

Umgekehrte Mikroskope und ihr Gebrauch in der Biologie

Die Erfindung des umgekehrten Mikroskopes

Wir sind daran gewöhnt, in ein Mikroskop von oben zu blicken. Der Untersuchungsgegenstand liegt unter der abbildenden Optik. Manche Objekte, beispielsweise Niederschläge von Chemikalien in Lösungen, lassen sich bequemer untersuchen, wenn das mikroskopische Objektiv von unten auf den Boden des Reaktionsgefäßes gerichtet ist. In den dreißiger Jahren des vorigen Jahrhunderts baute — zunächst in Anlehnung an ein Instrument des Italieners GIAMBATTISTA AMICI — der Pariser Mikroskopkonstrukteur CHARLES LOUIS CHEVALIER einen sogenannten „mikrochemischen Apparat“ (Abb. 1). Dies war ein Mikroskop mit horizontalem Tubus, an dessen einem Ende ein Prisma die Lichtstrahlen zu den nach oben weisenden Objektiven umlenkte. Beleuchtet wurde mittels eines Spiegels und eines „Diaphragmas“ (einer Blende) durch eine Bohrung im Objektstisch. Abgesehen von diesem einfachen Beleuchtungsapparat enthält dieses vor etwa 150 Jahren entworfene Gerät CHEVALIERS alle wesentlichen Teile eines Mikroskopes für Arbeiten in durchfallendem Licht. Der Amerikaner LAWRENCE SMITH änderte 1850 die Konstruktion etwas ab. Er entwarf einen Tubus für Schrägeinblick, wozu das Umlenkprisma eine andere Form erhalten mußte. Weitere, für das Prinzip belanglose, für die Praxis aber sehr wichtige Verbesserungen machten das umgekehrte Mikroskop von SMITH recht handlich (Abb. 2). Gebaut haben es die Pariser Firma NACHET und später die Firma J. & W. GRUNOW, New Haven, Connecticut (vgl. WISCHNITZER 1958). Eine ähnliche Konstruktion erdachte etwa gleichzeitig der Londoner LEESON. — Da manche Bestandteile der abbildenden Optik dieser ersten umgekehrten Mikroskope noch recht unvollkommen waren, scheinen diese Geräte in der Folgezeit wieder in Vergessenheit geraten zu sein.

Abb. 1. CHEVALIERS „mikrochemischer Apparat“, das erste Mikroskop umgekehrter Bauart für Arbeiten im Durchlicht. Der Spiegel h' lenkt das Licht durch die Blende p' auf das Präparat auf dem Objektisch $z'z'$, unter dem sich das Objektivrohr x befindet. Dem Tubus r ist ein schmaleres Rohr v angepaßt, worin sich das Umlenkprisma befindet. Nach HARTING (1866).

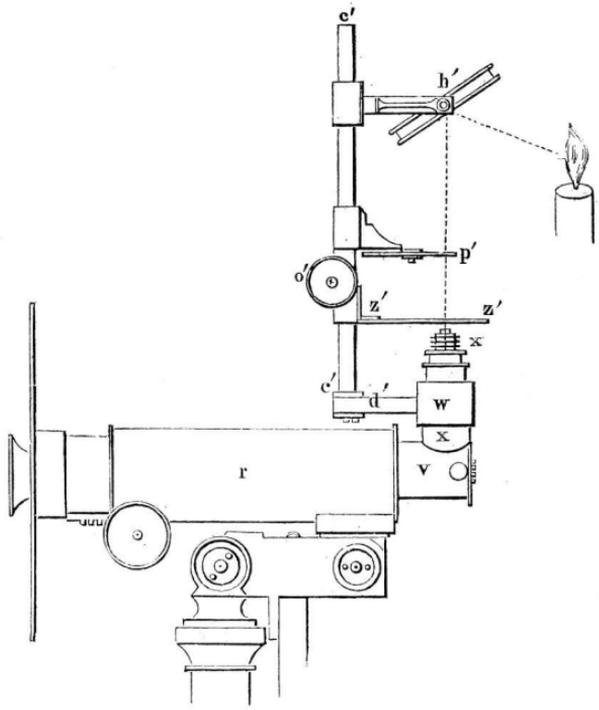
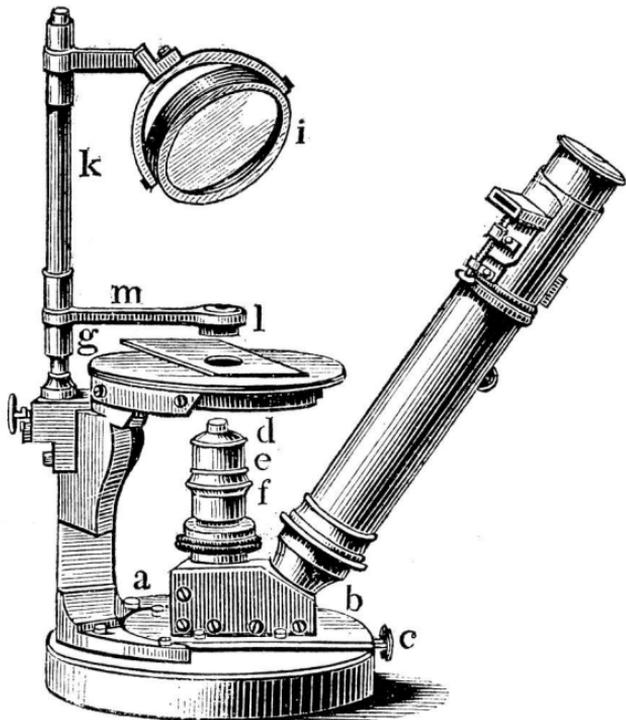


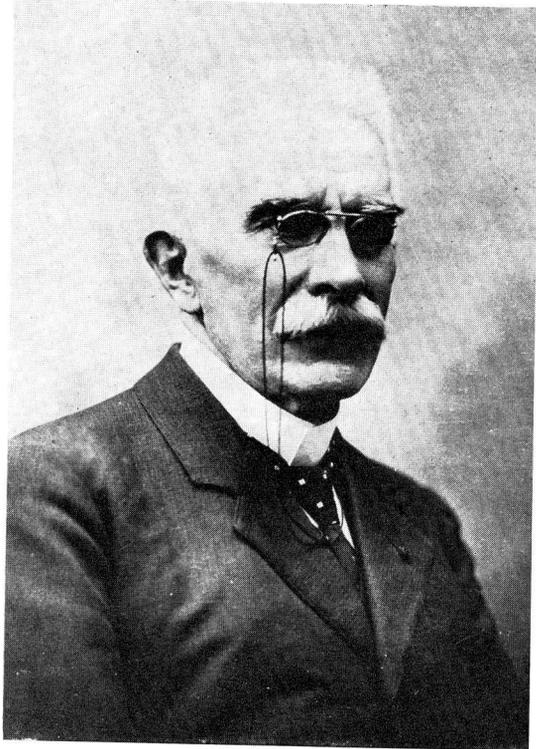
Abb. 2. Umgekehrtes Mikroskop nach LAWRENCE SMITH, hergestellt um 1850 von der Firma NACHET, Paris. Nach HARTING (1866).



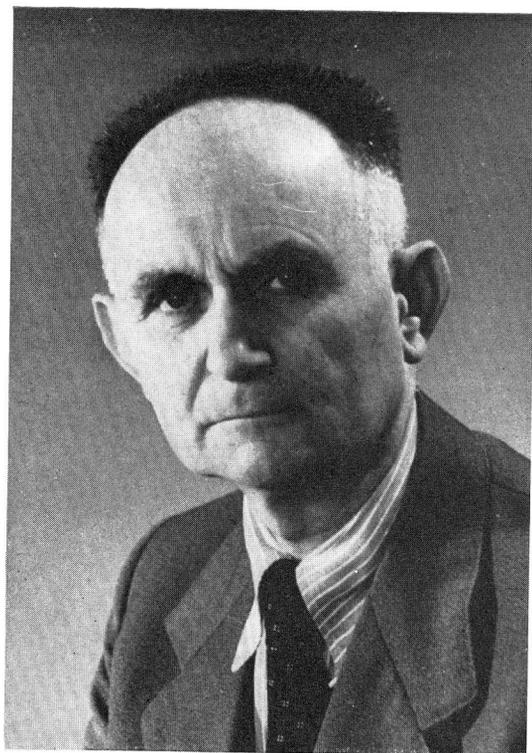
PIETER HARTING, dessen berühmtem Werk „Het Mikroskoop“ die meisten der vorstehenden Informationen entstammen, erwähnt es als Sonderkonstruktion für etwas ausgefallene Arbeiten.

Mikroskopie in der Metall- und Planktonforschung

Um die Wende des 19. zum 20. Jahrhundert blühte als neuer Forschungszweig die mikroskopische Metalluntersuchung auf. Schon vorher hatten verschiedene Forscher darauf hingewiesen, wie aufschlußreich die Prüfung des Kleingefüges von Metall-Legierungen mit dem Mikroskop ist. Doch waren solche Untersuchungsverfahren nicht konsequent ausgebaut worden. Die Voraussetzungen waren aber gegeben, die erforderlichen Einrichtungen im Prinzip schon mehrere Jahrzehnte bekannt, so daß es nur des praktischen Einsatzes bedurfte, um die brauchbaren Apparaturen herauszufinden und zu zweckentsprechender Ausführung weiterzuentwickeln. Zum einen galt es, die undurchsichtigen Objekte in geeigneter Weise zu beleuchten, zum anderen, brauchbare Mikroskopstative zu entwickeln. — Anfänglich benutzte man beim Mikroskopieren nur die Auflichtbeleuchtung. ROBERT HOOKE (1667) entdeckte mit diesem Verfahren die Zellstruktur des Flaschenkorkes. Und auch die anderen „Mikrographen“ arbeiteten damit. Den Gedanken, die Untersuchungsgegenstände zu durchleuchten — soweit sie das zulassen oder dafür präpariert werden können —, schreibt man dem Jesuitenpater FILIPPO BUONANNI (= PHILIPPUS BONANNUS) (1691) zu (vgl. SCHERTEL 1907). Bald wurde das Durchlichtverfahren allgemein üblich. Das Auflichtverfahren verlor an Bedeutung. Stärker vergrößernde Objektive, deren Herstellung man gelernt hatte, sind in der Regel kurzbrennweitig. Demgemäß haben sie einen geringen Arbeitsabstand, so daß nicht mehr genügend Licht von der Seite und gar keines von oben auf das Präparat fallen kann, wenn man sie einsetzt. Will man das Auflichtverfahren auch bei hoher Objektivvergrößerung benutzen, muß das Licht anderweitig Zutritt erhalten. Dazu dienen sogenannte Vertikalilluminatoren. Bei diesen Vorrichtungen bedient man sich planparalleler Glasplättchen, durchbohrter Spiegel oder seitlich angebrachter Glasprismen, mit deren Hilfe Licht aus derselben Richtung auf das Objekt geworfen werden kann, aus der es betrachtet wird. — Das für eine metallmikroskopische Untersuchung vorgesehene Werkstück mußte planparallel geschliffen werden, damit es dem Objektisch eben auflag und seine durchzumusternde Oberfläche im Bereich der Schärfenebene des Objektivs blieb. Das war zeitraubend. Nur die Untersuchungsfläche zu polieren bedeutete einen weit geringeren Arbeitsaufwand. ADOLF MARTENS (1850-1914), Direktor des Königlichen Materialprüfungsamtes in Groß-Lichterfelde bei Berlin (heute: Bundesanstalt für Materialprüfung) konstruierte ein Mikroskop, dessen Tubusträger am Tisch mit einem Kugelenkel befestigt war, so daß die Objektive aus jeder gewünschten Richtung auf die Metalloberfläche gerichtet werden konnten (vgl. PRAGMA 1918). Anders ist die Lösung des französischen Chemikers und Metallforschers HENRY-LOUIS LE CHÂTELIER (1850-1936, Abb. 3). Er wandte das Prinzip des umgekehrten Mikroskopes an. Das Metallstück wurde mit seiner polierten Fläche auf den Mikroskopisch gelegt und durch ein Loch von unten betrachtet. Diese Bauart ist seitdem so allgemein üblich und ihr Schöpfer in Mikroskopikerkreisen so bekannt geworden, daß man umgekehrte Metallmikroskope heute gemeinhin als Konstruktionen nach dem LE CHÂTELIER-Prinzip bezeichnet. Die Vorläufer sind in Vergessenheit geraten. — Umgekehrte Metallmikroskope mit den unentbehrlichen Auflichteinrichtungen und zumeist auch photographischer Ausrüstung lieferten in den ersten Jahrzehnten dieses Jahrhunderts bald alle renommierten Mikroskophersteller. In Deutschland wurden die Geräte der Firmen BUSCH, LEITZ, REICHERT und ZEISS besonders bekannt.



3



4

Abb. 3. HENRY-LOUIS LE CHÂTELIER, 1850-1936. Aufn. Photothèque LAROUSSE (Librairie LAROUSSE, Paris).

Abb. 4. HANS UTERMÖHL, geb. 24. 7. 1896. Aufn. aus Privatbesitz.

Um dieselbe Zeit hatten sich in der Biologie mehrere Wissensgebiete zu einer neuen eigenständigen Arbeitsrichtung formiert: zur Limnologie, d. h. Binnengewässerkunde (nach THIENEMANN 1955 definiert als „Wissenschaft vom Leben der Gewässer“, während die bis dahin betriebene Hydrobiologie eigentlich eine „Lehre vom Leben im Wasser“ war). Eine sehr wichtige Rolle spielte und spielt in der Limnologie die Untersuchung des Planktons, des „Schwebs“, wie man damals auch sagte. OTTO ZACHARIAS hatte diese Bedeutung dadurch unterstrichen, daß er das von ihm begründete führende Publikationsorgan des Gebietes „Archiv für Hydrobiologie und Planktonkunde“ nannte. Der Name wurde erst später verkürzt zum heutigen Titel dieser Zeitschrift. In den ersten zwei Jahrzehnten des 20. Jahrhunderts waren in der Planktonuntersuchung Verfahren und Gerätschaften in reicher Vielfalt in Gebrauch (vgl. KOLKOWITZ 1907, 1922; NAUMANN 1923; UTERMÖHL 1925; THIENEMANN 1925; LENZ 1928; NAUMANN 1929,

1931; RUTTNER 1940; GESSNER 1959; HEYNIG 1966; SCHWOERBEL 1966) — ein Zeichen dafür, daß keine der benutzten Methoden entscheidende Vorteile vor der anderen hatte und man auf der Suche nach Besserem war. — Solange nur der Artenbestand qualitativ zu ermitteln war, kam man mit Gazeetzen und Schöpfapparaten aus. Als aber quantitative Verfahren gebraucht wurden, erwiesen sich diese Geräte als wenig geeignet. Im Meerwasser wie im Süßwasser leben Tiere, welche die Plankter mit ihren Filtriervorrichtungen viel besser aus dem Wasser heraussieben, als Gazeetze dies vermögen. Zu den absonderlichsten Apparaten dieser Art zählen die Fanggehäuse der Appendicularien (planktischer Tunicaten, Chordaten). Als der Kieler Zoologe HANS LOHMANN (etwa ab 1890, Übersicht seiner Arbeiten bei PAPENFUSS 1955 und LOEBLICH & TAPPAN 1969) diese Tiere anatomisch untersuchte, befaßte er sich auch mit den Organismen, die ihre Nahrung darstellen. Das sind hauptsächlich Kalkgeißelalgen (Coccolithophoraceae), über die seinerzeit noch wenig und zumeist Unklares bekannt war. So wurde LOHMANN zum Planktonforscher. Den Ausdruck „Nannoplankton“ führte er für die kleinsten unter den Meeresplanktern ein. Sie schlüpfen durch die Maschen der Planktonnetze und ließen sich erst gewinnen, als er das Meerwasser zentrifugierte. Bei dieser gewaltsamen Sedimentation wurden die zarten Lebewesen jedoch größtenteils zerstört. VOLK (1901) benutzte als schonende Prozedur die Sedimentation unter Schwerkrafteinwirkung. Hält man lokale Wärmeeinflüsse oder Erschütterungen von einer Wasserprobe fern, so sinken die meisten der darin enthaltenen Plankter zu Boden. Dieses Verfahren gewann bald viele Anhänger in der Limnologie. Man baute es weiter aus und entwarf geeignete küvettenartige Untersuchungsgefäße (Planktonkammern, s. Abb. 5). Diese Kammern schienen für die quantitative Auswertung besonders geeignet. Allerdings darf die entnommene Wassermenge nicht zu klein sein, wenn sie eine repräsentative Probe darstellen soll. Somit ist für die Kammern eine bestimmte Mindestgröße gegeben. Andererseits wird die Kammerhöhe durch die geringe Schärfentiefe der stärkeren Mikroskopobjektive begrenzt, und ohne solche Objektive können die winzigen Plankter nicht identifiziert werden. — Als nahezu ideale Lösung dieses Dilemmas bietet sich das umgekehrte Durchlichtmikroskop an. Versieht man die Kammern (Abb. 6) mit entsprechend dünnen Bodenplatten und betrachtet durch diese hindurch den Bodensatz, so wird die Bildqualität erst beeinträchtigt, wenn die Kammerhöhe recht groß wird und daraus für die beleuchtende Optik Schwierigkeiten entstehen. Es ist das bleibende Verdienst HANS UTERMÖHLS (Abb. 4), dieses Vorgehen in die Planktonforschung eingeführt zu haben (UTERMÖHL 1931a, b). Er faßte um 1926 diesen Gedanken, nachdem er in jahrelangen gründlichen Planktonstudien in verschiedenartigen Gewässern die geläufigen Sammel-, Zähl- und Untersuchungsverfahren in jeder Hinsicht kennengelernt und auf ihre Zuverlässigkeit geprüft hatte.

Die von ihm entwickelte Arbeitstechnik, an deren Vervollkommnung er unablässig weiterarbeitete (vgl. UTERMÖHL 1958), vereinigt die Vorteile verschiedener Methoden in sich. Sie konnte seither ihre Leistungsfähigkeit unter Beweis

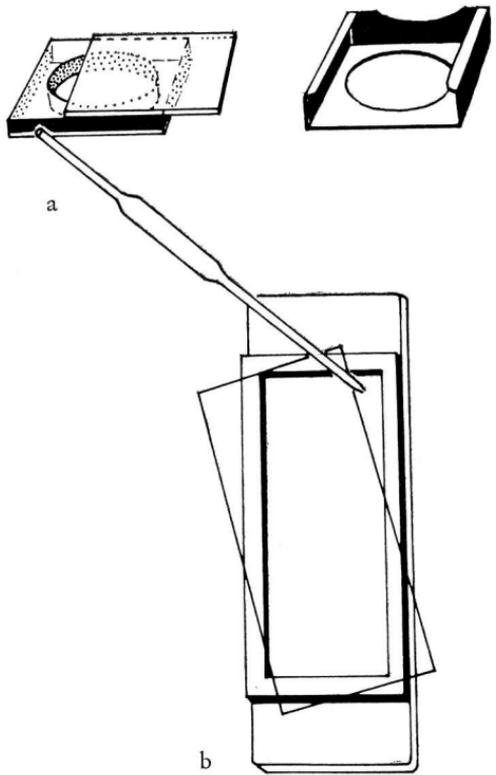
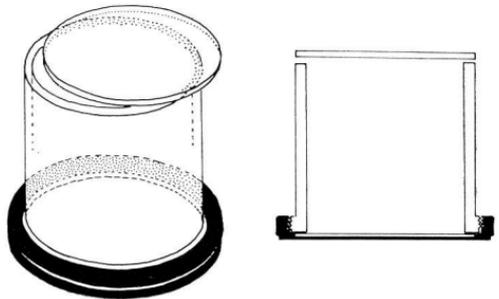


Abb. 5a. Planktonkammer nach KOLKWITZ, bestehend aus durchbohrter Glasscheibe, angekitteter Boden-, loser Deckplatte und Metallgehäuse. Nach UTERMÖHL 1936. — Abb. 5b. Zählkammer für die in den USA gebräuchliche SEDWICK-RAFTER-Methode, bestehend aus Trägerplatte, aufgeklebtem Glasrahmen und Deckglas. Nach NAUMANN 1923.

Abb. 6. Röhrenkammer nach UTERMÖHL. Gesamtansicht und Schnittbild, Neuzeichnung unter Benutzung von Prospektunterlagen der Firmen WILD (Heerbrugg) und ZEISS (Oberkochen).



stellen und gehört zum unveräußerlichen Bestand der limnologischen Untersuchungsverfahren (vgl. LUND 1971). Auf Einzelheiten kann hier nicht eingegangen werden. Das zitierte Schrifttum zur Planktonforschung gibt Auskunft darüber. Das Wesentliche an UTERMÖHLS Verfahren ist eine sorgfältige Probenahme mit Schöpfgeräten nach vorheriger Orientierung über die Eigenarten des Untersuchungsgewässers, damit die entnommene Wassermenge als repräsentativ gelten kann. In diesem geschöpften Wasser sorgt man für gleichmäßige Verteilung der

Schwebepartikelchen, entnimmt dann einen Teil und füllt ihn in eine Kammer des jeweils bestgeeigneten Modells (Plattenkammer, Röhrenkammer, Verbundkammer). Chemikalienzusatz tötet die Plankter und gibt Gewähr für ihr restloses Absetzen. Er verhindert auch Bakterienwuchs während der Sedimentation. Der Bodensatz wird ausgezählt, wobei man die Kammer mit einem Kreuztisch längs zweier Koordinaten über das Objektiv führt und sich eines ebenfalls von UTERMÖHL (1927) ersonnenen sogenannten Zählstreifenokulars bedient. — Durch Vermittlung der Kieler feinmechanischen Werkstatt SCHWEDER bekam UTERMÖHL Kontakt mit der EMIL BUSCH AG, Rathenow. Diese Firma baute ihm nach seinen Angaben ein Planktonmikroskop in schwerer Ausführung zum Gebrauch im Labor. Bei BUSCH rüstete man auch das von RAMSTHALER entwickelte Kameramikroskop „Metaphot“, ein Metallmikroskop nach dem LE CHÂTELIER-Prinzip, für Arbeiten im Durchlicht aus. Nachdem RAMSTHALER nach Wien zur Firma REICHERT übergewechselt war, verfuhr er dort ähnlich mit dem Universal-Kamera-Mikroskop „Rational“ und dessen Nachfolgemodell, dem Gerät „MeF“. Auch heute rüsten manche Firmen, z. B. BAUSCH & LOMB, Mikroskopmodelle, die für andere Arbeiten konstruiert wurden, mit Zusatzeinrichtungen für Durchlicht aus. Zumeist handelt es sich um Metallmikroskope oder vornehmlich für metallurgische Zwecke entwickelte komplizierte, große Mehrzweckinstrumente. Das galt auch für die Modelle „MeF“, „Metaphot“ und „Rational“. UTERMÖHL ließ deshalb später von der Fa. SCHWEDER noch ein leichteres Reisemodell bauen (Abb. 7), das er 1928 in den Alpen erfolgreich benutzen konnte. Dieses Instrument ist in Fachkreisen bekannt geworden. Es wurde vom Hersteller (später übernommen durch die Fa. Hydro-Bios, Kiel) jahrzehntelang unverändert gebaut.

Das umgekehrte Mikroskop findet weitere Verbreitung

Schon 1931 schrieb UTERMÖHL (1931a): „In der Chemie gestattet das umgekehrte Mikroskop die bequeme Untersuchung von Niederschlägen, Kristallen usw., ohne daß die Metallteile des Mikroskops von Säuredämpfen angegriffen werden. In der Bakteriologie weist es gegenüber den Beobachtungen im hängenden Tropfen verschiedene Vorteile auf. In der Physiologie bzw. Biologie ist es für manche Zwecke gut zu gebrauchen; hingewiesen sei nur auf die ungestörte Beobachtung von Kulturen der verschiedensten Art.“ In der Folgezeit sind UTERMÖHLs Erwartungen noch übertroffen worden. Nicht nur in den von ihm genannten Gebieten wird das Instrument als wertvolles Arbeitsmittel geschätzt. Weitere, erst in jüngster Zeit hervorgetretene Arbeitsrichtungen verdanken seinem Einsatz ganz wesentliche Erfolge. — Anfänglich fertigten nur wenige Hersteller solche Instrumente an. Zu ihnen rechnete die Firma CARL ZEISS in Jena. Dort hatte man in den dreißiger Jahren das neuartige „L-Stativ“ und seine Abwandlungen, z. B. „Lu“, entwickelt. Nach dem Baukastenprinzip konnte es mit einer Reihe verschiedener abbildender und beleuchtender Optikkombinationen

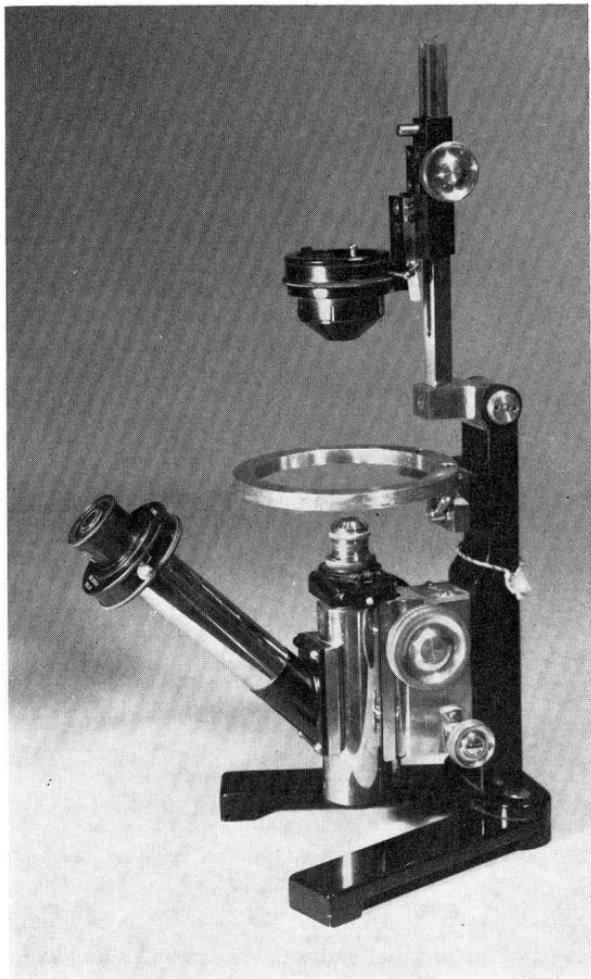


Abb. 7. Reise-Planktonmikroskop nach UTERMÖHL, Modell der Fa. SCHWEDER, Kiel. Der Zähltablett ist nicht montiert, um die Anordnung der abbildenden Optik zu zeigen. Werkphoto Fa. Hydro-Bios, Kiel.

ausgestattet werden und viele verschiedene Aufgaben erfüllen. Unter dem Tisch war der „Universal-Beleuchtungsapparat W“ angebracht, dessen Träger die Halter einer Reihe verschiedener Kondensoren aufnahmen. 1934/35 entwickelte man eine Zusatzausrüstung aus einem Einhänger, Tubus, Kondensorträger und Spiegelhalter. Anstelle des Kondensorhalters befestigte man unter dem Tisch einen monokularen oder binokularen Tubus, die Teile der beleuchtenden Optik wurden statt des üblichen Tubus und Objektivrevolvers über dem Tisch montiert, wie es Abb. 8 zeigt. Instrumente dieser Bauart liefert heute die japanische Firma TIYODA. In Jena verhinderte der Krieg die Fertigung größerer Stückzahlen dieses umgekehrten Mikroskopes. Nach dem Krieg wurden im Werk WINKEL (Göttingen), dem Mikroskopwerk der Firma ZEISS (Oberkochen) die Mikroskope abermals neu entwickelt. In der neuen Baureihe „Standard“ gibt es

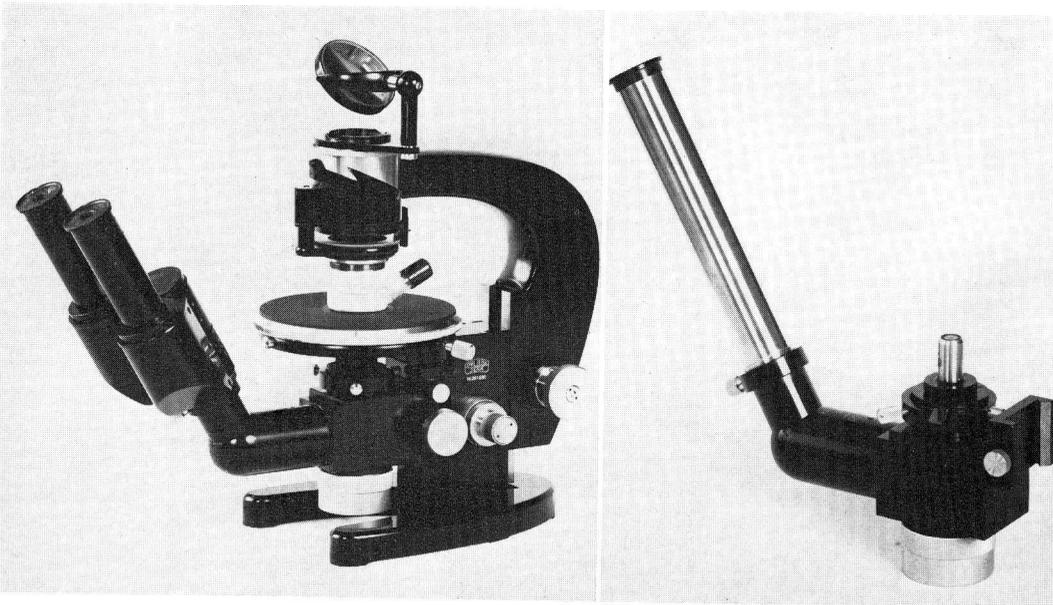


Abb. 8. Umgekehrtes Mikroskop „LWuD“ der Firma CARL ZEISS, Jena. — a. Gesamtansicht, b. System der abbildenden Optik, das anstelle der Kondensorhülse eingehängt wird, wenn das „Lu-Stativ“ als umgekehrtes Mikroskop ausgerüstet wird. Werkphotos Fa. Jenoptik GmbH, Jena.

seit 1953 ebenfalls ein umgekehrtes Mikroskop „UPL“, entworfen von KURT MICHEL unter Verwendung von Anregungen, die ihm UTERMÖHL gab. Bei den „Standard-Mikroskopen“ ist der Tisch beweglich, der Tubusträger starr. Die Modifikation des Grundmodells zum umgekehrten Mikroskop ist hier noch günstiger. An der für Tische vorgesehenen Halterung wird der Tubus samt Objektivrevolver angeschraubt. Darüber ist ein fester Tisch angebracht, der die Beleuchtungsreinrichtung trägt. Dasselbe Prinzip liegt dem Gerät „Nikon MS“ der japanischen Firma Nippon Kogaku K. K. zugrunde, die auch ein umgekehrtes Taschenmikroskop liefert. Außerdem gibt es von diesem Hersteller mit dem Universalgerät „Nikon M“ ein Metallmikroskop mit reichem Sonderzubehör für Durchlichtarbeiten in Medizin und Biologie. Ähnlich ist das von REICHERT auch heute noch angebotene „MeF“ ausgerüstet. Auch andere Geräte, etwa die Instrumente der „MIC“-Baureihe und die größeren Kameramikroskope der Baureihe „N“ von Unitron oder das „PME“ von Olympus sind solche Vielweckmodelle. In der zweiten Hälfte der dreißiger Jahre bot LEITZ für das Kameramikroskop „Panphot“ eine Durchlicht-Gewebekulturausrüstung an, die jedoch wenig bekannt wurde und wegen des Krieges nicht weiterentwickelt worden ist. Geräte, die sich in vielerlei Hinsicht ausbauen lassen, sind natürlich auch in der

Grundausrüstung schon anspruchsvoll (auch was Platz und Geld anbelangt). Wer nur ganz bestimmte Untersuchungen macht, wird sich nach Spezialinstrumenten umsehen. Auch diese werden seit längerem angeboten. Besonders konstruierte Stative erlauben, manche Teile handlicher zu gestalten, manches ganz auf den gewünschten Zweck auszurichten. Das Gerät wird wohl einseitig, für den bestimmten Zweck aber oft ausreichend oder gar besser geeignet sein als die großen „Alleskönner“, bei denen das Baukastenprinzip, zumal in seiner extremen Form, manche Kompromisse verlangt. Inzwischen ist eine ganze Reihe umgekehrter Mikroskope für Durchlicht auf dem Markt, die meisten für Gewebekulturen, einige auch für die Planktonforschung ausgestattet. Hier sind zu nennen: Planktonmikroskop (Hydro-Bios), umgekehrtes Mikroskop (LEITZ), Gewebekultur-Mikroskop „CK“ (Olympus), Gewebekulturmikroskop „1803“ (Southern Precision), Telaval (Jenoptik). In Mitteleuropa dürften, außer dem wohleingeführten Instrument „Standard UPL“ von ZEISS (Oberkochen) und der Neukonstruktion von Hydro-Bios, besonders das seit 1965 angebotene biologische umgekehrte Mikroskop „M 40“ (WILD) und das jüngst auf den Markt gekommene „Biovert“ (REICHERT) bei den Fachleuten Interesse erregen (Abb. 9 u. 10).

Die Vielzahl der heute angebotenen Instrumente — neue kommen demnächst sicherlich hinzu — zeigt deutlich, wie groß die Nachfrage danach ist. Jeder Hersteller verweist auf dieses oder jenes Detail seiner Konstruktion, das für bestimmte Arbeiten besondere Erleichterungen bringt oder sie überhaupt erst ermöglicht. Der Benutzer hat die Qual der Wahl. Er muß prüfen, was für seine Absichten am besten geeignet ist. Wer mikrurgische Präparationen ausführen muß, wird ein seitenrichtiges aufrechtes Bild (z. B. Biovert, Telaval, umgekehrtes Mikroskop LEITZ) als angenehm empfinden und darauf achten, daß der Tisch nicht beweglich ist (z. B. Biovert, UPL). Für andere erscheint gerade die Tischbewegung vorteilhaft (z. B. Telaval, Hydro-Bios-Planktonmikroskop, M 40, Unitron MIC und N, Nikon M und MS), mitunter werden sogar besondere Ansprüche gestellt (denen u. U. ein Spezialtrieb wie der des M 40 genügt). Wer nicht oft photographiert, kommt vielleicht mit einem leichteren, platzsparenden Gerät aus. Im Bedarfsfall erzielt er Erschütterungsfreiheit auch bei angesetzter Photoausrüstung durch Montage auf einer schweren Grundplatte (z. B. M 40, UPL). Der Mikrokinematograph gibt möglicherweise einem „schweren Geschütz“ den Vorzug (div. System- bzw. Kameramikroskope, auch Biovert). Der Limnologe braucht Spezialzubehör für die UTERMÖHL-Technik (Hydro-Bios, M 40, Biovert, UPL). Der Mikrobiologe und Gewebezüchter muß auch höhere Gefäße oder solche mit stärkeren Wandungen verwenden können und begrüßt, daß es besondere Kondensoren mit längerer Schnittweite (z. B. LEITZ, Nikon, REICHERT, TIYODA, WILD) und spezielle Objektive für größeren Arbeitsabstand bzw. große „Deckglasdicke“ gibt (z. B. Nikon, Olympus, REICHERT, Unitron, ZEISS). Mancher kommt ohne Sonderverfahren nicht aus und achtet darauf, ob das gewählte Gerät etwa für Phasenkontrast (z. B. Hydro-Bios, Nikon, Olympus, REICHERT, TIYODA, Unitron, WILD, ZEISS) oder für Interferenzkontrast nach G. NOMARSKI (z. B. REICHERT) oder andere Verfahren ausgerüstet werden kann. Besonderen Zubehör (Halter für Kulturröhrchen, Kühl- und Heitzische, spezielle Glaswaren usw.) enthalten die Programme z. B. von Nikon, Olympus, Unitron und WILD. Zu einigen Geräten werden Sterilkapellen bzw. Inkubatoren geliefert (z. B. Nikon, Unitron). — Was mit dem karg wirkenden Gerät UTERMÖHLS aus dem Jahre 1928 seinen Anfang nahm, ist zu einem ganzen „Park“ von Apparaturen herangewachsen. Als Forschungsinstrument ist das umgekehrte Mikroskop gefragt. Wie immer in solchen Fällen, versucht jede Firma, durch Sonderausstattungen und Spezialzubehör für ihr Gerätemodell eine Marktlücke zu entdecken.

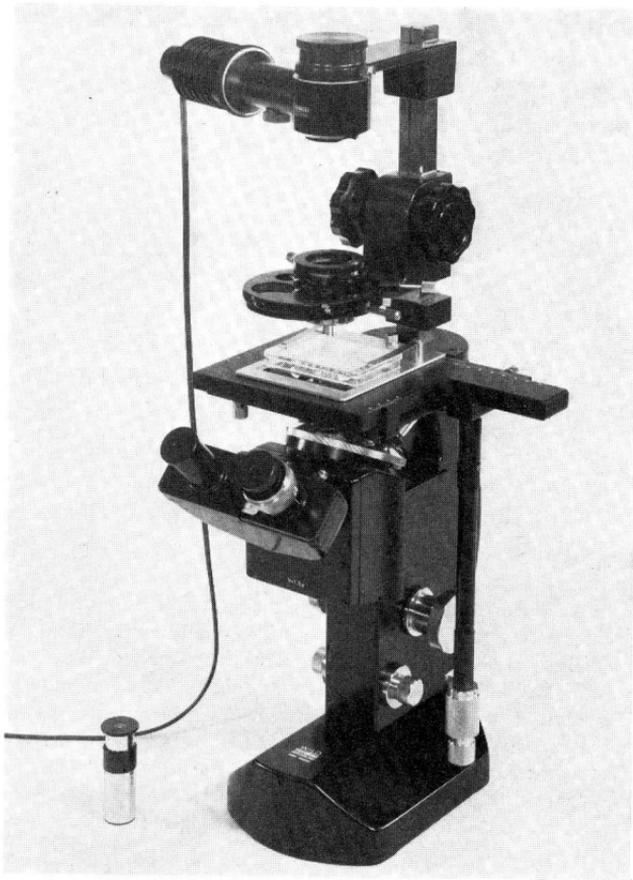


Abb. 9. Umgekehrtes Mikroskop „M 40“ der Firma WILD, Heerbrugg. Auf dem Objektisch liegt in einer Spezialführung die Reaktionsplatte für das TERASAKI-Verfahren. Die beleuchtende Optik besteht aus einer Niedervoltleuchte und einem Phasenkondensor langer Schnittweite. Werkphoto WILD.

Überblick über die biologischen Arbeitsgebiete, in denen — außer in der Limnologie — umgekehrte Mikroskope eingesetzt werden

Besonders aktuell ist ein Gewebeverträglichkeitstest. Bei Organtransplantationen muß stets geprüft werden, ob und inwieweit der Empfänger gegen ein Organimplantat Abwehrreaktionen zeigt. Beim TERASAKI-Test — der ganz stark vereinfacht dargestellt sei — werden in einer besonderen Reaktionskammer Lymphozyten (bestimmte weiße Blutkörperchen) vom Spender in Serum des Empfängerorganismus eingebracht. Der Anteil absterbender bzw. überlebender Blutzellen läßt den Schluß auf Verträglichkeit bzw. Unverträglichkeit zu. Nach kurzer Zeit wird im Phasenkontrast mit Hilfe des umgekehrten Durchlichtmikroskopes ausgewertet (GANDER 1969). In der Zytologie gestatten solche Mikroskope, isolierte Zellkerne und gar isolierte Chromosomen im Phasenkontrast ohne Fixierung zu untersuchen, wobei durchbohrte Objektträger benutzt werden, auf die von unten Deckgläser aufgekittet werden. Die Nuclei oder ihre

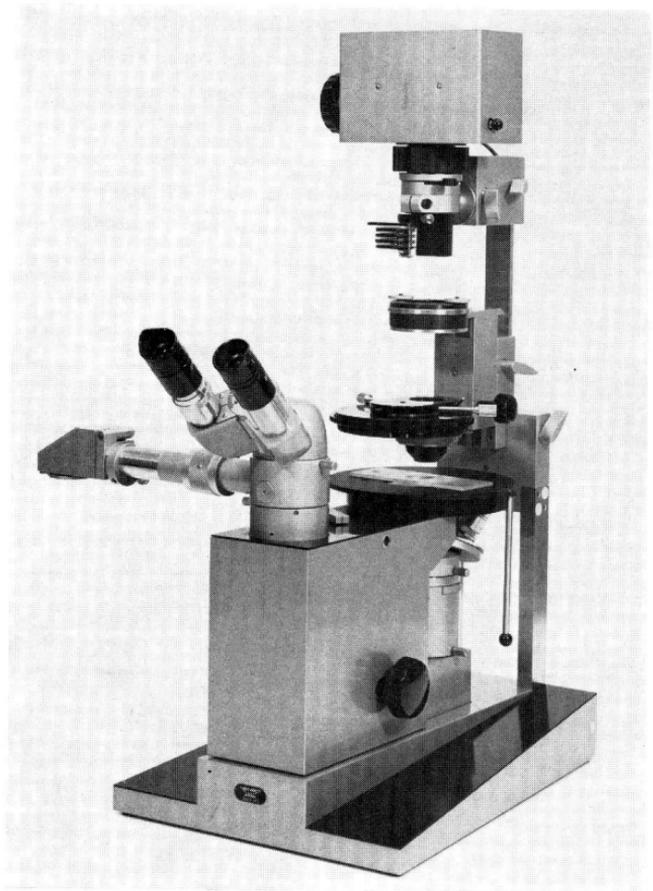


Abb. 10. Umgekehrtes Mikroskop „Biovert“ der Firma REICHERT, Wien. Hier mit Binokulartubus, Zeichenapparat für Bild-einspiegelung, Spezial-Gleittisch, Phasenkontrastausrüstung. Werk-photo REICHERT.

Bestandteile liegen dem Deckglas auf und können mit Immersion betrachtet werden (WISCHNITZER 1958, RUTHMANN 1966). Längst ist es weithin üblich, Gewebekulturen (gleich, ob sie um ihrer selbst willen, für virologische o. a. Zwecke angelegt werden) unter dem umgekehrten Mikroskop zu beobachten. Hier ist die Literatur schon sehr umfangreich. POETSCHKE (1959) und HEUNERT (1969) geben einen Eindruck von den Schwierigkeiten solcher Arbeit, deren Erleichterung durch das umgekehrte Mikroskop und den Zwecken, die bei solchen Untersuchungen verfolgt werden. Eben solche Erfolge verspricht der Einsatz dieses Instrumentes, wenn Mikroorganismen (Algen, Pilze, Bakterien) im Kulturgefäß ungestört beobachtet werden sollen. Schon lange sucht man nach befriedigenden Lösungen, die gestatten, sich entwickelnde Kleinlebewesen bei starker Vergrößerung kontinuierlich oder zumindest in Intervallen zu beobachten, ohne sie dem Kulturgefäß entnehmen zu müssen (Gefahr von Infektionen und anderen physiologischen oder physikalischen Schädigungen!). Viele verschiedene Möglichkeiten wurden ausprobiert. Das Verfahren des „hängenden Tropfens“ gibt keine optisch

befriedigenden Bilder der beobachteten Protisten. Die verschiedenen Kammern, die man ersann (vgl. WALP 1939, SCHILD 1948, MEINECKE 1951, vgl. ferner die Übersichten bei WISCHNITZER 1958, VON STOSCH & DREBES 1964 und JANKE & DICKSCHEIT 1967), waren auch nur unter Vorbehalt zu verwenden. Die Untersuchung der Sexualvorgänge bei der Kieselalge *Stephanopyxis turris* wurde daher mit einem eigens dafür konstruierten Immersionsobjektiv unternommen (VON STOSCH & DREBES 1964). Als schließlich diese schönen Studien im Film dokumentiert wurden, bediente man sich des umgekehrten Mikroskopes und einer ebenso einfachen wie wirkungsvollen Kammer (HEUNERT 1969). Im Laboratoř experimentalnı̄ algologie der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften konstruierte man eine kompliziertere Kammer für konstante Temperaturen, die gleichfalls am umgekehrten Mikroskop verwendet wird (LUKAVSKÝ & MARVAN 1969).

Mit Ratschlägen und Auskünften unterstützten meine Arbeit an diesem Artikel die Herren C. ALBRECHT, Dr. Dr. h. c. H. FREUND, Prof. Dr. F. GABLER, Dr. G. GANDER, M. KORLATH, Dr. Dr. h. c. K. MICHEL, B. FRIEDMAN, W. H. HARTMANN, J. A. BOULLIER bzw. Firmen Biotronik, Hydro-Bios, Nippon Kogaku K. K. (Nikon), Olympus, PABISCH, Southern Precision Instrument Co., TIYODA, Unitron, Jenoptik Jena. Ihre Hilfe sei auch an dieser Stelle dankbar vermerkt.

Schriften: GANDER, R. 1969: Bestimmung der Gewebeerträglichkeit mittels Lymphozyten-Toxizitäts-Test. - *Microskopion*, **6** (17): 14-16. Heerbrugg, St. Gallen. — HARTING, P. 1866: Das Mikroskop, **1-3**. - Braunschweig (Vieweg). (Deutsche Übersetzung des niederländischen Originals von W. THEILE, 2. Aufl.) — HEUNERT, H.-H. 1969: Die vielseitigen Anwendungsmöglichkeiten des umgekehrten Mikroskops. - *ZEISS-Inf.*, **17** (71): 32-35. Oberkochen, Württ. — HEYENIG, H. 1966: Methoden zur quantitativen Erfassung des Planktons. - *Limnologica*, **4** (2): 333-342. Berlin. — JANKE, A. & DICKSCHEIT, R. 1967: Handbuch der mikrobiologischen Laboratoriumstechnik. - Dresden (Steinkopff). — LOEBLICH, A. R. jr. & TAPPAN, H. 1969: Annotated Index and Bibliography of the Calcareous Nannoplankton. - *Phycologia*, **5** (2-3): 81-216. Odense. — LUKAVSKY, J. & MARVAN, P. 1969: Growth chamber allowing observations of individual cells. - *Ann. rep. labor. algol.*, **1968**: 76-78. Třebon. — LUND, J. W. G. 1971: Die Bedeutung der genauen quantitativen Erfassung des Planktons in der Limnologie und der Meeresforschung. - *Natur u. Museum*, **101** (7): 311-317. Frankfurt a. M. — MEINECKE, G. 1951: Steril abgeschirmte Beobachtung Gefäße aus Polyäthylen. - *Mikrokosmos*, **42**: 226-228. Stuttgart. — PAPENFUSS, G. F. 1955: Classification of the algae. In: A century of progress in the natural sciences. - San Francisco (Calif. Acad. Sci.): 115-224. — POETSCHKE, G. 1959: Die Beurteilung von Gewebekulturen mit dem Plankton-Mikroskop. - *ZEISS-Werkz.* **34**: 85-87. Oberkochen, Württ. — PRAGMA, R. 1918: Über ganz einfache Instrumente zur Pflege der Metallmikroskopie. - *Mikrokosmos*, **11** (10/11): 172-175. Stuttgart. — RUTHMANN, A. 1966: Methoden der Zellforschung. - Stuttgart (Franckh). — SCHERTEL, S. 1907: Über frühere mikroskopische Forschungen und Bilder. - *Mikrokosmos*, **1**: 43-50. Stuttgart. — SCHILD, E. 1948: Küvetten-Mikroskopie. - *Mikrokosmos*, **38**: 217-222. Stuttgart. — SCHWOERBEL, J. 1966: Methoden der Hydrobiologie (Süßwasserbiologie). - Stuttgart (Franckh). — STOSCH, H. A. v. & DREBES, G.: Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an zentrischen Diatomeen IV. Die Planktondiatomee *Stephanopyxis turris* - ihre Behandlung und Entwicklungsgeschichte. - *Helgol. wiss. Meeresunters.*, **11** (3/4): 209-257. Hamburg. — UTERMÖHL, H. 1931b: Neue Wege in der quantitativen Erfassung des Planktons. - *Verh. internat. Verein. Limnol.*, **5**: 567-596. Stuttgart. — UTERMÖHL, H. 1958: Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. - *Mitt. internat. Verein. Limnol.*, **9**: 38 S. Stuttgart. — WALP, L. 1939: Culture technic for quantitative growth studies with Myxophyceae. - *Science*, **90**: 597. Lancaster, PA. — WISCHNITZER, A. S. 1958: The inverted Microscope: It's history and use as a cytological tool. - *Mikroskopie*, **13**: 39-44. Wien. — [Weitere Literatur, auf die im Text Bezug genommen wird, ist durch die hier aufgezählten Werke erschlossen.]

Verfasser: Dr. DIETER MOLLENHAUER, Forschungsinstitut Senckenberg, Außenstelle Lochmühle, 6465 Bieber, Kreis Gelnhausen.

Die Bedeutung quantitativer Methoden in der Planktonforschung ist unbestritten. Danach wäre ein Artikel wie dieser scheinbar überflüssig. Indessen erreichen Schätzungen keineswegs immer die wünschenswerte Genauigkeit. Auch werden sie selten so durchgeführt und vorgetragen, daß sich die von einem Autor erzielten Ergebnisse mit denen vergleichen lassen, die ein zweiter mit einem anderen Verfahren gewann. HANS ÜTERMÖHL entwickelte eine visuelle Zählmethode, die er immer wieder in der praktischen Arbeit überprüft und verfeinert hat. Sie ist eine wesentliche Grundlage jeglicher quantitativer Schätzverfahren.