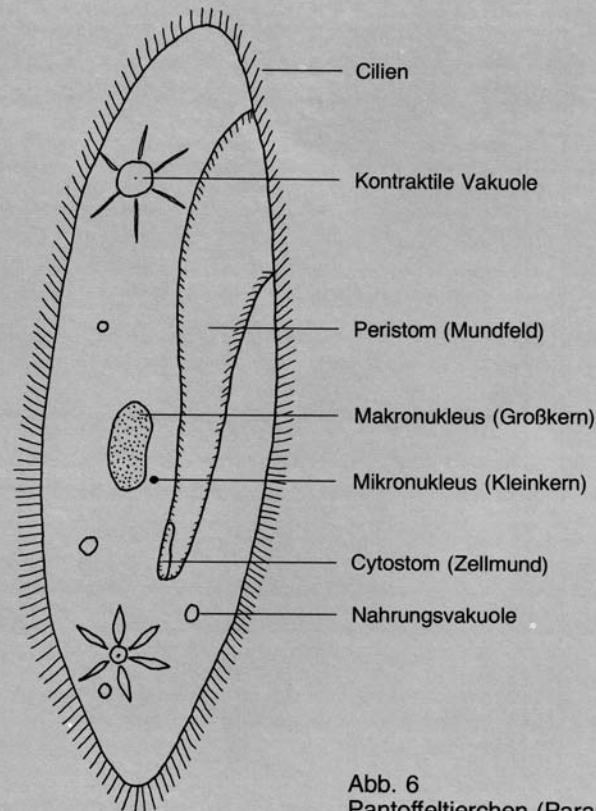


Abb. 6
Pantoffeltierchen (Paramecium)

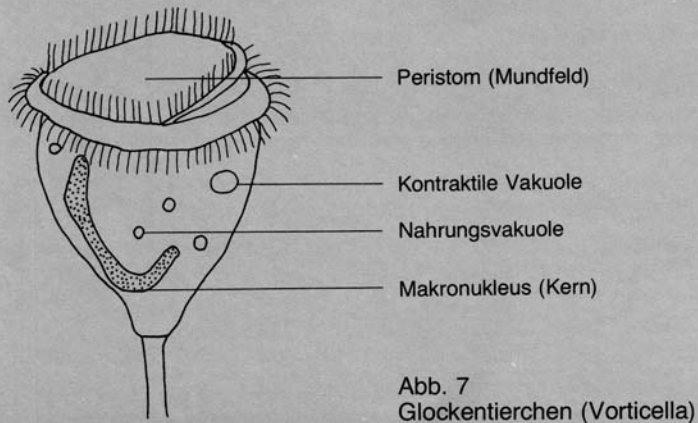


Abb. 7
Glockentierchen (Vorticella)

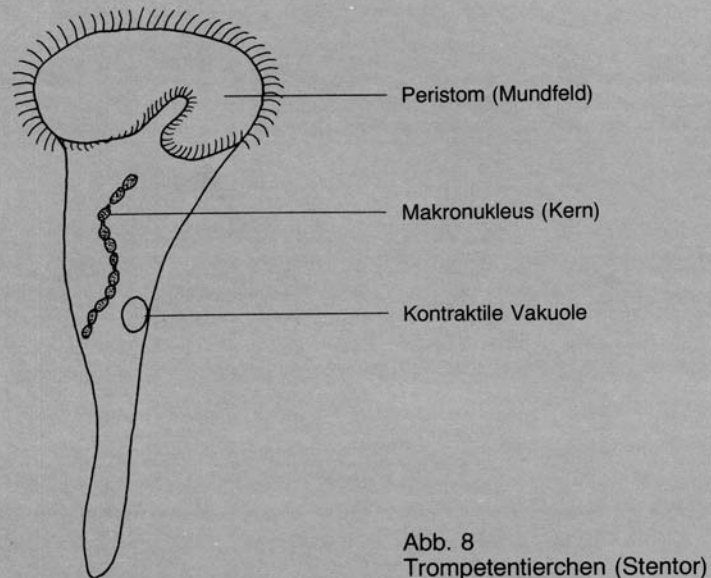


Abb. 8
Trompetentierchen (Stentor)

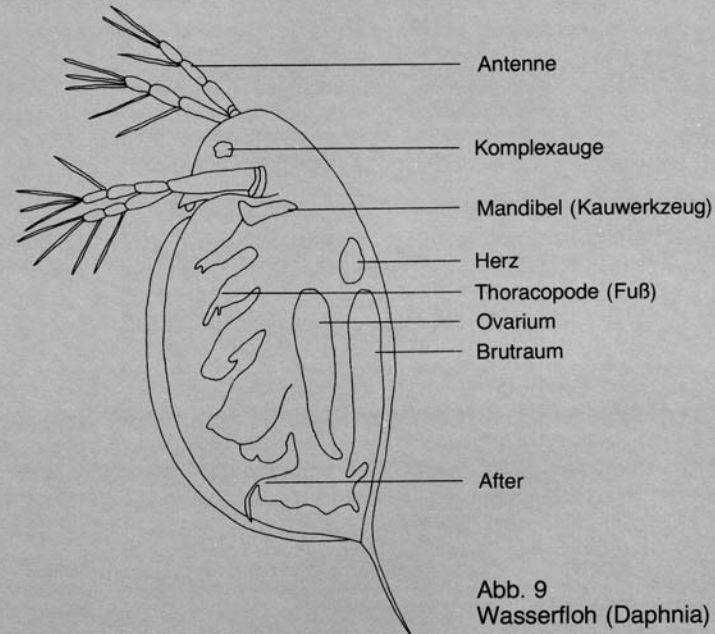


Abb. 9
Wasserfloh (Daphnia)

Wasserfloh (Daphnia) und Hüpferling (Cyclops)

Wasserflöhe und Hüpferlinge sind jedem, der ein Aquarium besitzt, als gutes Fischfutter bekannt. Sie sind in Zoohandlungen zu beziehen, jedoch kommen sie auch überall in Teichen und Tümpeln vor, z. T. in großen Mengen. Die gut sichtbaren Kleinkrebse werden mit Hilfe einer weiten Pipette zusammen mit etwas Wasser auf einen Objektträger gebracht.

Da sie dort durch ihr schnelles Umherschwimmen die Beobachtung erschweren, wird das Deckglas auf der Unterseite an allen vier Ecken mit „Füßchen“ aus weichem Wachs, Plastilin o. ä. (Knetmasse) versehen, die dann beim Beobachten so weit zusammengedrückt werden, bis die Tiere gerade festliegen.

Mikroskopieverfahren: Hellfeld, Dunkelfeld und Phasenkontrast

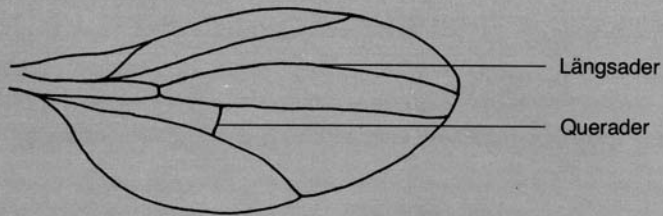


Abb. 10
Flügel der Stubenfliege (*Musca domestica*)

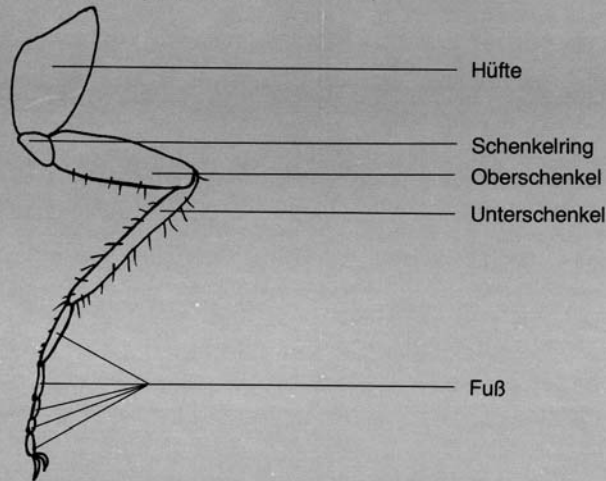


Abb. 11
Bein der Stubenfliege (*Musca domestica*)

Flügel und Extremitäten der Stubenfliege (*Musca domestica*)

Für mikroskopische Untersuchungen bieten sich aus dem Reich der Insekten zahlreiche Objekte an. Von einer getöteten Fliege hebt man mit einer Pinzette einen Flügel hoch, schneidet ihn an der Wurzel mit einer feinen Schere ab und legt ihn zur genaueren Untersuchung zwischen zwei Objektträger¹.

Nun trennt man ebenfalls mit einer Schere von einem Brustsegment ein Bein ab, legt es auf einen Objektträger und beobachtet, ohne mit einem Deckglas abzudecken². Das Fliegenbein besteht aus fünf Teilen, der Hüfte, dem Schenkelring, dem Oberschenkel, dem Unterschenkel und dem Fuß. Dieser setzt sich wiederum aus fünf Gliedern zusammen.

Mikroskopieverfahren: Hellfeld

1. Die Beobachtung, die nur mit den Objektiven 3,2/0.07 und 10/0.25 erfolgt, läßt sehr schön ein System verzweigter Längs- und Queradern erkennen.
2. Auch hier wird die Beobachtung nur mit den Objektiven 3,2/0.07 und 10/0.25 vorgenommen.

Pflanzliche und synthetische Fasern, Haare

Man kann sie sich leicht beschaffen, indem man sie mit Hilfe einer Pinzette aus den verschiedensten Kleidungsstücken und Stoffresten herauszupft. Ihre Einbettung erfolgt in Glycerin oder Immersionsöl.

Für vergleichende Untersuchungen kann man auch mehrere Fasern oder Haare nebeneinander mit Hilfe von zwei Klebestreifen auf den Objektträger spannen. Die beiden Klebestreifen müssen dabei außerhalb von Einbettmedium und Deckglas liegen.

Mikroskopieverfahren: Hellfeld, Dunkelfeld, Phasenkontrast, Polarisation

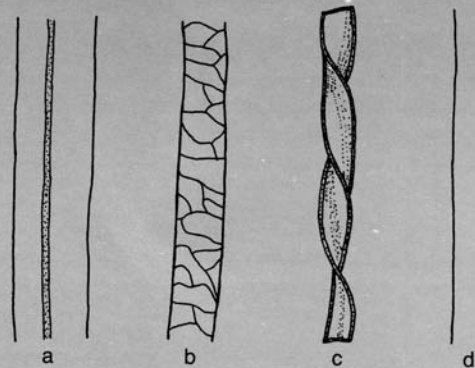


Abb. 12
Haare und Fasern
a) Menschenhaar
b) Schaftwolle
c) Baumwolle
d) Synthetische Faser

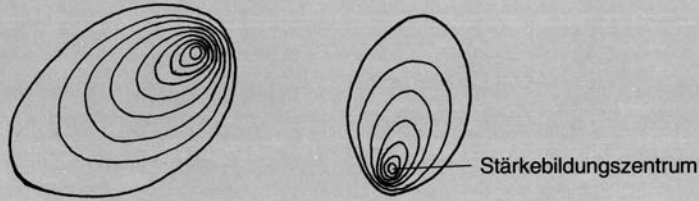


Abb. 13
Stärkekömer der Kartoffel (*Solanum tuberosum*)

Stärkekömer der Kartoffel (*Solanum tuberosum*)

Mit Hilfe des Skalpell wird an einer frisch durchgeschnittenen Kartoffel von der Schnittfläche etwas Material abgekratzt und in einen auf einem Objektträger befindlichen Wassertropfen verrührt. Das Ganze wird mit dem Deckglas abgedeckt und mit dem Mikroskop beobachtet. Nun saugt man Jodjodkalium-Lösung durch das Präparat, indem man mit einem Glasstab wenige Tropfen der Lösung an einen Rand des Deckglases bringt und sie an dem gegenüberliegenden Rand mit Hilfe von Fließpapier durchsaugt. Während des Durchsaugens wird gleichzeitig durch das Mikroskop beobachtet. Die Stärkekömer färben sich zunächst blau und werden schließlich fast schwarz.

Mikroskopieverfahren: Hellfeld, Polarisation

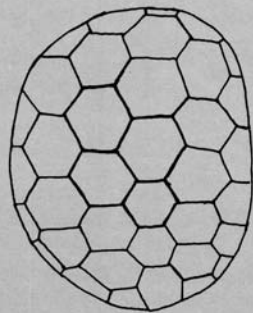


Abb. 14
Zusammengesetztes
Stärke Korn des Hafers
(*Avena sativa*)

Stärkekömer des Hafers (*Avena sativa*)

Ein trockenes Haferkorn wird quer durchgeschnitten. Aus seinem Inneren schabt man etwas Mehl auf einen Objektträger. Auch hier wird zuerst in Wasser beobachtet und dann Jodjodkalium durch das Präparat gesaugt.

Mikroskopieverfahren: Hellfeld, Polarisation

Querschnitt durch ein Weizenkorn (*Triticum aestivum*)

Ein befriedigender Querschnitt durch ein Weizenkorn, das vorteilhafterweise vorgequollen sein sollte, wird erst gelingen, wenn man es in Längsrichtung orientiert in einen Korken gesteckt hat und dann diesen mit Hilfe einer Rasierklinge senkrecht zur Längsachse schneidet. Man sollte prinzipiell immer gleich mehrere Schnitte anfertigen, um dann die dünnsten in einem Tropfen Wasser zu untersuchen. Eine Behandlung mit Jodjodkalium verdeutlicht zum einen den hohen Stärkeanteil des Weizenkorns, zum anderen zeigt sie eine Zellschicht, die sogenannte Aleuronschicht. Diese besteht aus Eiweiß und hat sich mit der Jodjodkalium-Lösung braun gefärbt.

Mikroskopieverfahren: Hellfeld

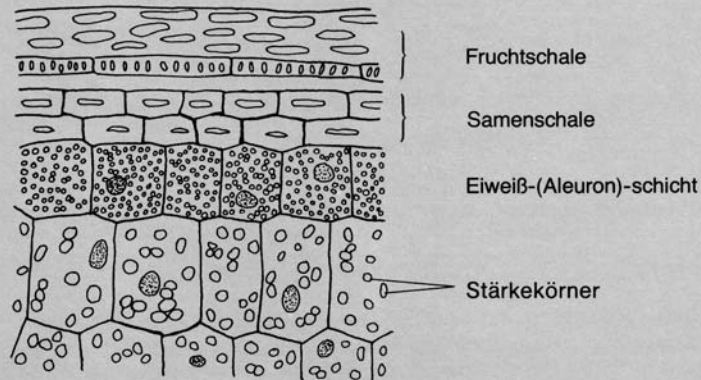


Abb. 15
Querschnitt durch den äußeren Bereich eines Weizenkorns
(*Triticum spec.*)

Kristalle bei Begonien (*Begonia rex*)

In älteren Blattstielen von Begonien findet man häufig Zellen mit oktaedrischen Einzelkristallen bzw. auch mit sogenannten Kristalldrüsen. Diese bestehen aus einem Mutterkristall, dem mehrere Sekundärkristalle aufgelagert sind. Die Präparation ist einfach. Man legt durch die Blattstiele möglichst dünne Querschnitte, auch Längsschnitte sind möglich. Beobachtet wird in Wasser. In der Regel bestehen Kristalle in pflanzlichen Geweben aus *Calcium-Carbonat* (CaCO_3) oder *Calcium Oxalat*. Die ersteren lösen sich in verdünnter *Essigsäure* und in verdünnter Salzsäure (HCl), die Calcium-Oxalat-Kristalle dagegen nur in verdünnter Salzsäure (HCl).

Zur Überprüfung der stofflichen Zusammensetzung der bei Begonien vorkommenden Kristalle überführt man einige der angefertigten Schnitte auf Objektträger mit wenigen Tropfen verdünnter *Salzsäure* (HCl) bzw. verdünnter *Essigsäure*. Nachdem man mit dem Deckglas abgedeckt hat, kann man das Lösungsverhalten unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrößerung feststellen.

Mikroskopieverfahren: Hellfeld, Phasenkontrast, Dunkelfeld, Polarisation

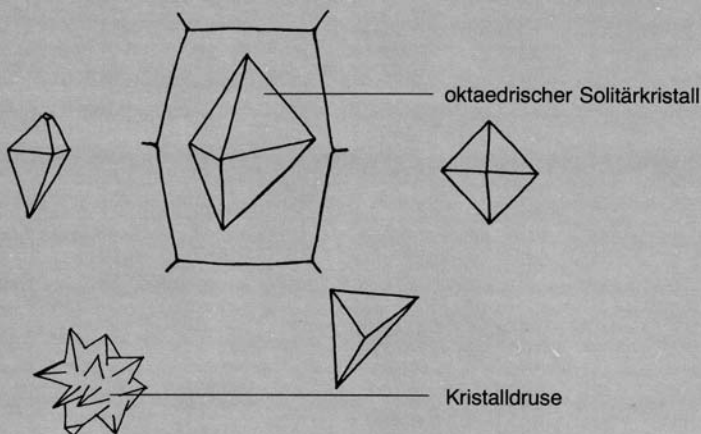


Abb. 16
Oxalatkristalle bei Begonien (*Begonia rex*)

Brennhaare der Brennessel (*Urtica dioica*) und Drüsenhaare von Pelargonien (*Pelargonium zonale*)

Die schon mit bloßem Auge sichtbaren Brennhaare der Brennessel lassen sich am günstigsten am Blattstiel oder an der Unterseite der Rippe eines nicht zu alten Blattes mit einer Rasierklinge unmittelbar entlang der Oberhaut (Epidermis) abrasieren und in Wasser übertragen. Bei den Drüsenhaaren der Pelargonien fertigt man Querschnitte durch den Blattstiel an. Da die Spitzen der Brennhaare bzw. die Drüsenköpfchen der Drüsenhaare leicht abbrechen, sollte man sehr vorsichtig präparieren.

Mikroskopieverfahren: Hellfeld

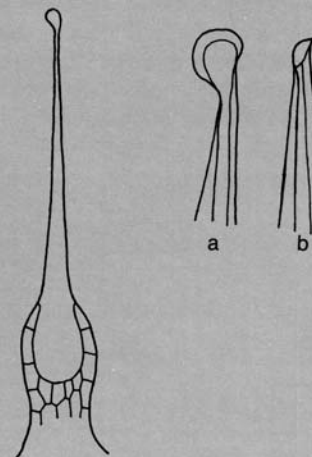


Abb. 17
Brennhaar der Brennessel (*Urtica dioica*)
a) Ende des Brennhaares
b) Brennhaar mit abgebrochenem Köpfchen

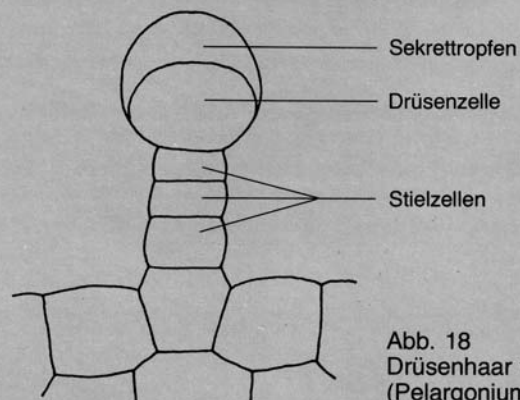


Abb. 18
Drüsenhaar von Pelargonien (*Pelargonium zonale*)

Epidermiszellen der Zwiebeln (Allium cepa)

Eine Zwiebel wird in Längsrichtung in einzelne Segmente zerschnitten. Man löst eine Zwiebelschuppe heraus. Im mittleren Bereich ihrer konkaven Innenseite (= Oberseite der Schuppe) teilt man die Epidermis in kleine Rechtecke auf. Einen Wassertropfen auf einen Objektträger bringen. Mit einer Pinzette ein feines Häutchen von einem der Rechtecke abziehen und mit seiner Oberseite nach oben auf den Wassertropfen legen. Danach mit einem Deckglas abdecken.

Mikroskopierverfahren: Hellfeld, Dunkelfeld, Phasenkontrast

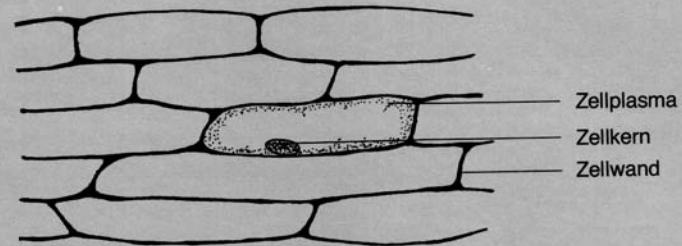


Abb. 19
Epidermis einer Zwiebelschuppe (Allium cepa)

Plasmaströmung bei Wasserpest (Elodea canadensis) oder Sumpfschraube (Vallisneria spiralis)

Das eigenartige Phänomen der Plasmaströmung läßt sich bei den obengenannten Aquariumpflanzen, die man in jeder Zoohandlung erhalten kann, besonders schön darstellen. Zur Präparation spannt man ein Blattstück über den Zeigefinger, hält seine beiden Enden mit Daumen und Mittelfinger fest und führt mit der Rasierklinge einen Schnitt parallel zur Blattoberfläche nahe der Mittelrippe. Die Schnittdicke soll etwa halb so dick wie das ganze Blatt sein. Jetzt wird die Blattunterseite mit der Oberhaut (Epidermis) des Blattes nach unten in einen Tropfen Wasser gelegt und mit dem Deckglas abgedeckt. Schon bald setzt eine kräftige Plasmaströmung, ausgelöst durch die Verletzung des Gewebes bei der Präparation, ein. Sie ist an den mitgeschleppten Plastiden leicht zu erkennen.

Mikroskopierverfahren: Hellfeld

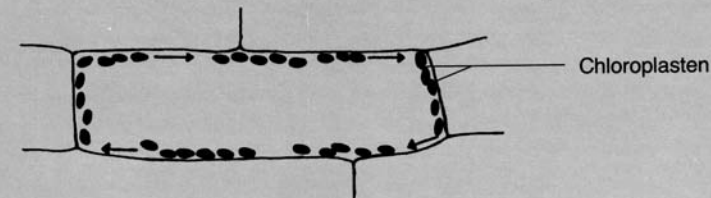


Abb. 20
Zelle aus dem Blattgewebe von Vallisneria
Die Pfeile geben die Richtung der Plasmaströmung an.

Wurzelpräparat

Man läßt Kresse- (*Lepidium sativum*) oder Senfsamen (*Sinapis alba*) in einer feuchten Kammer (mit ständig angefeuchtetem Filterpapier ausgelegte Petrischale) eine knappe Woche keimen. Nun kann man die feinen Wurzeln mit einer Rasierklinge vom Keimling vorsichtig abschneiden und in Wasser beobachten. Störende Luftblasen im Präparat lassen sich vermeiden, wenn man die Wurzeln zuerst kurze Zeit in 96%igen Alkohol gelegt hat. Ein leichtes Quetschen der Wurzel durch Druck auf das Deckglas (Holzstäbchen) kann die Information über ihren Feinbau erhöhen.

Mikroskopieverfahren: Hellfeld

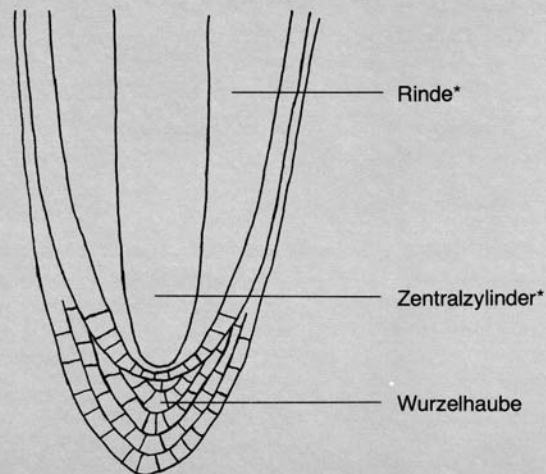


Abb. 21
Wurzelspitze in Längsansicht
* Zellen sind aus Gründen der Übersicht weggelassen.

Stengelquerschnitt mit Leitbündeln

Dünne Stengel des kriechenden Hahnenfußes (*Ranunculus repens*) werden zwischen die Spalzhälften einer Stange Holundermark (die evtl. vorher etwas ausgehöhlt worden ist) gelegt, quer geschnitten und in Wasser untersucht.

Die Leitbündel (Orte der Wasser- und Assimilateleitung) sind auf einem Kreis angeordnet. Die verholzten Bereiche der Bündel färben sich durch Phloroglucin und Salzsäure intensiv rot. Man geht bei der Färbung folgendermaßen vor:

Wie wir es bei der Jod-Stärkereaktion durchgeführt haben, saugen wir zunächst das Phloroglucin durch das Präparat zum Schnitt hin, lassen etwas einwirken, um nun von der anderen Seite konzentrierte Salzsäure (HCl) dazuzugeben und ebenfalls durchzusaugen.

Mikroskopieverfahren: Hellfeld

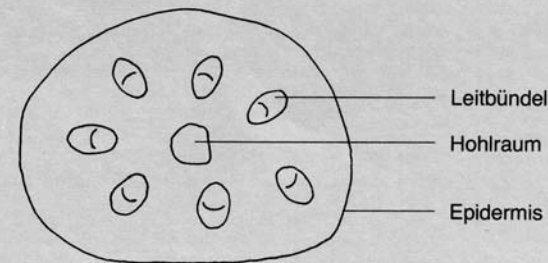


Abb. 22
Querschnitt durch einen Stengel vom kriechenden Hahnenfuß (*Ranunculus repens*) – Übersichtsschema –

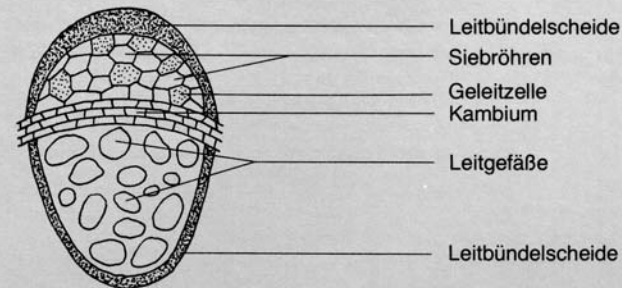


Abb. 23
Leitbündel vom kriechenden Hahnenfuß (*Ranunculus repens*) – Übersichtsschema –

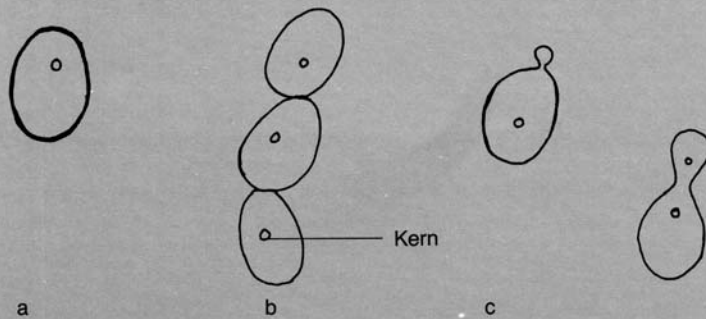


Abb. 24
 a) Hefezelle
 b) Sproßkette
 c) Hefezellen in Knospung

Hefezellen

Bäckerhefe (es eignet sich auch Trockenbackhefe) gibt man in eine 10%ige Zuckerlösung und läßt 24 Stunden stehen. Nach dieser Zeit lassen sich die Hefezellen, auch in Knospung, in Tropfen dieser Lösung, nach Abdeckung mit einem Deckglas, unter dem Mikroskop beobachten.

Mikroskopierverfahren: Hellfeld, Dunkelfeld, Phasenkontrast

Schimmelpilze

Schimmelpilze findet man oft auf zu feucht gelagertem älteren Brot, auf Käse und Marmelade. Meist handelt es sich dabei um den Pinselschimmel und Köpfchenschimmel (Penicillium-Aspergillus-Arten). Aber auch Camembert oder Brie Käse sind sehr oft außen dicht bewachsen von weißlichem Mycel einer speziellen Penicillium-Art, welche die typischen Geschmacksstoffe dieser Käsesorten produziert.

Zur Präparation nehme man mit einer feinen Pinzette die Pilzfäden (Hyphen) bzw. Sporenträger (Konidienträger) vom befallenen Substrat und zerzupfe sie mit zwei Präpariernadeln in einem Wassertropfen auf dem Objektträger. Vor dem Mikroskopieren wird mit einem Deckglas abgedeckt.

Mikroskopierverfahren: Hellfeld, Dunkelfeld, Phasenkontrast

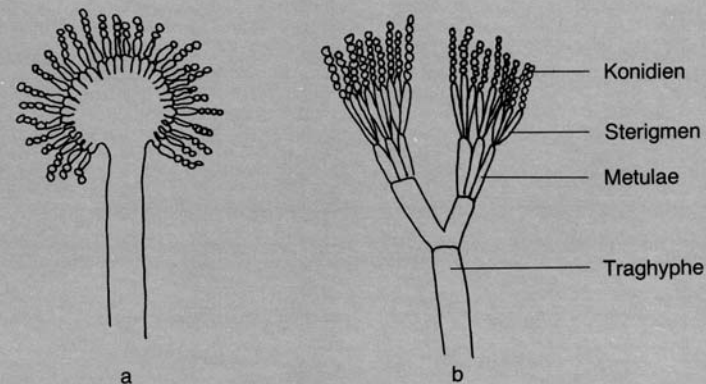


Abb. 25
 Schimmelpilze
 a) Aspergillus
 b) Penicillium

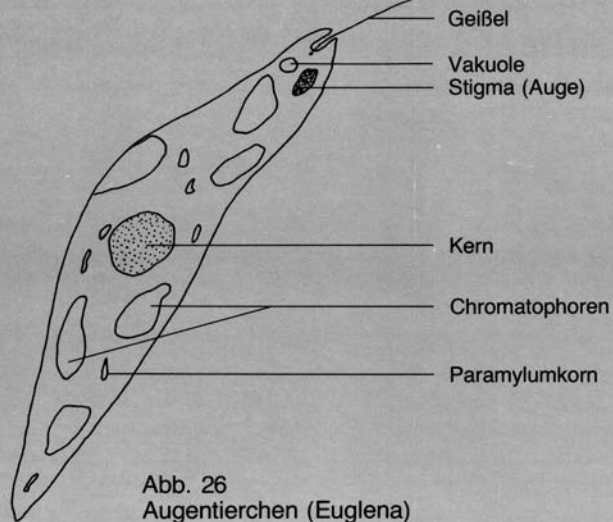


Abb. 26
Augentierchen (Euglena)

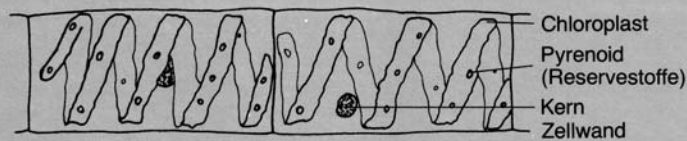


Abb. 28
Schraubenalge (Spirogyra)

Algen

Das Wasser in Gräben, Pfützen und Tümpeln mit Jauchezufluß ist oft, gerade in der wärmeren Jahreszeit, grün gefärbt. Die Färbung stammt von z. T. einzelligen, wie auch oft zu Zellkolonien zusammengeschlossenen, mikroskopisch kleinen Grünalgen. Besonders bekannt ist das „Augentierchen“ (Euglena). Auch auf Baumrinden, Mauern und Zäunen bilden einzellige Grünalgen grüne Überzüge.

Der braune Belag im Wasser liegender Steine wird in der Mehrzahl ebenfalls von einzelligen Algen, den Kieselalgen (Diatomeen) gebildet.

Von Frühjahr bis Herbst können wir in Tümpeln eine fädige Alge, die Schraubenalge (Spirogyra) beobachten. Sie schwebt grüner Watte gleichend im Wasser.

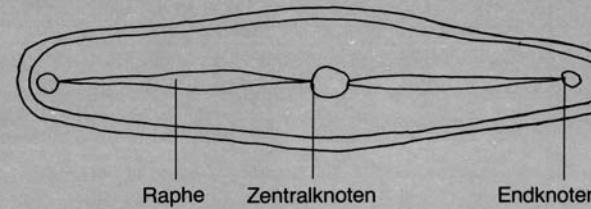


Abb. 27
Kieselalge (Diatomee) in Schalenansicht

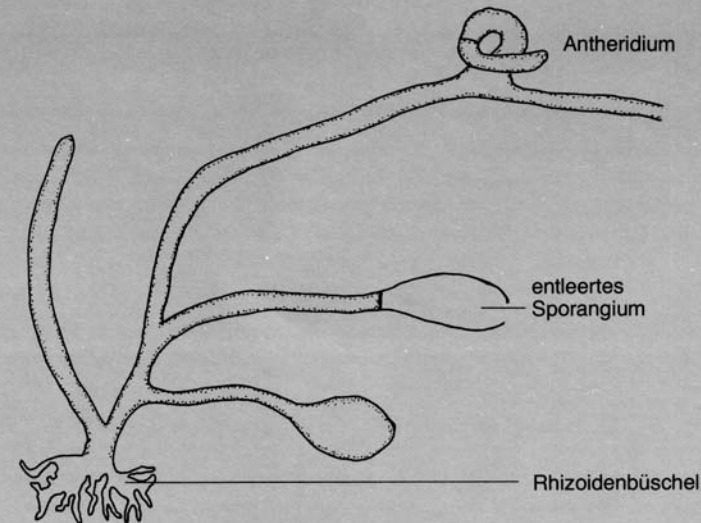


Abb. 29
Schlauchalge (Vaucheria)

Ebenfalls leicht verfügbar lebt die fädige Schlauchalge (Vaucheria) auf feuchter Erde und feuchten Blumentöpfen. Die Präparation der Algen ist relativ einfach:

Die Einzelligen überführt man mit einem Glasstab oder einer Pipette direkt mit dem Wasser ihres Standortes auf den Objektträger, die Fädigen mit einer Pinzette. Die Fäden werden anschließend mit Präpariernadeln vorsichtig ausgebreitet, dann wird mit einem Deckglas abgedeckt.

Mikroskopieverfahren: Hellfeld, Dunkelfeld, Phasenkontrast

ERNST LEITZ WETZLAR GMBH

D-6330 Wetzlar · Telefon (0 64 41) 29-0 · Telex 483 849 leiz d

® = registriertes Warenzeichen

Änderungen in Konstruktion und Ausführung vorbehalten.

Bestell-Nummern der Ausgaben in

englisch	französisch	spanisch	italienisch
933 127	933 172	933 261	933 317

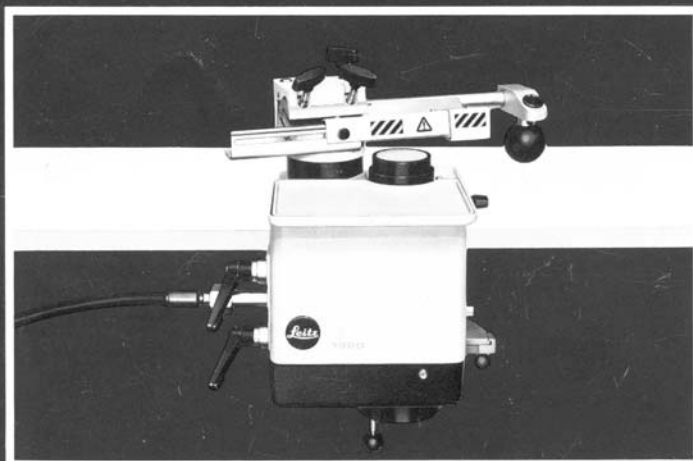
LEITZ WETZLAR und WILD HEERBRUGG

Zwei Unternehmen von Weltruf – Das führende Programm
der Mikroskopie und Meßtechnik.

Weltweite Gemeinsamkeit in Forschung, Fertigung, Vertrieb
und Service garantiert Ihnen das optimale Leistungsangebot
optisch-feinmechanisch-elektronischer Systeme.



Leitz heißt Präzision.
Weltweit.



Die Präzision eines Leitz-Mikrotoms gewährleistet die volle Nutzung der optischen Qualität des Mikroskops.

Das Mikrotom LEITZ 1320 eignet sich besonders für die Herstellung von mikroskopischen Präparaten für den Biologieunterricht. Es kann platzsparend mit Hilfe zweier Klemmschrauben an jedem stabilen Tisch befestigt werden, und ist einfach zu bedienen. Die Schnittdickeneinstellung, wählbar in Schritten von $2,0 \mu\text{m}$, reicht von $2,0 \mu\text{m}$ bis $30 \mu\text{m}$.

Für Objekte, die z.B. in Paraffin eingebettet sind, steht eine spezielle Objektklemme zur Verfügung. Mit Hilfe der eingebauten CO_2 -Gefriervorrichtung kann frisches oder fixiertes Material geschnitten werden.

Für eine stufenlose Objektkühlung bis -40° steht das Mikrotom LEITZ 1321 mit dem KRYOMAT[®] 1703 zur Verfügung.