

# Die Mikrofibel

Von Klaus Henkel

Ausgabe: 14. Juni 2003

## Über die Mikrofibel

- Urheberrecht, Haftung, wichtige Mitteilung an jugendliche Leser
- Bildquellennachweis
- Hinweise zum Änderungsanzeiger und zur Seitennumerierung

## **Vorwort**

## Inhaltsverzeichnis

ausführlich, Umfang 5 Seiten

- 1 Der Kauf eines Mikroskops**  
Verwendungszweck, Ausbaufähigkeit, wo kaufen?,  
Normen, Auswahl, Hersteller, Gebrauchtkauf.
- 2 Die Technik und Ausstattung des Mikroskops**  
Mikroskoptypen, Ausstattung, Mechanik, Optik, fremde Bauteile,  
Beleuchtung, Kontraststeigerung.
- 3 Die Grundlagen der mikroskopischen Abbildung**  
Wie funktioniert ein Mikroskop? Abbildung durch Linsen,  
Apertur, Auflösung, Lichtwellen und Beugung, Auge.
- 4 Die Anwendung des Mikroskops**  
Mikroskop einstellen, pflegen; messen, fotografieren, zeichnen,  
Zubehör basteln, Mikroskopie und Kinder.
- 5 Die Mikroskopische Technik**  
Nützliche Hilfsmittel, Objektträger und Deckgläser,  
Objekte sammeln, fixieren, schneiden, färben, eindecken,  
Wasserorganismen fangen und untersuchen.
- 6 Die mikroskopische Literatur**  
Mikroskopie, Mikrofotografie, Biologie, Limnologie, Einzeller, Botanik,  
Zoologie, Pilze, Technische Mikroskopie, Mikroskopische Technik. Zeitschrift.  
Die vom Autor benützte Literatur

## Über die Mikrofibel

### **Urheberrechte (und Copyright)** für das Gesamtwerk *Die Mikrofibel*

bei Klaus Henkel, Auf der Scheierlwiese 13, 85221 Dachau, Deutschland;

Mitglied der Mikrobiologischen Vereinigung München e. V. und der Mikroskopischen Gesellschaft Zürich.

### **Marken- und Warenzeichenrechte**

Im Text genannte Marken und Warenzeichen sind als solche nicht kenntlich gemacht. Aus dem Fehlen solcher Hinweise darf deshalb nicht geschlossen werden, daß Schutzrechte Dritter nicht existieren.

### **Was man nicht darf**

Jede Verwertung außerhalb der engen Grenzen des Urheberrechtsgesetzes ist ohne ausdrückliche schriftliche Zustimmung des Verfassers unzulässig und strafbar. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen. Es ist nicht gestattet, Inhalte der Mikrofibel verändert Dritten zur Verfügung zu stellen, eine physikalische Kopie der Inhalte im Internet oder durch Druck zu veröffentlichen oder eine Gebühr für die Bereitstellung zu verlangen. Jede Weiterverbreitung zu kommerziellen Zwecken oder im Rahmen eines kommerziellen Unternehmens per Internet, Datenträger oder Druck des kompletten oder auszugsweisen Inhalts ist strikt untersagt. Das Setzen eines Links im Internet fällt nicht unter diese Restriktion.

### **Was man alles darf**

- Die Mikrofibel herunterladen und auf der eigenen Festplatte speichern.
- Datei(ein) kopieren und an Dritte zu privatem Gebrauch unverändert und unentgeltlich weitergeben.
- Die Mikrofibel zur eigenen Verwendung auf Papier ausdrucken und den Ausdruck zur eigenen Verwendung fotomechanisch kopieren.
- Eine unveränderte Papierkopie der Mikrofibel oder Teile davon an Dritte zu deren privatem Gebrauch unentgeltlich weitergeben.

Bitte geben Sie, wenn Sie Teile der Mikrofibel als Datei oder Papierkopie weitergeben, stets auch das Titelblatt und den darauf folgenden Teil *Über die Mikrofibel* mit.

### **Haftungsausschluß**

Der Autor hat den Inhalt der Mikrofibel mit Sorgfalt zusammengestellt, doch kann er Irrtümer und Fehler im Einzelfall nicht ausschließen. Deshalb übernimmt er keine Haftung für die Richtigkeit des Inhalts im Einzelfall. Soweit sich in der Mikrofibel veröffentlichte Ratschläge auf die Verwendung von nicht ungefährlichen Stoffen und Materialien, wie Rasier- und Mikrotommesser, Chemikalien oder Arbeitsverfahren mit ihnen beziehen, muß sich der Benutzer durch Teilnahme an einschlägigen Lehrgängen oder durch Fachliteratur über die sachgerechte Anwendung kundig machen. Grundlagenwissen dazu vermittelt die Mikrofibel nicht. Für Schäden oder Verletzungen, die bei der Befolgung ihrer Ratschläge oder bei der Anwendung von empfohlenen Rezepten und Verfahren durch Unkenntnis, Nichtbeachtung allgemein üblicher, fachlicher Vorsichtsmaßnahmen oder durch Zufall entstehen, wird auch dann keine Haftung übernommen, wenn nicht ausdrücklich auf die Gefährlichkeit eines Stoffes oder Gegenstands oder auf besondere Vorsichtsmaßnahmen hingewiesen ist. Angaben und Warnhinweise zu giftigen, feuergefährlichen, explosiven oder kanzerogenen Stoffen, die in der mikroskopischen Technik in zum Teil winzigen Kleinmengen, z. B. als Bestandteile von Fixiermitteln und Färbvorschriften üblich sind, finden sich in den Lieferkatalogen der Hersteller und Händler solcher Stoffe.

### **Warnung an jugendliche Leser** – und auch an andere ohne entsprechende Kenntnisse

Die in der mikroskopischen Literatur und auch in der Mikrofibel beschriebenen Verfahren für die Fixierung (Abtötung), Färbung oder für die sonstige Behandlung tierischer und pflanzlicher Gewebe enthalten mitunter hochgiftige, explosive und krebserregende Stoffe. Solche Verfahren sind immer für hinreichend informierte und ausgebildete Mikroskopiker beschrieben, die ein Fachstudium (z. B. Biologie, Medizin, Chemie) absolviert oder sich entsprechende Kenntnisse auf andere Weise durch jahrelanges intensives Selbststudium angeeignet haben. Wer diese Kenntnisse nicht hat, muß sich von erfahrenen Mikroskopikern anleiten lassen. Daran führt kein Weg vorbei. Es ist völlig ausgeschlossen, solche Verfahren durch Informationen aus dem Internet zu erlernen und sachkundig anzuwenden, ohne sich selbst und andere zu gefährden.

### **Bildquellennachweis**

Abbildungen sind Originale des Verfassers, sofern bei der Abbildung nicht anders angegeben.

### **Änderungsanzeiger**

Auf der Mikrofibel-Download-Seite, die Sie über den Link auf der Homepage *www.mikroskopie-muenchen.de* erreichen, finden sie auch einen Link zu einem übersichtlichen Änderungsanzeiger. Er hilft Ihnen, wenn Sie Ihre Mikrofibel auf den neuesten Stand bringen möchten. In welchen Kapiteln seit der Ausgabe, die Sie sich heruntergeladen oder ausgedruckt haben, was geändert wurde, auf welche Seiten sich das ausgewirkt hat, welche man deshalb neu ausdrucken und ersetzen sollte und wo genau sie einzuheften sind, darüber informiert Sie der Änderungsanzeiger; ebenso wenn neue Kapitel hinzugekommen sind.

### **Seitennumerierung und Ausgabestand**

Die bisherige Seitennumerierung, bei der die Seitenzahlen für jedes zweistellige Hauptkapitel mit 1 begannen, mußte der höheren Stabilität der Word-Dateien zuliebe geopfert werden. Die Seiten dieser Ausgabe 2 sind deshalb vom Titelblatt bis zum Schluß fortlaufend numeriert.

Jede Seite enthält zusätzlich in der Kopfzeile die zweistellige Gliederungsüberschrift und den Ausgabestand, das Datum, an welchem die betreffende Datei im „www“ bereitgestellt worden ist.

### **Anmerkungen zur Rechtschreibung**

Grundsätzlich halte ich mich an die Orthografie vor der jüngsten Reform, nutze jedoch gerne die von ihr eingeräumten Freiheitsgrade. Es kann deshalb vorkommen, daß in dem einen Absatz *Endlichoptik* zusammen, im nächsten aber, z. B. zur Hervorhebung, *Endlich-Optik* mit Bindestrich geschrieben ist.

### **Die Mikrobiologische Vereinigung München e. V.**

deren Mitglied der Autor der Mikrofibel ist, wird im Text in der Regel mit **MVM** abgekürzt. Aufsätze, auf die in der Mikrofibel hingewiesen wird, findet man auf der Homepage der MVM unter dem Link *Aufsätze*. Die **Internetadresse** der MVM-Homepage (URL) lautet:

**<http://www.mikroskopie-muenchen.de>**

## Vorwort zur zweiten und erweiterten Ausgabe im Juni 2003

Das Ziel ist unverändert: Die Mikrofibel ist ein Ratgeber zum **Kauf**, zur **Technik** und zur **Anwendung** des Mikroskops. Ihre erste Hälfte dient besonders der eher technischen Orientierung vor und nach dem Mikroskopkauf, ihre zweite enthält ausführliche Anleitungen für das Arbeiten mit dem Mikroskop und Methoden der Aufbereitung von Untersuchungsobjekten.

**Die Erweiterungen und Ergänzungen in dieser Ausgabe** betreffen vor allem die Grundlagen der Beleuchtungsoptik des Mikroskops, die sehr ausführliche Anleitung zur korrekten Einstellung der Köhlerschen Beleuchtung und des Kondensors, ergänzende Ausführungen zu Objektträgern und Deckgläsern sowie eine exakte Anleitung zum Aufkleben von Hand- und Mikrotomschnitten. Selbstverständlich fehlen auch nicht die üblichen Schönheitskorrekturen, sowie kurze oder ausführliche Ergänzungen in nicht wenigen Kapiteln. Näheres dazu und weitere Details enthält der Änderungsanzeiger. Die meisten neuen Kapitel betreffen technische Themen. Ich werde jedoch bei den nächsten Ergänzungen darauf achten, daß die Mikrofibel nicht zu „hardwarelastig“ wird.

Durch das eine oder andere neue Kapitel hat sich die Redundanz leicht erhöht. Die Abwägung, ob es vorteilhafter sei, durch ihre rigorose Ausmerzung Speicherplatz und Papier zu sparen, oder den Zusammenhang nicht zu zerreißen, fiel auch in dieser erweiterten Ausgabe nicht schwer. Die komplette Darstellung eines Themas unter einer einzigen Überschrift, ohne häufige Querverweise auf andere Kapitel, d. h. den mühelosen Lesefluß ohne ständiges Hinundherblättern, schätze ich derzeit noch höher ein.

Lesern, denen Hinweise im Teil 2 auf die Lichtbeugung und die numerische Apertur noch Rätsel aufgeben, mögen mit Vorteil ihre Lektüre dort unterbrechen und zunächst die „Grundlagen“ in Teil 3 lesen.

Die für Normalanwender nahezu unbeherrschbare neue Numerierungs- und Listenautomatik von MS Word 2000 hat immer wieder meine Dateien „zerschossen“. Nach monatelangem Rätselraten und Korrespondenz mit Leidensgefährten, habe ich dann den gesamten Text der Mikrofibel sozusagen Wort für Wort neu formatiert und alle Überschriften per Hand numeriert. Zum Ausgleich für diesen Zeitverlust mußte das Korrekturlesen zurückstehen. eMail bietet jedoch allen freundlichen Lesern die Möglichkeit, mich rasch und formlos auf Stellen aufmerksam zu machen, die mir und MS Word dabei entgangen sind. Dies ist meine Bitte an meine Leser.

Auch dieses Mal bedanke ich mich vor allem bei Herrn Gerhard GÖKE in Hagen für geduldige Fachgespräche und die großzügige Erlaubnis, Texte aus allen seinen Publikationen zu verwenden. Ebenso gilt mein Dank kritischen Lesern und allen, die mich durch ihre Anerkennung und Aufmunterung in meiner Absicht bestärkt haben, die Mikrofibel weiterzuführen.

## Vorwort der ersten Ausgabe vom März 2002

Die Mikrofibel ist ein Ratgeber zum **Kauf**, zur **Technik** und zur **Anwendung** des Mikroskops. Sie dient besonders der Orientierung vor und nach dem Mikroskopkauf. Die Amateurmikroskopie in all ihren Facetten ist einer ihrer Schwerpunkte. Die Praxis bei der Anschaffung und Handhabung sowie praxisorientierte Methodenbeschreibungen stehen im Vordergrund.

Wenn auch die Mikrofibel öfter andeutet, wo und wie sich Geld sparen läßt, so will sie doch vor allem zeigen, wie man für ein faszinierendes Steckenpferd **Geld sinnvoll ausgeben** kann.

Auf die Beratung durch die Händler darf man sich nicht verlassen, damit sieht es in der Mikroskopie noch trüber aus als teilweise im Fotofachhandel. Der typische Händler optisch-wissenschaftlicher Instrumente stammt aus der Laborausstattungsbranche und ist kein praxiserfahrener Mikroskopiker, kennt bestenfalls die Standardanforderungen der medizinisch-klinischen und ärztlichen Mikroskopie. Unter den Handelsfirmen ist mir nur eine einzige Ausnahme bekannt.

Die Mikrofibel ist kein Ersatz für die notwendige **Fachliteratur**, die mit dem in zwei Jahrhunderten angesammelten Wissen sehr umfangreich ist. Leider ist zur Zeit kein maßgebliches Lehrbuch der Mikroskopie in deutscher Sprache aufgelegt. Anfänger sind deshalb in der Regel auf öffentliche Bibliotheken und Antiquariate angewiesen.

Die Mikrofibel soll ständig verbessert, ihre Lücken geschlossen, eventuelle Fehler ausgemerzt werden. Hinweise und Vorschläge der Leser dazu sind sehr willkommen. Unter manchen Kapiteln findet man den Vermerk „Baustelle“. Der Ausbau soll zügig erfolgen und wird sich vornehmlich auf die Abschnitte *Die Anwendung des Mikroskops* und *Die Mikroskopische Technik* konzentrieren. Die Reihenfolge des Ausbaus können Sie beeinflussen, wenn Sie mitteilen, an welchen Themen Ihnen besonders gelegen ist.

An vielen Stellen der Mikrofibel ist erkennbar, daß die ursprüngliche Absicht eine FAQ war (Frequently Asked Questions – häufig gestellte Fragen), denn viele Fragen sind im Original beibehalten, und mancher Leser wird seine Frage wiedererkennen. Das FAQ-Schema *Frage und Antwort* erschwert jedoch die Darstellung größerer Zusammenhänge und ihre logische Gliederung, vor allem aber den Lesefluß. Ich fand es besser, den Lesern auch interessante Details zu bieten, die zwar nicht so frequently ge-asked werden, aber dennoch die Zusammenhänge leichter verständlich machen. Wo der Lesefluß durch Hinweise auf Stellen in anderen Kapiteln gestört würde, findet man dieselben Details an mehreren Stellen im jeweiligen Zusammenhang. Diese geringfügige Redundanz ist für die meisten Leser, die sich die Mikrofibel ausdrucken und vom Papier lesen, angenehmer als ständiges Hinundherblättern.

**Dank:** Ich bedanke mich bei Herrn Gerhard GÖKE in Hagen für die Fachgespräche, die Zusendung von Unterlagen und die freundliche Erlaubnis, Texte aus seinen vielen Veröffentlichungen ganz oder teilweise in der Mikrofibel abzdrukken und ins Internet zu stellen; ebenso bei Herrn Dr. Helmut ETZOLD in Rathsborg für die freundliche Genehmigung des Abdrucks der Arbeitsanleitung für seine bekannte botanische Schnittfärbung. Herrn Eckart HILLENKAMP in Oberhausen danke ich für Fachgespräche und Gedankenaustausch; Herrn Dr. Oliver SKIBBE in Berlin für die Erlaubnis zur Übernahme von Textstellen und Abbildungen aus seiner Homepage; Herrn Dr. Felix SCHUMM in Stuttgart für manchen wertvollen Hinweis; Frau Gabriela WAHL-BOOS in Bonn für Korrekturlesen und Verbesserungsvorschläge, Herrn Dr. Joachim HENKEL von der Mikrobiologischen Vereinigung München e. V. für manchen guten Ratschlag und das Korrekturlesen.

<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>6</b>
<b>Über die Mikrofibel</b> .....	<b>2</b>
<b>1 Der Kauf eines Mikroskops</b> .....	<b>10</b>
<b>1.1 Was interessiert den künftigen Mikroskopiker besonders?</b> .....	<b>10</b>
1.1.1 Funktionen und Mindeststandard des Mikroskops .....	10
1.1.2 Der Verwendungszweck des Mikroskops .....	10
1.1.3 Ausbaufähiges Instrument? .....	12
1.1.4 Wo kaufen? .....	13
<b>1.2 Die Auswahl des Mikroskops</b> .....	<b>14</b>
1.2.1 Persönliche Auswahlkriterien .....	14
1.2.2 Fragen und Antworten zur Auswahl.....	14
1.2.3 DIN und andere Normen .....	16
<b>1.3 Wichtige Mikroskophersteller</b> .....	<b>17</b>
1.3.1 Über die Auswahl der Hersteller in der Mikrofibel.....	17
1.3.2 Carl Zeiss, Oberkochen/Württ.....	17
1.3.3 Olympus, Tokyo .....	18
1.3.4 Göke – Mikroskopie, Hagen.....	18
1.3.5 AskaniA, Rathenow.....	19
1.3.6 Leica Microsystems, Wetzlar .....	19
1.3.7 PZO.....	19
1.3.8 Lomo, St. Petersburg (ehem. Leningrad).....	20
<b>1.4 Gebrauchtkauf</b> .....	<b>21</b>
1.4.1 Messingveteranen und Hufeisen .....	21
1.4.2 Bedienungsanleitung.....	21
1.4.3 Technische Prüfung .....	21
1.4.4 Welche Fabrikate gebraucht kaufen? .....	22
1.4.5 Gebrauchte Objektive kaufen .....	23
<b>2 Die Technik und Ausstattung des Mikroskops</b> .....	<b>24</b>
<b>2.1 Mikroskoptypen, Bauformen, Ausstattungsklassen</b> .....	<b>24</b>
2.1.1 Das zweistufige Lichtmikroskop.....	24
2.1.2 Ausstattungsklassen .....	26
2.1.3 Exkursions- und Reisemikroskope.....	27
2.1.4 Das Stereomikroskop oder die Binokularlupe.....	28
<b>2.2 Die mechanischen Teile des Mikroskops</b> .....	<b>29</b>
2.2.1 Das Stativ .....	29
2.2.2 Die Fokussierriebe .....	29
2.2.3 Der Objektstisch.....	30
2.2.4 Der Objektivrevolver.....	31
2.2.5 Der Tubus.....	32
2.2.5.1 Der Binokulartubus .....	32
2.2.5.2 Der Augenabstand.....	33
2.2.5.3 Der Binokular-Fototubus.....	33
2.2.5.4 Die Tubuslänge .....	34
2.2.6 Der Kondensorträger.....	34
<b>2.3 Die abbildende Optik des Mikroskops</b> .....	<b>35</b>
2.3.1 Das Gesamtsystem Objektiv + Okular .....	35
2.3.1.1 Herkömmliche Endlich-Optik .....	35
2.3.1.2 Moderne Unendlichoptik.....	36
2.3.1.3 Ist Unendlichoptik besser? .....	37
2.3.2 Förderliche und leere Vergrößerung.....	38
2.3.3 Objektive .....	40
2.3.3.1 Die Apertur des Mikroskopobjektivs .....	40
2.3.3.2 Wozu braucht man Immersionsobjektive? .....	43
2.3.3.3 Objektivklassen .....	44
2.3.3.4 Objektiv-Gravuren .....	45

2.3.3.5	Empfehlenswerte Objektivausstattung .....	47
2.3.3.6	Besondere Objektive für Wasserorganismen? .....	47
2.3.3.7	Objektivgewinde .....	48
2.3.3.8	Abgleichlänge und Parfokalität .....	48
2.3.3.9	Objektive „nach DIN“? .....	49
2.3.4	Okulare .....	51
<b>2.4</b>	<b>Umrüstung von Mikroskopen mit fremden Bauteilen .....</b>	<b>53</b>
2.4.1	Tubus-Kompatibilität .....	53
2.4.2	Objektiv-Kompatibilität .....	53
<b>2.5</b>	<b>Die Beleuchtungsoptik des Mikroskops .....</b>	<b>59</b>
2.5.1	Über dieses Kapitel .....	59
2.5.2	Eine optische Eselsbrücke .....	60
2.5.3	Die Strahlenbegrenzung .....	61
2.5.3.1	Die Blenden im Strahlengang .....	61
2.5.3.2	Der Öffnungswinkel .....	61
2.5.3.3	Die Pupillen .....	62
2.5.3.4	Die Luken .....	63
2.5.4	Reflexminderung – der Kampf gegen das Streulicht .....	64
2.5.5	Die Köhlersche Beleuchtung .....	65
2.5.5.1	Die „vollständige Abbildung“ und der praktische Strahlengang nach KÖHLER .....	65
2.5.5.2	Der verflochtene Strahlengang nach dem Köhlerschen Prinzip .....	66
2.5.5.3	Die Bestandteile der Köhlerschen Beleuchtung .....	68
2.5.5.4	Die Irisblenden des Mikroskops .....	69
2.5.6	Die kritische oder Nelson-Beleuchtung .....	72
2.5.7	Der Kondensator .....	73
2.5.8	Die Fiktion des höheren Bildkontrasts .....	76
2.5.9	Technische Ausführungen der Mikroskopbeleuchtung .....	78
<b>2.6</b>	<b>Die Methoden und Einrichtungen zur Kontraststeigerung .....</b>	<b>80</b>
2.6.1	Sinn und Zweck der Kontraststeigerung .....	80
2.6.2	Schiefe Beleuchtung .....	81
2.6.3	Dunkelfeld .....	82
2.6.4	Rheinbergbeleuchtung .....	84
2.6.5	Phasenkontrast .....	85
2.6.5.1	Fragen und Antworten zum Phasenkontrast .....	85
2.6.5.2	Was ist Phasenkontrast? .....	87
2.6.5.3	Wozu Phasenkontrast, für welche Objekte? .....	88
2.6.5.4	Prinzip und technische Ausführung .....	89
2.6.5.4	Modeerscheinung im Amateurbereich .....	89
2.6.6	Polarisation .....	91
2.6.6.1	Die physikalischen Grundlagen .....	91
2.6.6.2	Polarisationsfilter und ihre Anfertigung .....	91
2.6.7	Differential-Interferenzkontrast nach Nomarski .....	94
2.6.8	Fluoreszenz .....	94
<b>3</b>	<b>Die Grundlagen der mikroskopischen Abbildung .....</b>	<b>95</b>
<b>3.1</b>	<b>Wie funktioniert eigentlich ein Mikroskop? .....</b>	<b>95</b>
<b>3.2</b>	<b>Die Abbildung durch Linsen .....</b>	<b>96</b>
3.2.1	Die Brennweite und der Bildwinkel .....	96
3.2.2	Die Objekt- und die Bildweite .....	96
3.2.3	Bildkonstruktion und Abbildungsgleichungen .....	98
<b>3.3</b>	<b>Von der Wellennatur des Lichts .....</b>	<b>100</b>
3.3.1	Die Beugung .....	100
3.3.2	Die Auflösung .....	102
3.3.3	Die Bedeutung der Nebenmaxima .....	104
3.3.4	Höhere Auflösung bei schiefer Beleuchtung .....	105
<b>3.4</b>	<b>Das Auge und sein Auflösungsvermögen .....</b>	<b>106</b>
<b>4</b>	<b>Die Anwendung des Mikroskops .....</b>	<b>107</b>

<b>4.1</b>	<b>Das Mikroskop richtig einstellen .....</b>	<b>107</b>
4.1.1	Die Hand an die Schraube! .....	107
4.1.2	Augenabstand richtig einstellen .....	107
4.1.3	Okulare richtig einstellen .....	107
4.1.4	Bildhelligkeit richtig einstellen .....	108
4.1.5	Richtig köhlern .....	109
4.1.5.1	Vorbemerkungen .....	109
4.1.5.2	Einstellung bei Mikroskopen mit im Fuß eingebauter Beleuchtung .....	112
4.1.5.3	Einstellung bei Verwendung einer separaten Mikroskopierleuchte .....	115
4.1.5.4	Faustregeln für die Einstellung des Kondensors .....	116
4.1.6	Aperturblende richtig einstellen .....	119
4.1.7	Schiefe Beleuchtung und Dunkelfeld mit dem Phasenkontrastkondensor .....	124
4.1.8	Über die Verwendung von Filtern .....	124
4.1.9	Vom Umgang mit dem Immersionsobjektiv und dem Immersionsöl .....	125
<b>4.2</b>	<b>Das Mikroskop richtig pflegen .....</b>	<b>127</b>
4.2.1	Staubschutz .....	127
4.2.2	Suche und Behebung von Fehlern im Strahlengang .....	127
4.2.2.1	Ungleichmäßige Ausleuchtung .....	127
4.2.2.2	Der Hot Spot .....	128
4.2.2.3	Fremdkörper im Strahlengang finden .....	130
4.2.3	Linsen putzen .....	131
4.2.3.1	Allgemeine Überlegungen .....	131
4.2.3.2	Die einzig richtige und bewährte Methode .....	131
4.2.3.3	Allgemeine Ratschläge .....	133
4.2.4	Die Prozeduren im Detail .....	133
4.2.4.1	Was wir zum Reinigen brauchen .....	133
4.2.4.2	Allgemeine Vorgehensweise .....	134
4.2.4.3	Ungefaßte Linsen .....	135
4.2.4.4	Gefaßte Linsensysteme .....	135
4.2.4.5	Okulare, Kondensor und Kollektor .....	135
4.2.4.6	Objektivlinsen .....	136
4.2.4.7	Objektivfassung .....	137
4.2.4.8	Kollektor, Spiegelgehäuse, Glühlampe .....	137
4.2.4.9	Prismengehäuse .....	137
4.2.4.10	Allgemeine Ergebniskontrolle .....	138
4.2.5	Service und Reparatur .....	138
<b>4.3</b>	<b>Messen .....</b>	<b>139</b>
4.3.1	Was messen und warum? .....	139
4.3.2	Was man zum Messen braucht .....	139
4.3.3	Prozeduren und Anleitung .....	139
<b>4.4</b>	<b>Bilder machen .....</b>	<b>140</b>
4.4.1	Zeichnen .....	140
4.4.2	Mikrofotografie .....	141
4.4.2.1	Allgemeine Hinweise .....	141
4.4.2.2	Die Kameratypen für die Mikrofotografie .....	143
4.4.2.3	Anpassung von Mikroskop und Kamera .....	144
4.4.3	Filme für die Mikrofotografie und ihre Belichtung .....	152
4.4.4	Digitale Fotografie und Videotechnik .....	154
<b>4.5</b>	<b>Zubehör basteln .....</b>	<b>155</b>
4.5.1	Allgemeine Hinweise .....	155
4.5.2	Blenden und Filter .....	155
4.5.2.1	Schiefe Beleuchtung .....	155
4.5.2.2	Polarisationsfilter selbst anfertigen .....	156
<b>4.6</b>	<b>Die Mikroskopie und Kinder .....</b>	<b>159</b>
4.6.1	Die ersten Fragen .....	159
4.6.2	Das Alter des Kindes .....	159
4.6.3	Die Handlupe .....	160
4.6.4	Das Stereomikroskop .....	160



4.6.5	Das Mikroskopier-Set.....	161
4.6.6	Das „echte“ Mikroskop .....	162
4.6.7	Die Ergonomie .....	164
4.6.8	Bücher und Anleitungen für Kinder .....	164
<b>5</b>	<b>Die Mikroskopische Technik .....</b>	<b>165</b>
<b>5.0</b>	<b>Wichtiger Hinweis zum Umgang mit Chemikalien .....</b>	<b>165</b>
<b>5.1</b>	<b>Nützliche Gerätschaften und Utensilien für den Mikroskopiker .....</b>	<b>166</b>
5.1.1	Nützliche Werkzeuge und Utensilien am Arbeitsplatz .....	166
5.1.1.1	Die Instrumentenschale.....	166
5.1.1.2	Die Glassachen .....	166
<b>5.2</b>	<b>Objekte sammeln und fixieren .....</b>	<b>168</b>
5.2.1	Mikroskopischer Sammel- und Arbeitskalender.....	168
5.2.2	Pollen sammeln und präparieren .....	171
<b>5.3</b>	<b>Objektträger und Deckgläser .....</b>	<b>172</b>
5.3.1	Mechanische und optische Anforderungen.....	172
5.3.2	Geschnitten, feinbekantet, gefrostet? .....	172
5.3.3	Vorgeputzte Objektträger und Deckgläser? .....	173
5.3.4	Objektträger und Deckgläser reinigen .....	173
5.3.5	Über die richtige Deckglasdicke.....	174
5.3.6	Deckglasdicke messen .....	176
5.3.7	Was von Deckgläsern sonst noch wissenswert ist .....	178
<b>5.4</b>	<b>Präparate einbetten und schneiden, .....</b>	<b>179</b>
5.4.1	Einbetten: Vorbereiten zum Schneiden .....	179
5.4.2	Schneiden .....	179
5.4.2.1	Handschnitte.....	179
5.4.2.2	Mikrotome, Messer, Klängen.....	179
5.4.2.3	Messer abziehen und schärfen .....	180
<b>5.5</b>	<b>Präparate färben und eindecken.....</b>	<b>181</b>
5.5.1	Schnitte aufkleben.....	181
5.5.1.1	Handschnitte.....	181
5.5.2	Die ETZOLD-Färbungen <i>FSA</i> und <i>FCA</i> für botanisches Material .....	183
5.5.3	Eindecken, einschließen .....	190
5.5.3.1	Wie man ein Deckglas auflegt. Der Einschluß eines Schnittes in Balsam.....	190
<b>5.6</b>	<b>Wasserorganismen fangen und untersuchen .....</b>	<b>192</b>
5.6.1	Plankton fangen und transportieren.....	192
5.6.2	Plankton untersuchen .....	193
5.6.3	Andere Wasserorganismen.....	193
5.6.4	Aquarien .....	194
5.6.5	Weitere Werkzeuge.....	194
<b>6</b>	<b>Die mikroskopische Literatur .....</b>	<b>195</b>
6.1	Vorbemerkung.....	195
6.2	Mikroskopie, allgemein.....	199
6.3	Mikrofotografie.....	202
6.4	Biologie, allgemein (einschließlich Mikrobiologie).....	203
6.5	Limnologie, Meeresbiologie und Einzeller.....	205
6.6	Botanik .....	209
6.7	Zoologie.....	212
6.8	Pilze.....	214
6.9	Technische Mikroskopie.....	216
6.10	Mikroskopische Technik.....	217
6.11	Zeitschriften .....	219
6.12	Benützte Literatur .....	220

## 1 Der Kauf eines Mikroskops

### 1.1 Was interessiert den künftigen Mikroskopiker besonders?

#### 1.1.1 Funktionen und Mindeststandard des Mikroskops

Die meisten Fragen betreffen das Instrument Mikroskop selbst und seine zweckmäßige Ausstattung. Gelegentlich wird beste Qualität, Vielseitigkeit der Ausstattung, Ausbaufähigkeit, ein zuverlässiges Markenprodukt mit gutem Service und ein Preislimit von 250 Euro gefordert. Doch die Quadratur des Kreises gelingt auch beim Mikroskopkauf nicht. Deshalb sollte man bei vermeintlichen Schnäppchen nicht übereilt zuschlagen. Unzweckmäßiges Vorgehen bei der Anschaffung eines womöglich teuren Mikroskops oder seine falsche Ausstattung kosten nicht selten erhebliches Lehrgeld oder verfehlen gar den beabsichtigten Zweck so weit, daß das neue Hobby bald enttäuscht. Davor möchte die Mikrofibel bewahren.

Der Einsteiger erwirbt nicht zwangsläufig ein besonders einfach ausgestattetes oder billiges Mikroskop, manch einer ist in der glücklichen Lage, gleich in einer gehobenen Klasse einzusteigen. Doch auch in der „Basisklasse“ sollten Qualität und Ausstattung einem gewissen Mindeststandard entsprechen. Selbstverständlich kann man auch viele Dinge mit einem Mikroskop sehen und beobachten, das jenen Mindeststandard nicht aufweist. Man muß dann aber Umständlichkeit und Zeitverlust bei der Bedienung und Beschränkungen bei den Anwendungsmöglichkeiten in Kauf nehmen.

**Kleinmikroskope** aus dem Versandhauskatalog, dem Warenhaus oder der Spielwarenhandlung und sogenannte **Schülermikroskope** behandelt die Mikrofibel nicht. Kleinmikroskope sind Spielzeuge, und für den Begriff „Schülermikroskop“ gibt es keine allgemein akzeptierte Definition, jeder versteht ihn anders, und manche unter dieser Bezeichnung angebotenen Instrumente sind für beinahe jeden ernsthaften Zweck unbrauchbar. Es ist bestimmt kein Zufall, daß sie in der Angebotspalette renommierter Mikroskophersteller in der Regel fehlen. Wie man Kindern und Jugendlichen den Einstieg in die Naturkunde mit dem Mikroskop auf andere Weise erleichtern kann, liest man im Kapitel 4.6 *Die Mikroskopie und Kinder*.

Wer sich falsche Vorstellungen von der Mikroskopie gemacht oder das falsche Instrument gekauft hat, möchte vielleicht sein **Mikroskop verkaufen**. Es gibt solche, die einem sofort zu einem guten Preis abgenommen werden, und andere, für die man selbst nach längerem Bemühen nur einen Spott- oder Schrottpreis erzielt. Deshalb gleich zu Beginn der wichtigste Ratschlag:

Eile mit Weile – nichts überstürzen.

Das Mikroskop ist kein einfaches Instrument, die sinnvolle Anschaffung will gut überlegt sein.

Nicht nur Anfänger, auch erfahrene Mikroskopiker sind oft noch nach Jahren überrascht, welche Vielfalt und Abenteuer die Kleinwelt bereit hält, und auf welchen Pfaden und wohin ihr Steckenpferd sie trägt. Deshalb ist es weise, der späteren Ausbaufähigkeit des Mikroskops von Beginn an Aufmerksamkeit zu widmen, oder aber zunächst ein Einfachmodell zu kaufen, das man, wenn die Ansprüche wachsen und ein Instrument der „höheren Art“ erfordern, noch immer als Exkursionsmikroskop verwenden oder verschenken kann.

#### 1.1.2 Der Verwendungszweck des Mikroskops

##### *Frage*

Der Anbieter möchte von mir genau wissen, **welche Objekte** ich beobachten möchte, und was ich bei ihnen sehen muß, dann könne er mir ein passendes Instrument anbieten. Aber ich weiß das doch noch nicht so recht, auch nicht, ob ich das Gesehene auch fotografieren will. Was soll ich ihm antworten?

##### *Antwort*

So geht es den meisten Neulingen. Die Antwort an den Anbieter zunächst zurückstellen und erst einmal gründlich die Mikrofibel lesen. Danach sollte vieles klarer sein.

##### *Frage*

Welche **Kompromisse** hinsichtlich Qualität und Ausstattung sind für Einsteiger mit wenig Geld akzeptabel?

##### *Antwort*

Wer infolge seines allgemeinen Lebenszuschnitts oder vorübergehend wenig Geld für ein Steckenpferd ausgeben kann oder möchte, wird wohl bei der Anschaffung eines Mikroskops Kompromisse machen

müssen. In der Anfangszeit mit einem billigen und gebrauchten Instrument vorliebnehmen, bei Abstrichen an der Bildqualität und der Vielseitigkeit, dafür aber sofort beginnen, liegt dem einen mehr, der andere spart lieber noch ein wenig länger auf sein Traummikroskop und bereitet sich inzwischen mit Fachliteratur und einer guten Taschenlupe vor.

Wer beobachten will, wie schnell bestimmte Bakterien- oder Pilzkulturen wachsen, kann das auch mit einem recht einfachen und billigen Mikroskop mit Spiegelbeleuchtung. Wer neben seinem Interesse für die Mikrowelt auch von hochwertiger Präzisionsoptik und Feinwerktechnik fasziniert ist, wird anders denken. Dazu erteilt die Mikrofibel keine unerbetenen Ratschläge. Statt dessen werden bei den wünschens- oder empfehlenswerten Ausstattungsmerkmalen immer Begründungen genannt, damit Ratsuchende selbst entscheiden können, ob und welche Kompromisse ihnen zusagen.

#### *Frage*

Genügen für einen Amateur, einen Hobby-Mikroskopiker, nicht **wenige Komponenten in einer einfachen Grundausstattung**? Schließlich will man ja nicht mit Forschungslabors konkurrieren!

#### *Antwort*

Das kann man so allgemein nicht sagen, denn manche Amateure wollen genau das! Ob sie es zeitlich und fachlich immer können, steht auf einem anderen Blatt. Nicht in allen Forschungslabors braucht man übrigens Supermikroskopiermaschinen, oft nur eine spezielle Mikroskopausstattung, z. B. um nichts anderes zu beobachten als das Wachstum von Getreidepollenschläuchen im Fluoreszenzlicht. Die Vielseitigkeit modular aufgebauter, universell einsetzbarer Supermikroskope wird auch in Forschungslabors selten voll genutzt. In den angewandten Wissenschaften dient ein Mikroskop ebenfalls oft einem speziellen Zweck; denken wir an das Mikroskop eines Braumeisters, das mit zwei preiswerten Objektiven, einem Okular und einem Dunkelfeldkondensator hinreichend bestückt sein kann.

Manche Hobby-Mikroskopiker spezialisieren sich auf ein bestimmtes Gebiet, z. B. auf die Bestimmung und Kartierung von Laubmoosen oder Flechten auf Madeira. Für sie ist das Mikroskop oft nur Hilfsinstrument für ein anderes Steckenpferd. Wer dagegen zu Beginn seiner neuen Leidenschaft noch nicht so recht weiß, was er im Laufe der Jahre alles untersuchen möchte, mal Blütenpollen im Honig bestimmen, mal schnellbewegliche Wasserorganismen mit TTL-Blitz fotografieren oder Kristallstrukturen im polarisierten Licht ausmessen, kann ein vielseitig verwendbares und mit unterschiedlichen Zubehörkomponenten ausrüstbares Instrument viel eher „brauchen“ als ein spezialisiertes Universitätslaboratorium.

Die **Ansprüche an Präzision und Dauerhaftigkeit** der mechanischen Konstruktion wachsen mit der Häufigkeit des Auswechslens von Objektiven, Kondensoren, Fototuben, Beleuchtungseinrichtungen und dem Transport des Instruments. Gerade bei engagierten Amateuren kann ein Mikroskop eine „High-duty“-Beanspruchung erleben, die in der Berufswelt nur ausnahmsweise vorkommt.

#### *Frage*

Ich bin leidenschaftlicher Aquarianer und habe in dieser Hinsicht jede Menge Untersuchungsmaterial aus fast allen Bereichen, d. h. mein neues Mikroskop müßte ziemlich **universell einsetzbar** sein. Mein Preislimit sind 250 Euro. Was könnten Sie da empfehlen?

#### *Antwort*

Ein sehr preiswertes Mikroskop kann nicht universell eingesetzt werden. Zum universellen Einsatz gehört die Anwendung alternativer Beleuchtungsverfahren, wie Phasenkontrast, Differential-Interferenzkontrast nach Nomarski (DIK), Fluoreszenzbeleuchtung, Dunkelfeld, Schiefe Beleuchtung, Auflicht, Auswechselbarkeit von Lampengehäusen, Kondensoren, Tuben und Fotoansätzen. Aber eine solche Universalität ist für die Aquaristik gar nicht vonnöten. Phasenkontrast braucht man in den ersten zwei Jahren nicht. DIK ist teuer, für Wasserorganismen sehr schön, aber nicht notwendig. Dunkelfeld und schiefe Beleuchtung sind einfach und billig zu realisieren. Fluoreszenzlicht braucht der Amateur nur selten.

Speziell für die Aquaristik genügt ein ganz normales **Durchlicht-Hellfeldmikroskop** mit einfachen, achromatischen **Hellfeldobjektiven**. Als Ergänzung zunächst selbstgebastelte Behelfseinrichtungen für **Dunkelfeld** und **schiefe Beleuchtung**. Es ist aber vorteilhaft, ein Modell zu wählen, für das der Hersteller oder Händler auch eine **Phasenkontrasteinrichtung** anbietet, für den Fall, daß man sie später doch noch zusätzlich anschaffen möchte. Und wer sich vorstellen kann, später einmal **DIK** anzuwenden, muß dann eventuell das Modell oder auch das Fabrikat wechseln und ein DIK-geeignetes kaufen. Gleich ein Instrument von einem der Top-Hersteller zu wählen, die DIK anbieten (Zeiss, Leica, Olympus, PZO, Nikon), würde nicht in den genannten Preisrahmen von 250 Euro passen, selbst ein gebrauchtes ist zu diesem Preis nicht zu bekommen, noch nicht einmal ohne DIK und ohne alles.

*Frage*

Ich möchte gerne Mikrofotos mit einer **Digitalkamera** machen. Muß ich das schon bei der Auswahl eines Mikroskops berücksichtigen?

*Antwort*

Im Prinzip nein. Man kann mit einem beliebigen Mikroskop und einer beliebigen Kamera Mikrofotos machen. Praktischer ist es aber, ein modernes Mikroskop mit Unendlichobjektiven zu wählen, denn einer der Gründe für deren Einführung war die sich ausbreitende Digitalfotografie. Siehe dazu Kapitel 2.3.1.2 *Moderne Unendlichoptik*. Man bekommt sie bei Zeiss, Leica, Olympus oder Nikon.

### 1.1.3 Ausbaufähiges Instrument?

In einem Mikroskopierbuch für kindliche und jugendliche Anfänger ist zu lesen: „Als Anfänger brauchst Du noch kein teures Mikroskop. Es ist viel besser, ein ausbaufähiges Basismodell zu erwerben ...“ Ein Ratsschlag, der prompt in die Irre führt. Denn wenn man unter Ausbaufähigkeit nicht nur verstehen will, daß man später noch ein zusätzliches Objektiv oder Okular nachkaufen kann, so ist ein „ausbaufähiges Basismodell“ immer ein beachtlich teures Mikroskop.

*Frage*

Kann ich ein **Schülermikroskop** ausbauen, also später mit zusätzlichen Komponenten ergänzen, zu einem höherwertigen Mikroskop?

*Antwort*

Nein, in der Regel nicht. „Schülermikroskope“ umfassen, damit der Preis niedrig gehalten werden kann, nur solche Ausstattungsmerkmale, die man im Biologieunterricht der Schule braucht, sonst nichts. Mit Zubehör oder Ausbaufähigkeit ist es schlecht bestellt. Zusätzliche Einrichtungen wie Phasenkontrastkondensator oder -schieber, Fototubus, größeres Lampenhaus usw. würden die Stabilität der Stative von Schülermikroskopen überfordern.

Manche renommierten **Hersteller** bieten sogenannte Schülermikroskope überhaupt nicht an, aber ein **Kursmikroskop**, wie es für Biologie- und Medizinstudenten im Praktikum an einer Universität zur Verfügung steht, und das bei manchen Herstellern etwas ausbaufreundlicher ist, hat jeder im Programm. Preisgünstige Kursmikroskope sind mitunter abgemagerte Modelle ganz normaler Modellreihen und haben deren Anschlußmaße, so daß Ergänzungsstücke und Einrichtungen gelegentlich ebenfalls passen.

Die meisten **Händler** beschränken sich auf biologische Mikroskope in Hellfeld-Grundausrüstung und bieten weder für Kurs- noch für Labormikroskope Ausbaubehör an.

*Frage*

Was ist **Ausbaufähigkeit** und welche Instrumente sind überhaupt ausbaufähig?

*Antwort*

Der schräge Okulartubus ist heute in der Regel bei allen Mikroskopen mit einer Klemmschraube in der Tubusaufnahme befestigt und gegen andere austauschbar. Nicht alle Hersteller oder Verkäufer bieten aber einen anderen an! Es wird in Ratgeberbüchern und -artikeln für Hobby-Mikroskopiker oft gefordert, daß das Mikroskopstativ ausbaubar sein solle, z. B. sollten sich ein anderes **Lampenhaus** mit einer stärkeren Lampe, eine wirkungsvollere Beleuchtungseinrichtung, z. B. eine **Köhlersche Beleuchtung**, ein anderer **Objektstisch**, ein anderer **Objektivrevolver** oder ein anderer **Kondensator** ansetzen lassen. Das Mikroskop soll auf diese Weise qualitativ aufgerüstet werden können. Solche Austauschbarkeit ist aber ein Merkmal ziemlich teurer Forschungsinstrumente, sie verlangt sehr präzise Aufnahmeeinrichtungen, die auch auf feinmechanisch einwandfreie Art justierbar und zentrierbar sein müssen. Doch um solche Forderungen zu erfüllen, müssen die Aufnahmeverrichtungen nicht nur vorhanden, sondern sowohl sie als auch das ganze Stativ sehr stabil gebaut sein, weil optisch oder mechanisch höherwertige Baugruppen in der Regel bedeutend schwerer sind und die Stabilität des Stativs dafür ausgelegt sein muß. Die Mehrkosten für solche Ausbaubarkeit sind beachtlich, mitunter betragen sie das mehrfache eines einfachen Kursmikroskops. Selbst die meisten Labormikroskope sind in diesem Sinne nicht ausbaufähig! Die Forderung nach Ausbaufähigkeit einfacher, preiswerter Stative ist deshalb nicht erfüllbar. Ein Prospekt und eine Bedienungsanleitung genügen bei solchen Instrumenten nicht. Man darf deshalb nicht unterschätzen, daß der Aufwand an Kaufberatung und Einweisung nach dem Kauf seitens der Hersteller für ausbaufähige Systemmikroskope im Einzelfall sehr hoch sein kann. Vielfach übernehmen wissenschaftlich ausgebildete Mitarbeiter des Herstellers solche Aufgaben. Die Kosten dafür stecken in der Regel ebenfalls im Preis.

#### 1.1.4 Wo kaufen?

##### *Frage*

Wo kaufe ich ein Mikroskop? Können Sie einen (Versand-)Händler empfehlen?

##### *Antwort*

Am besten kauft man ein Mikroskop beim **Hersteller**, seiner nächsten Niederlassung oder örtlich zuständigen Vertretung. Wenn es ein Modell sein soll, dessen Hersteller unbekannt ist, oder das von einem der vielen Laborgerätehändler zusammengestellt bzw. konfektioniert wird, achte man auf die **Lieferbedingungen** und den Umfang der **Gewährleistung** und **Garantie**. Manche Versandfirmen, die auch ein umfangreiches Laborausstattungs- und Kleinzubehörgeschäft betreiben, haben Liefer- und Gewährleistungsbedingungen, die für den Mikroskopkauf ganz unpassend sind. Leica und Zeiss z. B. geben auf ihre Feldstecher, die man als Strapazier-Outdoor-Artikel bezeichnen kann, 30 (dreißig!) Jahre uneingeschränkte Garantie. Warum sollte man sich da bei einem Mikroskop, das bei pfleglicher Behandlung nahezu unzerstörbar ist, mit 2 Jahren Garantie bzw. 6 Monaten Gewährleistung nach dem BGB abspeisen lassen?

Beim Brillenoptiker oder im Fotohandel kauft man ein Mikroskop im allgemeinen nicht. Das nächste Kapitel bietet einige Anhaltspunkte.

## 1.2 Die Auswahl des Mikroskops

### 1.2.1 Persönliche Auswahlkriterien

Es gibt heutzutage, wenn wir von Spielzeug- und gewissen Schülmikroskopen absehen, keine unbrauchbaren Mikroskope. Auch mit sehr preiswerten kann man interessante Beobachtungen machen und Wissenswertes über die Natur entdecken. Den Preis bestimmen die Stabilität und die Präzision der Mechanik, die Modernität und die Güte der Optik, die Sorgfalt und das Können bei der Fertigung, die Vielseitigkeit und die Ausbaufähigkeit, bequeme Bedienung und der Service.

Bei der Diskussion über die Qualität werden die unterschiedlichen Ansprüche der Benutzer häufig nicht berücksichtigt. Nicht alle Naturfreunde setzen nämlich in ihrem Leben dieselben Prioritäten. Deshalb enthält diese Erstausgabe der Mikrofibel z. B. nur spärliche oder gar keine Anmerkungen über die grundsätzlichen Abbildungsfehler der Objektive, wie chromatische Aberration oder Astigmatismus. Den Käufer von Spitzenerzeugnissen kann das weitgehend kalt lassen, und wer nur an der untersten Preisgrenze kaufen kann, muß mit der Qualität vorliebnehmen, die der Markt dort bietet. Ausgesprochen miserable, unbrauchbare Qualität ist heutzutage sowieso selten und in Mitteleuropa so gut wie

unverkäuflich.  
Die Auswahlkriterien sind vielfältig. Welchen Auswahl- und Entscheidungskriterien eine Universitätsverwaltung bei der Anschaffung von 500 Kursmikroskopen folgt, oder welche Prioritäten ein Industriebetrieb bei Instrumenten für die Qualitätskontrolle setzt, berührt den Amateurmikroskopiker wenig. **Der Liebhabermikroskopiker muß sein Instrument gern haben, sonst wird aus dem Hobby nichts.** Denn ihn zwingt kein beruflicher Arbeitsvertrag ans Mikroskop, er muß es freiwillig „gerne anfassen“. Die Liebhaberei wird aber auf eine harte Probe gestellt, wenn man sein Instrument übereilt oder auf falsche Ratschläge hin erworben hat. Der begeisterte Amateur kontrolliert ja nicht nur mal kurz einen Blutaussstrich oder das Wachstum von Bakterienkulturen, sondern sitzt oft stundenlang an seinem Instrument, um in der Mikrowelt umherzuschweifen. Lassen Sie sich deshalb kein Mikroskop mit dem Argument einreden, es sei „das Beste“ für Ihre Zwecke. Prüfen Sie genau, ob Sie es mögen, wie es sich anfühlt, wenn Sie an den Triebknöpfen drehen, ob die Unterarme dabei bequem auf der Tischplatte oder die Armknochen schmerzhaft auf deren Kante liegen, oder wie bequem sie den Augenabstand der Okulare einstellen oder den Kondensator wechseln können. Auch lokale Gesichtspunkte können eine Rolle spielen. Wer in der Nähe einer renommierten Mikroskopfabrik wohnt, wird es vielleicht mit einem ihrer Produkte versuchen, weil dann fachkundiger Service immer in vorteilhafter Nähe ist.

Ein Vereinskollege sagte einmal: „Mein Vater hatte ein Zeiss, mein Großvater eines von Zeiss-Winkel. Und auch mein Zeiss wurde in derselben Fabrik in Göttingen gebaut wie die beiden anderen. Weiter habe ich darüber nicht nachgedacht.“

### 1.2.2 Fragen und Antworten zur Auswahl

#### *Frage*

Mir kommt es vor, als ob es ab einer gewissen Preisklasse nur mehr „philosophische“ Unterschiede zwischen den Geräten gibt?

#### *Antwort*

Ab einer bestimmten Preisklasse, in der sich die funktionalen Möglichkeiten und das Zubehörprogramm zwischen den Top-Herstellern kaum mehr unterscheiden, kann man den „Sympathiefaktor“ und die Bedienbarkeit stärker gewichten. Jeder Hersteller behauptet von seinen Instrumenten, das Design sei von unübertrefflicher Ergonomie, funktionaler Zweckmäßigkeit und Standfestigkeit. Aber es gibt doch erhebliche Unterschiede.

#### *Frage*

Ich möchte mir ein mechanisch und optisch erstklassiges Mikroskop anschaffen. Die Preise sind ziemlich unterschiedlich. Zahlt man bei manchen Herstellern nicht einfach einen zu hohen **Preisaufschlag für den Namen?** Beispielsweise bei Leica oder Zeiss?

#### *Antwort*

Der Preiskampf tobt zur Zeit in vielen Branchen, auch in der Mikroskopie. Niemand zahlt heute etwas nur für Namen bzw. für eine ruhmreiche Firmenvergangenheit. Auch Forschungsinstitute nicht, denn die staatlichen Budgetmittel sind knapp geworden. In der Regel sind große Namen mit guter Fachberatung und Service – auch vor Ort – verbunden. Die großen Markenfirmen haben Entwicklungsabteilungen, die stets für arbeitserleichternde, kostensenkende und qualitätssteigernde Neuerungen sorgen, und das

regelmäßig seit mehr als 100 Jahren. Wer auch nach dem Kauf des Basisgerätes daran teilhaben möchte, ist nicht schlecht beraten, sein Instrument von einem dieser renommierten Hersteller zu wählen, deren Kalkulation solche Leistungen einschließt. Ein Hersteller, der durch überhöhte bzw. unfaire Preise aufgefallen wäre, ist in der Branche nicht bekannt. Die Preise auch der „großen Namen“ sind durchaus konkurrenzfähig. Hinzukommt, daß es manchmal eben doch gewisse Unterschiede gibt.

Dazu ein Beispiel. Ein bekannter Hersteller von Brillenoptik und Lupen baut seit kurzem auch Mikroskope und gewährt 5 Jahre Garantie auf die Instrumente. Bei manchen anderen Herstellern taucht das Wort Garantie weder in einem Prospekt noch in einer Produktbeschreibung auf. Man hat bei ihnen selbstverständlich lebenslange Garantie, bezogen auf das Leben des Mikroskops – das können mehrere Benutzergenerationen sein. Angesichts von 30 (in Worten: dreißig) Jahren uneingeschränkter Garantie auf den Outdoor-Strapazierartikel Feldstecher (Leica und Zeiss), sind 5 Jahre für ein Mikroskop eindeutig zu wenig. Einer meiner Mikrofrenunde hat ein Mikroskop, dessen Grob- und Feintrieb und die Tischtriebe unvergleichlich butterweich, doch fest, spielfrei und präzise gehen. Es wurde vor 70 Jahren in Jena hergestellt und hat, zumindest in den letzten 45 Jahren, keinen Abschmierdienst oder anderweitigen Service nötig gehabt.

Bei Preisvergleichen auch an solche Dinge zu denken, ist nicht verkehrt.

Präzision, robuste Bauweise und Dauerhaftigkeit sind beim Mikroskop wichtige Gesichtspunkte. Denn weil die zu beobachtenden Objekte so winzig sind, müssen sich zwangsläufig alle mechanisch-optischen Teile auf diese geringen Größen und Abstände exakt einstellen und justieren lassen. Das ist nur mit Können, äußerster Präzision und Sorgfalt in Konstruktion und Herstellung möglich.

Von Benjamin FRANKLIN stammt die Bemerkung, die auch für heutige Mikroskope gilt: **Es gibt keinen Gegenstand, den nicht irgendwer noch etwas billiger und schlechter fabrizieren könnte.**

#### *Frage*

(Immer wieder wird am Telefon, in eMails und in persönlichen Gesprächen gefragt:) **Welche Hersteller** spielen denn überhaupt eine Rolle bei den Amateuren? Und gibt es eine Art **Rangordnung** oder Beliebtheitskala, und was ist der Grund dafür?

#### *Antwort*

Hobby-Mikroskopiker, oft Mitglieder entsprechender Vereine und Teilnehmer an mikroskopischen Freizeit- bzw. Arbeitswochen, bevorzugen – laut meinen regelmäßigen statistischen Notizen – bisher eindeutig die Fabrikate **Carl Zeiss** (Oberkochen und Jena), **Olympus** (Tokyo) und **PZO** (Warschau).

Eine geringere Rolle spielen **Leica** Microsystems (ehem. Ernst Leitz Wetzlar GmbH, nicht zu verwechseln mit Leica Camera AG, Solms bei Wetzlar, ebenfalls ehem. Ernst Leitz Wetzlar). Nicht selten sieht man auf Mikroskopiker-Treffen auch **Lomo** (St. Petersburg, Rußland), oft als Zweitgerät bzw. Reisemikroskop. Gelegentlich ist ein Gerät von Helmut **Hund** (ehem. **Will**, Nauborn bei Wetzlar) dabei, von der holländischen Firma **Euromex** (Arnheim) oder **Hertel & Reuss** (Kassel; Firma seit etwa 15 Jahren erloschen; heute Gerhardt). Weit abgeschlagen **Nikon** (Tokyo), deren Marktanteil in Deutschland gering ist. Seit neuestem sieht man öfter ein Instrument von **ASKANIA** (Mikroskop-Technik Rathenow; früher ROW im Staatskonzern VEB Zeiss Jena; davor Busch, Rathenow) und Instrumente chinesischer Hersteller, die von mehreren Handelsfirmen geliefert werden.

Schweizer Mikroskopiker besitzen vielfach ein Instrument von **Wild**, Heerbrugg (jetzt im Leica-Konzern) und Österreicher eines von **Reichert** (jetzt Reichert-Jung, Nußloch bei Heidelberg, ebenfalls im Leica-Konzern). Beides renommierte Fabrikate.

Welche Gründe gibt es für diese Rangskala, worauf legen Amateurmikroskopiker im allgemeinen Wert? Der wichtigste Grund überrascht vielleicht: Meine seit 20 Jahren betriebene Häufigkeitsstatistik entspricht in etwa den geschätzten Marktanteilen der Hersteller. Durch die Wahl ihres Mikroskopherstellers unterscheiden sich Hobbymikroskopiker und Profis also nicht. Das verwundert nicht. Profis betreiben die Mikroskopie mitunter auch als Hobby und aus jüngeren Amateuren werden nicht selten später Profis in Forschung, Lehre oder Wirtschaft. Weitere Gründe in den folgenden Anmerkungen zu den einzelnen Herstellern.

### 1.2.3 DIN und andere Normen

Immer wieder wird Laien empfohlen, sie müßten ein Mikroskop kaufen, das mit Norm-Objektiven oder gar DIN-Objektiven, genormten „Ringschwalben“ oder „Schwalbenschwanzführungen“ ausgestattet sei usw.

Die einzige wichtige Norm stammt von 1980. Es ist **DIN 58887**. Sie definiert aber keine Qualitätsbedingungen für Objektive oder deren Anschlußmaße, sondern die **mechanische Tubuslänge mit 160 mm** sowie die **Abgleichlängen von Objektiven mit 45 mm** und **Okularen mit 10 mm**. Weiter nichts.

Daneben existieren noch **DIN 58881**, worin lediglich die Maße für die üblichen Steckfassungen der Okulare beschrieben sind (23,2, 30 und 34 mm) und Normblatt **DIN 58888**, welches das RMSS-Gewinde („Royal Microscopical Society Standard“) beschreibt. Dieses Objektivgewinde (W 0,8“ x 1/36“) und der Steckdurchmesser von 23,2 mm für die Okularaufnahmen wurden von der RMS 1856 empfohlen und seither von allen namhaften Mikroskopherstellern angewandt. Sie sind für normale Durchlichtmikroskope, die man auch „biologische Mikroskope“ nennt, zu Defacto-Normen geworden, nachdem Carl Zeiss um 1870 exakte Konstruktionszeichnungen von ihnen angefertigt und sie anderen Mikroskopherstellern unentgeltlich zur Verfügung gestellt hatte.

DIN 58888 von 1979 empfiehlt die Anwendung des RMS-Gewindes für alle Mikroskopobjektive, wenn nicht aus optischen oder konstruktiven Gründen andere Anschlüsse erforderlich sind. Doch gab es aus technischen Gründen bei vielen Herstellern immer auch Abweichungen davon.

Dem deutschen Normenausschuß ist es mit vielen Mühen nach mehr als einem Jahrzehnt gelungen, diese DIN-Normen zu verabschieden. Da sie sofort weltweit angenommen wurden, ist es für „No-Name“-Hersteller, beispielsweise aus Ostasien, wesentlich einfacher geworden, ihre Produkte unter dem unzutreffenden Werbeschlagwort „nach DIN“ in Europa und USA zu verkaufen. Auf die beinahe gleichzeitig mit der DIN 58887 eingeführten neuen Mikroskope der Marktführer Zeiss, Leica, Olympus und Nikon mit moderner **Unendlichoptik** sind die genannten DIN-Normen jedoch gar nicht anwendbar, weil ihnen ein anderes Konstruktionsprinzip zugrunde liegt.

Genormte Aufnahmeeinrichtungen wie Ringschwalben für Tubusköpfe, Einsteck- und Klemmhülsen oder Schwalbenschwanzführungen für Kondensoren, haben niemals existiert. Noch nicht einmal die Durchmesser der Farbfilter, die in die Filterhalter unter dem Kondensator oder auf die Lichtaustrittsöffnung im Mikroskopfuß passen müssen, sind einheitlich, bei dem einen 32 mm, bei anderen 30, 31, 32,5 oder 33 mm ...

Siehe auch die Ausführungen unter 2.3.3.9 *Objektive „nach DIN“?* und 2.4 *Umrüstung von Mikroskopen mit fremden Bauteilen*.



## 1.3 Wichtige Mikroskophersteller

### 1.3.1 Über die Auswahl der Hersteller in der Mikrofibel

Die Angaben über Hersteller und die Reihenfolge der Aufzählung sind eine persönliche Wertung, eine Rangfolge der Empfehlungen. Insofern ist die Mikrofibel nicht „neutral“. Produktqualität, Umfang des Lieferprogramms, Service und Verbreitung sind dabei ausschlaggebend.

Zur Zeit importieren etliche **Händler** Mikroskope von fernöstlichen Herstellern. Der Verfasser hat keine Erfahrung mit solchen Handelsfirmen und ihren zahlreichen Mikroskopmodellen.

Auch einige **Hersteller**, die ihre Erzeugnisse in Mitteleuropa anbieten, fehlen in der folgenden Aufzählung. Daraus darf nicht einfach auf negative Erfahrungen mit ihren Produkten geschlossen werden. Doch das Fehlen negativer Erfahrungen ist kein hinreichender Grund für die Aufnahme in eine Empfehlungsliste. Die Auswahl in der Mikrofibel richtet sich allein danach, ob und welche positiven Erfahrungen der Verfasser selbst hat – oder praxiserfahrene Mikroskopiker, deren Überblick und sorgfältigem Urteil er vertraut. Sobald sich der Erfahrungsschatz erweitert, wird die Auswahlliste ergänzt oder gekürzt werden.

### 1.3.2 Carl Zeiss, Oberkochen/Württ.

(Oberkochen und Jena; Entwicklung, Fabrikation und Produktmanagement hauptsächlich in Göttingen)

Der weltweit erhebliche Marktanteil von Zeiss kommt nicht von ungefähr, ist Folge der exzellenten Qualität und der anerkannten Tatsache, daß Zeiss seit nunmehr 150 Jahren immer regen Gedankenaustausch mit allen Anwendern in Forschung, Medizin und Wirtschaft gepflegt hat.

Es gibt auf dem Gebiet der Mikroskopie seit 1860 nicht viele „Features“, die nicht bei Zeiss erfunden oder entwickelt und als Innovationen erfolgreich weltweit eingeführt wurden: Beleuchtungsapparat (Abbe-Kondensator 1872, in USA und Japan noch heute „Abbe“ genannt); erstmals berechnete Objektive anstelle von Pröbeln (ABBE 1872); Homogene Ölimmersion (ABBE 1877); Apochromate und Verwendung von Fluorit im Objektivbau (Abbe 1886); KÖHLERSche Beleuchtung (Köhler 1893); GREENOUGH-Stereomikroskop (1897); Ultramikroskop (SIEDENTOPF u. ZSIGMONDY 1903, Nobelpreis); Ultraviolett-Mikroskop (Köhler 1904); Parfokalität – Objektivabgleich (KÖHLER 1911); die heute übliche Bauform (L-Stativ; Abkehr von der Hufeisen-Bauform mit Stativgelenk 1933); Reflexmindernde Vergütung (1936); Phasenkontrast (ZERNIKE 1936, Nobelpreis); Planobjektive mit Bildfeldebahnung (BOEGEHOLD et al. 1938); Vergrößerungs-Schnellwechsler bei Stereomikroskopen (1944). Mit der Modellreihe Standard (MICHEL 1950) wurden folgende Neuerungen eingeführt: Binokulartubus ohne zusätzliche Vergrößerung, Kondensoren mit klappbarer Frontlinse, Koaxialtriebe und federnde Objektivfassung, „Objektschutz“ (MICHEL 1950), einheitlicher Farbvergrößerungsfehler aller Objektive einer Baureihe (keine verschiedenartigen Okulare mehr notwendig), Objektivabgleichlänge 45 mm und Okularabgleichlänge 10 mm (1980 als Norm in DIN 58887 übernommen), Farbkennzeichnung der Objektivvergrößerungen, Vergrößerungswechsler Optovar. Mikrofotografie-Einrichtung mit vollautomatischer Belichtungssteuerung (1953 – das war überhaupt weltweit die erste Kamera mit automatischer Belichtungssteuerung!); der Binokulartubus ohne Änderung der opt. Weglänge (mit „Knickbrücke nach SIEDENTOPF“); Homale für die Mikrofotografie (ca. 1930); Doppelkollektor für die Blitzfotografie am Mikroskop (MÖLLRING 1960); u. a. m.

Die weit über ein Jahrhundert gleichbleibend hohe Qualität und Innovationskraft ziehen viele Kunden an, Profis wie Amateure.

Die Beliebtheit der älteren, heute ausgelaufenen Modellreihe Zeiss **Standard** unter Amateuren beruht unter anderem darauf, daß infolge des hohen Marktanteils auch ein relativ großer und gut bestückter **Gebrauchmarkt** existiert. Das sorgfältige Finish läßt pfleglich behandelte Geräte selbst nach vielen Jahrzehnten wie neu aussehen, und die mechanische Stabilität ist unübertroffen dauerhaft. (Das trifft in gleicher Weise auf die Geräte von Leitz Wetzlar zu.) Ein gebrauchtes Zeiss Standard zu kaufen, stellt im allgemeinen kein Risiko dar. Es gibt **genügend Originalzubehör auf dem Gebrauchmarkt**. Wer mit Ausdauer sucht, findet meist auch noch recht exotisches Zubehör. Das ist gerade für Amateure nicht unwichtig, denn sie können eine umfangreiche Komplettausrüstung selten auf einen Schlag kaufen, sondern meist zunächst nur die Grundausstattung aus der Hobbykasse finanzieren und darauf vertrauen, daß es nach Jahren noch Ergänzungssteile gibt. Oder das Interesse wendet sich erst nach Jahren Organismen zu, die man nur im Phasenkontrast richtig sehen kann. Da ist es gut, wenn man dann immer noch die gewünschten Ausbauteile kaufen kann, sei es beim Hersteller oder auf dem Gebrauchmarkt. Auch

sollte nicht unterschätzt werden, daß man ein Zeiss Standard jederzeit zu einem angemessenen Preis verkaufen kann. Das ist nicht bei allen Fabrikaten so.

Zeiss hat die Modellreihe **Standard nahezu 40 Jahre ohne wesentliche Änderungen gebaut**, selbst die ersten Geräte von 1950 konnte man noch 40 Jahre später mit neu produzierten Zusatzteilen kombinieren, und älteste Zusatzeinrichtungen paßten an die neuesten Instrumente. Ob es möglich sein wird, auch in Zukunft eine Produktreihe über einen ähnlich langen Zeitraum zu pflegen, wird sich zeigen.

Für die Jenaer Modellreihen aus der DDR-Zeit (optische und mechanische Qualität ebenfalls hervorragend, mit vielen eigenständigen technischen Lösungen) ist der Gebrauchtmrkt, da inzwischen von Liebhabern völlig abgesucht, sehr eng. Zur DDR-Zeit sind ja nur wenige besser ausgestattete Exemplare in Privathand geraten.

### 1.3.3 Olympus, Tokyo

(Deutsche Niederlassung in Hamburg).

Anerkannt hervorragende Qualität in Optik und Mechanik. Im Amateurbereich gut verbreitet. In der Vergangenheit waren die mitunter überraschenden Wechsel der Modellreihen mit Änderung wichtiger optischer Parameter oder eigentümliche mechanische Anschlußmaße unbeliebt. Sogar der Durchmesser der Einlegefilter war mit 32,5 einen halben Millimeter größer als üblich. Das hat sich aber geändert, nachdem auch Olympus, wie andere Hersteller, die Zeiss'sche Tubuslänge 160 mm, die Objektivabgleichlänge 45 mm und die Okularabgleichlänge 10 mm (DIN 58887) übernommen hat. Auch hat Olympus eine Reihe von sehr guten **Unendlichobjektiven** herausgebracht. Die Geräte sind standfest, stabil und präzise gebaut. Doch das alles gibt es auch bei Olympus aus Japan nicht umsonst.

### 1.3.4 Göke – Mikroskopie, Hagen

Die Firma R. Göke, gegründet 1963 als Familienbetrieb, ist den Mikroskopikern bekannt als Importeur und Vertreter von PZO. Zunächst Import von *Meopta*-Mikroskopen aus Prag, ab 1970 von PZO, Warschau, weil deren Bauteile überwiegend mit dem Mikroskop Zeiss *Standard* kompatibel sind und mehrere Kontrasteinrichtungen zur Verfügung standen. **Gerhard Göke** begleitet die Firma von Anfang an bis heute als technischer Berater.

Aufgrund der inzwischen langen Lieferzeiten und hohen Preise von PZO bietet die Firma R. Göke heute zusätzlich eine Serie von Labormikroskopen an, für deren Aufbau Komponenten und Teile aus China, Polen und Deutschland verwendet werden. (Das machen heute übrigens alle Hersteller, auch die „großen“). Aus dem umfangreichen Angebot werden nur solche Bauteile verwendet, die von Gerhard Göke auf Eignung geprüft und getestet wurden. Er montiert und justiert die Geräte auch. Darüber hinaus werden spezielle Mikroskope nach Kundenwunsch zusammengestellt, z. B. für Restauratoren, Dermatologen oder für besondere Untersuchungen in der Industrie. Die **Labormikroskope der Serie LC** sind für Mikroskopiker mit begrenzten finanziellen Mitteln gedacht, z. B. für Hobby-Mikroskopiker, Mediziner und Heilpraktiker oder auch für den Ausbildungsbereich. Hellfeld, Dunkelfeld, Phasenkontrast, Fototuben, Achromate und Planachromate und weiteres Zubehör sind lieferbar, auch gelegentliche Sonderanfertigungen. Preise und Qualität sind sehr attraktiv.

Zu den **chinesischen Bauteilen** eine Anmerkung, die selbstverständlich auch für andere Händler und Hersteller gilt, die sich derselben, schier unerschöpflichen Quellen bedienen. Die Chinesen sind, was industrielle Prozesse sowie die Konstruktion von Feinwerktechnik und die Optikrechnung anbelangt, seit Jahren lernbegierig und inzwischen fachkundig. Für manche etablierten Hersteller in Europa, USA und Japan sind sie mittlerweile eine ernstzunehmende Konkurrenz, denn es gibt bereits (etwa) 90 Fabriken in China, die Mikroskope, Mikroskopbaugruppen und -optik sowie viele Astro-Instrumente herstellen. Staatliche und genossenschaftliche Kontrollstellen achten darauf, daß Qualitätsstandards eingehalten werden und kein Murks exportiert wird. So haben auch die Japaner in den fünfziger und sechziger Jahren in der Fotobranche angefangen, worüber viele hierzulande damals überheblich gelächelt haben.

**Gerhard Göke** ist vielen Mikroskopikern bekannt durch seine fachkundigen Beiträge in 47 Jahrgängen der Mikroskopiker-Fachzeitschrift *Mikrokosmos* und anderen Zeitschriften, sowie als **Autor** der Bücher *Meeresprotozoen* (1963), *Methoden der Mikropaläontologie* (1963) und *Moderne Methoden der Lichtmikroskopie* (1988). Er war von 1985 bis 2001 Vorsitzender der Naturwissenschaftlichen Vereinigung Hagen e. V. und mit Jürgen STAHLSCHEIDT zusammen Veranstalter der 1. bis 9. **Internationalen Mikrosko-**

**pie-Tage in Hagen** (1986 bis 2002). Seine fachkundige Beratung in allen Fragen der Lichtmikroskopie ist bei Professionals und Amateuren stets geschätzt.

### 1.3.5 AskaniA, Rathenow

Ein Newcomer mit Tradition. Die ROW (Rathenower Optische Werke in Rathenow, einer Stadt in Brandenburg, etwa 70 km westlich von Berlin), ehem. Busch, Rathenow, wohl die älteste Optikfabrik auf dem Kontinent, mit mehr als 150 Jahren Tradition im Mikroskopbau, wurden nach der Wende von etwa vier-tausend Mitarbeitern auf wenige hundert reduziert und auf mehrere einzelne Firmen aufgeteilt. Die Firma **Mikroskop Technik Rathenow GmbH** produziert unter der Marke ASKANIA. Große Erfahrung in Optik und Feinwerktechnik. Zur DDR-Zeit stellte ROW etliche Mikroskop-Baureihen und anderes für VEB Zeiss Jena her.

Die neuen „Nach-Wende“-Modelle der Kurs- und Labormikroskope haben ansprechendes und praktisches Design und sind mit allem ausgestattet, was der Amateur so braucht. Viel Zubehör wie Dunkelfeld und Phasenkontrast, Tuben für Fotografie, Fernsehen und Diskussion, gute achromatische und semiplan-achromatische Objektive usw. Auch schöne Stereomikroskope. Ausgezeichnete Qualität und akzeptable Preise. Daneben auch guter Service und engagierte, fachkundige Beratung durch langjährige Mikro-Fachleute.

### 1.3.6 Leica Microsystems, Wetzlar

ehem. Ernst Leitz Wetzlar GmbH; Vertrieb in Bensheim

Was über Mechanik, Optik, Präzision und Finish bei Zeiss gesagt wurde, gilt auch für Leica, besonders was die schönen Leitz-Mikroskope der 60er und 70er Jahre anbelangt. Der **Gebrauchmarkt** ist aber viel enger als für Zeiss-Instrumente. Zudem ist er auch noch gespalten, weil Leitz bis etwa 1980 seine Durchlichtmikroskope mit der Tubuslänge 170 mm gebaut hat. Die Okularabgleichlänge betrug 18 mm unter dem oberen Tubusrand (aber heute auch bei Leica nach DIN 58887 10 mm bei 160 mm Tubuslänge). Die Kondensoraufnahme bei Leitz hatte keine Schiebe- oder Klemmhülse bzw. Ringschwalbe, sondern Schlitten mit Schwalbenschwanzführung. Für Bastler, die einen fremden Kondensator anpassen möchten, ein Hindernis. Außerdem mußte jeder Kondensator mit Zentrierschrauben ausgestattet sein, weil der Kondensorträger infolge der Schwalbenschwanzführung nicht zentrierbar ist.

Der Schwerpunkt liegt heute, wie bei anderen Top-Herstellern auf **Mikroskopen mit Unendlichoptik**.

(Der www-Link funktioniert – abhängig vom Browsermodell – nicht immer.)

### 1.3.7 PZO

(Polnische Optische Werke, Warschau).

Gegründet 1921. Bisher beliebt in Amateurreisen, da die Preise deutlich niedriger lagen als für deutsche und japanische Instrumente. Die feinmechanische und optische Qualität ist im allgemeinen gut, die polnische Feinwerktechnik und Optik hat seit 1950 einen hohen Stand. Zur Beliebtheit der Modellreihe BIOLAR und STUDAR hat auch beigetragen, daß von allen Herstellern im Ostblock allein PZO die mechanischen Anschlußmaße und die optischen Konstruktionsparameter von Carl Zeiss Oberkochen „West“ verwendete, Lomo in Rußland und Meopta in Prag aber die von Zeiss Jena „Ost“. Man kann also wichtige Bauteile, wie Tuben, Objektive und Okulare von PZO am Zeiss Standard verwenden und umgekehrt. Manche PZO-Konstruktionen gelten aus heutiger Sicht als veraltet.

Nach der „Wende“ gerieten viele jahrzehntelang in die Ostblockstaaten gelieferte PZO-Mikroskope in oft beklagenswertem Zustand auf die hiesigen Flohmärkte und Optikbörsen. Da die Firma R. Göke als kleiner Familienbetrieb aber nur die Geräte reparieren kann, die von ihr auch geliefert wurden, blieben die Flohmarkt-Instrumente meist in dem schlechten Zustand und brachten PZO-Mikroskope unverdient in Mißkredit. Der Gebrauchmarkt ist etwas eng und wegen der noch umlaufenden Flohmarkt-Teile nicht ohne Risiko.

Inzwischen sind die PZO-Instrumente beträchtlich teurer geworden, nicht zuletzt wegen des heutigen Euro/Dollar-Kurses, so daß sie für den deutschen Markt in dieser Hinsicht kaum noch interessant sind. Auch wiegen bei den relativ hohen Preisen manche Justage- oder Fertigungsmängel, die bei PZO gelegentlich vorkommen, um so schwerer.

Grundsätzlich sind PZO-Mikroskope auch heute noch durch R. Göke lieferbar. Da die staatliche Exportfirma, die stets großzügig disponiert hatte, nicht mehr existiert, sind die **Lieferzeiten** heute allerdings extrem lang. Zur Zeit (Ende 2001) sind anscheinend nicht zu bekommen: Positiver und negativer Phasenkontrast, Amplitudenkontrast und evtl. auch der Interferenzkontrast. Hergestellt wird augenblicklich aber noch der variable Phasenkontrast nach PLUTA.

Die Firma R. Göke bietet ein von ihr selbst modifiziertes und umgerüstetes Modell **BIOLAR** an.

(Bezug durch Firma R. GÖKE - *Mikroskopie*. Adresse siehe die Homepage der MVM unter Vereinsadressen: Mikroskopische Arbeitsgemeinschaft der Naturwissenschaftlichen Vereinigung Hagen e. V.)

### 1.3.8 Lomo, St. Petersburg (ehem. Leningrad)

Die Instrumente der russischen Firma Lomo erlebten nach der „Wende“ einen Aufschwung, als sie für'n Appel und'n Ei auf den Flohmärkten zu haben waren. Nicht immer schienen die Lieferquellen honorig zu sein, da gab es zum Spottpreis manches optische Schmankerl, für das ein russischer Forscher glatt ein Monatsalär gegeben hätte. Seitdem der deutsche Fachhandel offiziell vom Hersteller importiert, sind die Preise erheblich gestiegen, doch immer noch sehr günstig. Auch die *kleineren* Geräte wie das BIOLAM werden von einigen deutschen Händlern hochtrabend und unzutreffend als „russische Forschungsmikroskope“ angeboten, in Komplettausstattung im Holzschrankchen; auch weiteres Zubehör, wie Apochromate, komplette Phasenkontrasteinrichtungen, Dunkelfeldobjektive mit Irisblende und Fototuben. Wie BORNHARDT im November 2000 in einem Referat auf der *Internationalen Mikroskopie-Tagung* in Hagen näher ausgeführt hat, haben die Objektive ein recht günstiges Preis/Leistungs-Verhältnis, ihre Qualität sei teilweise sehr gut, z. B. bei den Wasserimmersionen EAF 30/0,90 und Apo-Wi 70/1,23 Korr. Bornhardt erwähnt aber auch die auffällige Bildfeldwölbung bei allen Objektiven und daß beim direkten Vergleich mit entsprechenden Zeiss-Objektiven deren bessere Leistung, besonders die Kontrastwiedergabe, doch augenfällig sei. Zudem habe er die durch seine gezeigten Belegfotos dargestellte Leistung der Lomo-Objektive nur an einem Zeiss-Mikroskop mit einwandfrei ausgelegter und justierter Köhler-Beleuchtung erreichen können, nicht aber an einem Lomo-Mikroskop.

**Wer Objektive von Lomo kauft**, neu oder gebraucht, achte unbedingt darauf, daß sie die richtige Abgleichlänge haben. Die ist oftmals unterschiedlich: 45 mm bei den großen Forschungsinstrumenten, 33,5 oder auch 32,3 mm bei den kleineren wie Biolam. Und das sind auch nur Zirkawerte, denn Lomo hält sie oft nicht genau genug ein. Man kann die kurzgebauten Lomo-Objektive nicht mit den 45ern am Revolver mischen, man gefährdet dabei entweder das Präparat oder die langen Objektive. Will man trotzdem mischen, sollte man die kurzen Objektive mit einem Gewindezwischenring von 11,5 bzw. 12,7 mm versehen. Die Parfokalität der schwachen Lomo-Objektive geht dabei verloren: es muß beim Objektivwechsel beträchtlich nachfokussiert werden. Bei den stärkeren Lomo-Objektiven ist dieser Abstimmungsfehler geringer und kann meistens vernachlässigt werden. Dieser wichtige Hinweis stammt von G. Göke. Mehr dazu unter 1.4.5 *Gebrauchte Objektive kaufen*, 2.3.3.8 *Abgleichlänge und Parfokalität* und 2.4.2 *Objektiv-Kompatibilität*.

Die **mechanischen Komponenten** sind zumeist ordentlich gefertigt, doch ist die Qualitätskontrolle so schlampig, daß man regelrechte „Montagsgurken“ erwischen kann. Schlechte Justage, lockere Teile, verschmutzte oder gar verkantet eingesetzte Prismen, zu wenig oder zu stark geschmierte Triebe und Gleitbahnen, verharztes Fett sowie andere mechanische Schwächen müßten eigentlich die Importeure bzw. Händler vor dem Verkauf in Ordnung bringen, tun es aber meist nicht.

Die derzeitigen Lomo-Instrumente stehen konstruktiv auf der Stufe der 40er und 50er Jahre. Man muß manchmal viel Erfahrung und Liebe zu fummeliger Technik aufbringen, z. B. um mit ihnen eine Köhlersche Beleuchtung einwandfrei einzustellen, falls das überhaupt möglich ist; usw. Das ist nicht Jedermanns Sache. Man vertut eventuell viel Zeit mit Justierschrauben und der Jagd nach Zubehör auf den Flohmärkten anstatt zu mikroskopieren. Doch eine Anzahl versierter Hobby-Mikroskopiker ist mit ihrem Lomo-Mikroskop, einschließlich selbst gebasteltem Zubehör, sehr zufrieden und versteht es, die nicht geringen Möglichkeiten, die in ihm stecken, voll auszuschöpfen.

Eine Empfehlung also nur mit gewissen Einschränkungen.

Produkttest und -besprechung: Hendel, R.: *Ein Mikroskop zum Schnäppchenpreis: Das Biolam der russischen Firma Lomo*. In: Mikrokosmos 88 (1999) 225-232.

Verschiedene **Händler**, wie J. Bresser OHG in Borken oder BW-Optik Langner-Voss in Ahaus.

## 1.4 Gebrauchtkauf

### 1.4.1 Messingveteranen und Hufeisen

Messingveteranen sind für Sammler, nicht für Mikroskopiker.

Mikroskope mit Hufeisen-Stativen sollte man nur noch für besondere Zwecke kaufen, zum Beispiel wenn man mit dem Kippgelenk das Präparat senkrecht stellen muß. Neben den guten Stativen von Zeiss in Jena, Leitz, Seibert, Kaps und Wenzel in Wetzlar, Beck und Hertel & Reuss in Kassel, Busch in Rathenow, dem weit verbreiteten und bis in die achtziger Jahre verkauften Modell *Kosmos Humboldt*, gibt es auch solide Stative aus chinesischer Produktion, die noch in den Achtzigern von Versandhäusern wie Quelle und Neckermann verkauft wurden. Die sind auf dem Gebrauchtmart sehr billig und durchaus brauchbar.

### 1.4.2 Bedienungsanleitung

Vergessen Sie beim Kauf eines gebrauchten Mikroskops nicht, den Verkäufer dringlichst zu ersuchen, auch die Bedienungsanleitung herauszurücken. Sollte es ein Kauf aus einem Nachlaß sein, wird sie sich wahrscheinlich nach längerem Suchen oder beim Aufräumen anfinden. Um es dem Verkäufer „moralisch“ schwer zu machen, sie einfach in den Papierkorb zu werfen, hinterlassen Sie bei ihm einen großen, adressierten und frankierten Briefumschlag! Wenn der Hersteller des Instruments noch existiert, schreiben sie dem und bitten Sie um eine Kopie der alten Anleitung. Manche Firmen haben so etwas noch nach vielen Jahrzehnten im Archiv.

### 1.4.3 Technische Prüfung

#### *Frage*

Wie kann ich beim Gebrauchtkauf feststellen, ob ein Mikroskop in Ordnung ist?

#### *Antwort*

Alle beweglichen Teile müssen sich leicht, aber spielfrei bewegen und einstellen lassen.

Bemerkt man an einem älteren Mikroskop Spuren von **Fett**, das aus drehbaren Teilen, Schiebehülsen oder Gleitbahnen austritt, so ist es wahrscheinlich erst kürzlich geschmiert, also für den Verkauf hergerichtet worden. Das kann bedenklich sein, muß aber nicht. Denn auch ein gutes Mikroskop braucht gelegentlich einen Abschmierdienst – so alle 25 Jahre.

Der **Objektivrevolver** soll nicht schwergängig sein, trotzdem sicher und präzise einrasten.

Die **Gleitflächen** am Kondensortrieb und in den Schiebehülsen dürfen keine Korrosion zeigen. Schwalbenschwanzführungen für Kondensoren oder Ringschwalben für Tubusaufsätze sollten keine Schrammen oder Riefen aufweisen.

Nichts darf wackeln! Beim Betätigen von **Einstellknöpfen** jeglicher Art, darf man keine Schleif- oder Kratzgeräusche hören oder loses Spiel bemerken.

Die **Objektive** müssen sich leicht herausschrauben lassen und an den Anschlagflächen trotzdem fest sitzen. Ihre **Frontlinsen** sind mit einer 8- bis 20fachen Lupe auf Kratzer zu untersuchen. (Man kann gut ein umgedrehtes Okular dazu verwenden.) Schmirgelspuren und auch tiefere Kratzer rühren meist von unsachgemäßem Reinigen oder vom Aufschlagen auf Teile des Objektivführers. Solche Objektive liefern in der Regel ein schlechtes Bild und sind nicht mehr zu gebrauchen. Auf den **Hinterlinsen** sollten keine größeren Schmutzpartikel zu sehen sein, auch keine Schlieren von ungeschicktem Reinigen (mit etwa 6facher Lupe prüfen). Besonderes Augenmerk sollte bei der Hinterlinse auf **Pilzwachstum** liegen. Die Hyphen sondern Säure ab, die sich tief ins Glas frißt, das Objektiv ist dann nichts mehr wert. Ebenso bei **Rissen im Balsam**, mit dem die Linsen zusammengekittet sind. Das kommt nicht selten an Instrumenten vor, die jahrelang im Kühlen gestanden haben, z. B. im Keller oder auf dem Dachboden. Auch größere Temperaturschwankungen beim Transport im Winter verursachen oftmals Risse in den Balsamschichten von Objektiven und Okularen. Besonders höher korrigierte Objektive leiden unter solchen Kittfehlern. Wenn das im Bild sichtbar ist, machen sie das Objektiv wertlos. Die Reparatur eines Objektivs ist, wenn überhaupt möglich, so teuer, daß es besser ist, nach einem Ersatzstück auf dem Gebrauchtmart zu suchen. Nicht selten ist die Frontlinse von Immersionsobjektiven mit **angetrocknetem Immersionsöl** oder einer Mischung von Öl und Einschlußbalsam verklebt, und nicht immer läßt sich das gut entfernen.

Wurde ein Objektiv so schlecht gepflegt, ist auch zu befürchten, daß Immersionsöl oder Lösungsmittel wie Xylol den Linsenkitt angegriffen hat. Man sollte solche Objektive nur als „kostenlose Dreingabe“ annehmen.

Bei älteren Objektiven können schon die **Glasoberflächen verwittert** sein, sie sind dann mehr oder weniger trübe geworden: wertlos. Fall oder Stoß können die **Frontlinse dezentriert** haben, das Objektiv müßte dann zur Reparatur, die sich aber nur lohnt, wenn die Frontlinse selbst dabei unbeschädigt geblieben ist. Es ist auch nicht übertrieben, beim Kauf von nagelneuen Unendlichobjektiven auf eine schief sitzende oder gar herausgesprungene Frontlinse zu achten. Besonders bei Objektiven von etwa 50x und 100x ist so wenig Platz für Dichtungskitt zwischen Linse und Tubusinnenwand, daß schon ein leichter Druck beim Putzen oder ein Aufstoßen die Frontlinse „aus der Fassung geraten“ läßt.

Bei den **Okularen** ist die Frontlinse sorgfältig zu prüfen. Besonders wenn das Mikroskop in einem wissenschaftlichen Labor, einer Arztpraxis oder einer Klinik eingesetzt war, achte man auf den Antireflexbelag der Augenlinse. Manchmal ist er von aggressiver Wimperntusche regelrecht zerfressen.

Bei einem **Prismentubus** mit schrägem Okulareinblick sollten die Prismen nicht verstaubt sein. Wird das Mikroskop ohne Okulare angeboten oder sind sie vom Verkäufer aus den Tubusstutzen herausgenommen, muß damit gerechnet werden, daß Staub auf die Tubusprismen oder sogar auf die Hinterlinsen der Objektive gefallen ist. So ein Mikroskop wurde nicht sorgsam und fachkundig behandelt. Es gibt genügend andere.

Die Objektive und Okulare müssen ein klares und farbreines Bild liefern.

#### 1.4.4 Welche Fabrikate gebraucht kaufen?

##### *Frage*

Welche Hersteller und Modelle sind für einen Gebrauchtkauf empfehlenswert?

##### *Antwort*

Beim Gebrauchtkauf ist es günstig, eine Marke zu wählen, dessen Hersteller noch existiert und einen Reparaturservice bietet. Doch reparieren oder warten die Servicewerkstätten der großen Hersteller meist auch fremde Fabrikate. Die meisten Hersteller von Instrumenten mit 170 mm mechanischer Tubuslänge liefern seit etwa 1980 (Umstellung auf DIN 58887; 160 mm Tubuslänge) keine Zubehör- oder Ersatzteile mehr für ihre damaligen Instrumente (Leitz/Leica) oder haben die Herstellung von Mikroskopen ganz eingestellt (z. B. Beck & Söhne, Kassel; Steindorff, Berlin; Meopta, Prag; Reichert, Wien; Wild, Heerbrugg).

Wenn man erwägt, nach der Anschaffung noch später Zubehör zu kaufen, sollte man einen Hersteller und ein Modell wählen, das einen hinreichend großen **Marktanteil** hat(te). Sonst sind auf dem Gebrauchtmarkt keine Zubehörteile zu finden. Unter diesem Gesichtspunkt lohnen sich besonders die Modelle des früheren Typs **Zeiss Standard** (Oberkochen), die von 1950 bis beinahe 1990 gebaut wurden, mit stets denselben Anschlußmaßen. Alle neueren Zubehörteile passen deshalb auch an die ältesten Modelle und umgekehrt. Die mechanische und optische Qualität ist hervorragend. Das Gebrauchtangebot ist zur Zeit noch gut. Der Marktanteil von Zeiss ist besonders in Deutschland stets hoch gewesen.

Auch die Mikroskope von **Ernst Leitz, Wetzlar** (heute Leica Microsystems, Vertrieb in Bensheim) sind von untadeliger Qualität. Ihr Gebrauchtmarkt ist aber viel enger und überdies gespalten: Bis 1980 hatten die Leitz-Instrumente 170 mm Tubuslänge und eine Okularabgleichlänge von 18 mm, danach – infolge DIN 58887 – 160 / 10 mm. Der Gebrauchtmarkt teilt sich seither in zwei Modellreihen und ist deshalb nicht so ergiebig wie der von Zeiss. Von den alten Instrumenten mit 170 mm Tubuslänge sind besonders die stabilen, grauen Modelle Dialux und SM Lux empfehlenswert für den Gebrauchtkauf.

Von hervorragender Qualität sind auch die Instrumente von **VEB Carl Zeiss Jena** (vor der Wende 1990), von **Wild** in Heerbrugg (Schweiz), von **PZO** in Warschau, von **Reichert** in Wien, von **Hertel & Reuss** in Kassel. Bei **Olympus**, Tokyo, sollte man die Prospekte vorher genau studieren und sich kundig machen, dort hat man Modellreihen, einige Anschlußmaße und Abgleichlängen gewechselt; für manche Modelle gibt es überhaupt kein Zubehör mehr, und der Gebrauchtmarkt ist, modellabhängig, vergleichsweise klein oder nicht existent.

Gerade Instrumente, deren Gebrauchtmarkt eng ist, sollte man gebraucht nur komplett kaufen, mit möglichst vielen Zusatzkomponenten, weil die nachträgliche Beschaffung wichtiger Teile schwierig sein kann. Von manchen Fabrikaten werden Zubehörteile so gut wie niemals gebraucht angeboten.

Wer ein **Reise- und Exkursionsmikroskop** sucht, beachte Angebote auf das Modell M11 von Wild Heerbrugg.

Eine Fundgrube sind die **Inserate in der Zeitschrift Mikrokosmos** (Verlag Urban & Fischer, Jena).

Generell ist zu dieser Betrachtung noch anzumerken, daß solche Überlegungen selbstverständlich nicht anstellen muß, wer ein preiswertes Gebrauchtmikroskop sozusagen *à fonds perdu* kaufen möchte, um sich erst später ein größeres Modell zuzulegen.

#### 1.4.5 Gebrauchte Objektive kaufen

##### *Frage*

Sind alte Objektive aus der Zeit um 1960 und früher genauso gut wie neue?

##### *Antwort*

Nicht immer. Mögen im Einzelfall Auflösungsvermögen, Schärfe und Farbkorrektion untadelig sein, die Kontrastwiedergabe, sozusagen die **Brillanz** und die gleichmäßig hohe Durchlässigkeit für alle sichtbaren Farben des Spektrums sind es oft nicht. Seit etwa 1975 haben die großen optischen Firmen einige Anstrengungen unternommen, um die Abbildungseigenschaften der Objektive und auch der Okulare zu verbessern. Die Antireflexschichten, die Farbbrillanz und -sättigung, die Kontrastwiedergabe und die Farbdurchlässigkeit sind gerade auch bei den preiswerten, einfachen achromatischen Systemen ab etwa 1980 deutlich verbessert worden.

**Ältere Planapochromate** enttäuschen oft in der Abbildungsleistung. Das hohe Auflösungsvermögen infolge hoher numerischer Apertur ist zweifellos vorhanden und auch an der Farbkorrektion gibt es nichts auszusetzen. Doch fehlt dem Bild mitunter der rechte **Kontrast**. Das liegt an der großen Anzahl der vom Konstrukteur verwendeten Linsen, mitunter bis zu 13. Da geht viel Licht durch Reflexion an jedem Übergang Luft/Glas verloren, vagabundiert als kontrastminderndes Streulicht im Objektiv und macht das Bild flau. Die einfacheren, weil mit weniger Linsen aufgebauten Fluoritobjektive aus jener Zeit geben oftmals ein deutlich kontrastreicheres Bild.

Die neueren Planapochromate und Planfluoritsysteme der Spitzen-Hersteller seit etwa Beginn der achtziger Jahre haben jedoch diese Schwächen nicht, ihre Abbildungsleistung, Schärfe, Kontrastwiedergabe und Farbreinheit sind überragend.

Neben der optischen Güte spielt beim Gebrauchtkauf auch die **Abgleichlänge** der Objektive eine Rolle. Die Mikroskope mit einer mechanischen Tubuslänge von 170 mm hatten bei den früheren Modellen von Leitz und anderen deutschen Firmen meist eine Abgleichlänge von 37 mm. Das gilt auch für einige Modelle von Wild (Heerbrugg/Schweiz). Bei Meopta war die Tubuslänge ebenfalls 170, aber die Objektivabgleichlänge 36 mm. Bei früheren Modellen von Olympus (Tokyo) betrug die Abgleichlänge ebenfalls etwa 36, die Tubuslänge aber 160 mm. Diese Objektive waren meist für eine Deckglasdicke von 0,18 mm korrigiert. Bei Lomo kommen drei (!) Abgleichlängen vor: 45, 33,5 und 32,3 mm.

Die unterschiedlichen Maße müssen besonders bei stärkeren Objektiven beachtet werden, weil falsche Abgleich- oder Tubuslängen zu erheblichen Qualitätseinbußen im Bild führen können. Mehr darüber im Kapitel 2.4. *Umrüstung von Mikroskopen mit fremden Bauteilen*.

Käufer in **USA** beklagen sich zunehmend über den manchmal erbärmlichen Zustand vieler gebrauchter Objektive der Firmen Leitz/Leica und Zeiss. Es scheint, daß die dortigen Gebrauchthändler sehr rührig darin sind, die besterhaltenen Stücke aufzuspüren, so daß für den Privatmarkt und beim Internet-Auktionator ebay hingegen nur die weniger gut erhaltenen übrigbleiben. Viele Glasflächen von Objektiven, Okularen und Prismen seien tot- und blindgepflegt, nicht selten von berufsmäßigen Serviceleuten mit "zwei linken Daumen". Der Einsatz von Alkohol beim Putzen sei nicht auszurotten, der Linsen Kitt deshalb angegriffen und der Antireflexbelag oft regelrecht mit Linsenputzpapier abgeschmirgelt. Und die Stativteile seien regelmäßig mit falschem Fett geschmiert. (Wie man es richtig macht, steht ausführlich im Kapitel 4.2 *Das Mikroskop richtig pflegen*.)

## 2 Die Technik und Ausstattung des Mikroskops

### 2.1 Mikroskoptypen, Bauformen, Ausstattungsklassen

#### 2.1.1 Das zweistufige Lichtmikroskop

Um welche Art Mikroskop geht es in der Mikrofibel überhaupt?

**Das Lichtmikroskop.** Dazu gehören alle Instrumente mit optischen Glaslinsen, also nicht das Elektronenmikroskop, bei dem die Linsen durch elektrische Magnetfelder ersetzt sind. Als sinnvolle maximale Gesamtvergrößerung gilt beim Lichtmikroskop das 1000fache der numerischen Apertur (n. A.) eines Ölimmersionobjektivs 90 oder 100:1 für das betreffende Mikroskop. Dessen n. A. liegt in der Regel bei 1,25 bis 1,30 (bei besonders hochwertig korrigierten Objektiven zwischen 1,32 und 1,40), die maximale Vergrößerung also bei 1.000- bis 1.250fach (bzw. bis zu 1.400fach). Das ist bei einem Objektiv 100:1 mit einem Okular 10 x bis 12,5 x erreichbar. Diese Regeln gelten für einfache, preiswerte Mikroskope wie auch für Forschungsinstrumente für mehr als 20.000 Euro.

**Das zweistufige Lichtmikroskop** (oder „das zusammengesetzte“) erzielt seine **Gesamtvergrößerung** durch Objektiv + Okular, beider Eigenvergrößerungen werden miteinander multipliziert. Die Gesamtvergrößerung ist eine lineare Vergrößerung. Hat der Binokulartubus ein zusätzlich vergrößerndes System, so ist auf ihm in der Regel ein Tubusfaktor angegeben, mit dem zusätzlich multipliziert werden muß. Beispiel:

Objektiv 20:1, Okular 10x, Tubusfaktor 1,25.  $20 \times 10 \times 1,25 = 250$ fache Endvergrößerung.

**Abbildungsmaßstab und Vergrößerung sind nicht dasselbe.** Im wissenschaftlichen Schrifttum wird zwischen Abbildungsmaßstab und Vergrößerung unterschieden. Ein herkömmliches **Objektiv** "vergrößert" nicht, z. B. 40 mal. Sondern es liefert ein *Zwischenbild* im Abbildungsmaßstab 40:1. Das ist ein *reelles* Bild, und zwar in der Zwischenbildebene (nach DIN 58887 10 mm unterhalb des oberen Tubusrandes), das man dort auf einem Schirm auffangen und abmessen kann. Wie groß es im Verhältnis zum Objekt ist, z. B. 10:1, wird als Abbildungsmaßstab bezeichnet. Wenn es dort 18 mm Durchmesser hat, können wir ausrechnen, daß das Objekt bei Verwendung eines Objektivs mit der Maßstabszahl 10:1 eine Größe von 1,8 mm hat, bei einem Objektiv 100:1 ist das Objekt 0,18 mm groß.

Beim **Okular** können wir keinen Abbildungsmaßstab angeben, weil es kein *reelles* Bild in endlicher Entfernung erzeugt, sondern ein *virtuelles* im Unendlichen. Es ist nicht auf einem Schirm auffangbar, und wir können es deshalb nicht mit einem Maßstab abmessen. Es muß erst von unserer Augenlinse auf die Netzhaut projiziert werden, dort entsteht dann das reelle Bild. Um eine sinnvolle Angabe über die Vergrößerung des Okulars machen zu können, gibt man deshalb an, wieviel mal größer wir das Zwischenbild im Okular sehen, als wenn wir es ohne Okular aus 25 cm Abstand betrachten würden. Diese 25 cm sind eine willkürliche, vereinbarte Entfernung, die in aller Welt als „konventionelle Sehweite“ definiert ist. Ob ein Beobachter weitsichtig ist und auf diese kurze Entfernung gar nicht scharf sehen kann, spielt dabei keine Rolle, denn es handelt sich nur um eine vereinbarte Rechengröße. Auf dem Okular lautet die Gravur beispielsweise 8x oder 12,5x.

Moderne **Unendlichobjektive** entwerfen ebenfalls ein virtuelles Bild im Unendlichen, daher gibt man auch bei ihnen keinen Abbildungsmaßstab an. Sie sind deshalb meist wie Okulare graviert, z. B. 25x oder 63x. Daran erkennt man, daß es sich um ein Unendlichobjektiv handelt. Weil das Okular aber unbedingt ein reelles Zwischenbild benötigt, befindet sich ein einiger Entfernung oberhalb des Unendlichobjektivs eine sogenannte **Tubuslinse**. Sie führt die vom Objektiv kommenden Lichtstrahlen in einer Zwischenbildebene zusammen.

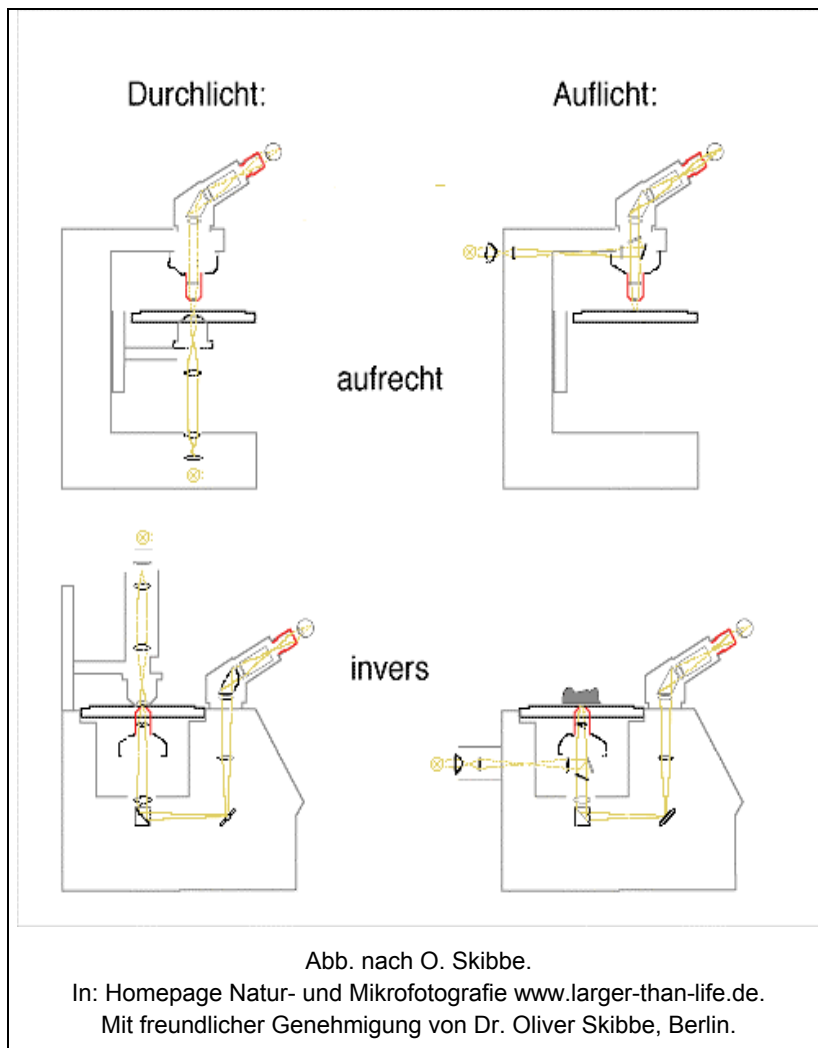
(Das *einstufige* Mikroskop hat nur ein einziges Linsensystem, das Objektiv. Es ist nicht mehr als eine hochwertige Lupe oder ein Objektiv an einem Stativ. In der mikroskopischen Fachliteratur wird die Makro- oder Lupenfotografie, die mit Kamera, Balgengerät und dem Objektiv daran betrieben wird, zur Mikrofotografie gezählt, und zwar als „Mikrofotografie mit dem einfachen Mikroskop“.)

**Durchlicht** ist die richtige Beleuchtungsmethode für biologische Objekte. Für die Metallurgie und Mineralogie braucht man kein Durchlicht-, sondern ein **Auflichtmikroskop**.

**Hellfeld** ist die normale Beleuchtungsart, geeignet für die meisten Objekte. Das Objekt absorbiert einen Teil des Lichts und erscheint deshalb dunkler als der Hintergrund. Das Umfeld des Objekts, das Gesichtsfeld, das man im Okular sieht, ist dabei der hellste Teil des Bildes. Daher die Bezeichnung Hellfeld (engl. Brightfield). Die Abbildung ist hierbei nicht verfremdet. Wir kennen diese Art der optischen



(engl. Brightfield). Die Abbildung ist hierbei nicht verfremdet. Wir kennen diese Art der optischen Abbildung von der Diaprojektion. Die Hellfeldmikroskopie ist die häufigste Form der Lichtmikroskopie. Sie lässt sich nur bei transparenten Objekten anwenden, die vom Licht durchstrahlt werden können. Beinahe jedes denkbare Objekt lässt sich so dünn schneiden oder schleifen, daß es transparent genug ist.



#### Aufrechte Bauform

ist für ein **Durchlicht**-Hellfeldmikroskop normal: Von unten durchstrahlt die (elektrische) Beleuchtung das Präparat, und von oben schaut man es durch Okular und Objektiv an.

Beim **Auflicht**mikroskop wird die Beleuchtung oberhalb des Objektivs von der Seite eingespiegelt und beleuchtet das Präparat durch das Objektiv von oben. Das Präparat reflektiert das Licht, das nun auf dem selbem Weg zurück, aber dieses Mal in das Okular geleitet wird.

**Inverses Mikroskop** nennt man ein Durchlichtmikroskop von *umgekehrter* Bauform: Das Objekt wird von oben her durchleuchtet, die Objektive sind unter dem Objektisch angebracht. Diese Bauform findet man bei Planktonmikroskopen (nach Utermöhl). Auch Auflichtmikroskope in der Mineralogie und Metallurgie haben eine ähnliche Bauform (nach Le Chatelier).

In der Mikrofibel geht es um das **Durchlichtmikroskop normaler, aufrechter Bauform**, auch „biologisches Mikroskop“ genannt.

Mit einem **Durchlicht-Hellfeldmikroskop** lassen sich auch andere Beleuchtungsarten wie **Dunkelfeld**, **schiefe Beleuchtung** und **Polarisation** auf z. T. einfache Weise realisieren.

**Phasenkontrast** ist nur mit speziellen Phasenkontrastobjektiven möglich. **Fluoreszenz-** und **Interferenzkontrastbeleuchtung** sind ebenfalls im Durchlicht anwendbar.

#### Frage

Ich interessiere mich für die Beobachtung von Plankton bzw. Organismen im Wasser. Soll ich mir deshalb ein umgekehrtes Mikroskop, ein sogenanntes **Planktonmikroskop** anschaffen?

#### Antwort

Nein. Das braucht man nur in der wissenschaftlichen Forschung oder in der angewandten Wissenschaft, z. B. in Wasserwirtschaftsämtern, wo Auswertungen bei der biologischen Wasseranalyse gemacht werden müssen, unter anderem bei der Bestimmung und Auszählung in Plankton- oder Sedimentationskammern, das sind große Behältnisse, die man direkt auf den Objektisch des Mikroskops stellt und von unten durch den gläsernen Boden durchmustert. Oder wenn man bestimmte Wachstumsuntersuchungen, z. B. von Pilzhyphen oder Zellkulturen machen möchte. Diese beiden Beispiele gehören aber eher in die biologische Berufswelt. Ein umgekehrtes Planktonmikroskop ist ziemlich teuer, weil es nur in geringen Stückzahlen produziert wird.

Ein Mikroskop normaler Bauart kostet bei weitem nicht so viel und ist für fast alle Belange des Liebhaber-mikroskopikers, aber auch im Labor und in den meisten Forschungsbereichen universell verwendbar, selbstverständlich auch für die Beobachtung von Wasserorganismen.

### 2.1.2 Ausstattungsklassen

Das **Kursmikroskop** ist die unterste Ausstattungsklasse. Es steht meist für Studenten der Biologie und Medizin in den Kurssälen der Universitäten. Es ist sparsam ausgestattet und von robustem Aufbau. Seine Ausbaufähigkeit ist begrenzt und meist nur gegeben, wenn es sich um ein Modell einer größeren Baureihe handelt, an das deren Zubehörteile passen. Doch das ist bei den Herstellern unterschiedlich.

Das **Labormikroskop**, auch Arbeitsmikroskop genannt, für Ärzte, klinische Laboratorien oder Spezialanwendungen (z. B. Brauereimikroskop) kann entweder ein Allroundinstrument oder für Spezialzwecke ausgestattet sein, wie z. B. ein Phasenkontrastmikroskop für den Urologen. Für einfachere Aufgaben im ärztlichen Labor eignen sich auch Kursmikroskope. Labormikroskope sind oftmals einfacher ausgestattete Modelle einer Baureihe, in der auch Forschungsmikroskope angeboten werden, so daß manche von deren Zubehörteilen auch an das Labormikroskop passen. Das ist im allgemeinen bei Phasenkontrasteinrichtungen der Fall, weil diese oft in der praktischen Medizin gebraucht werden.

Als **Forschungsmikroskope** bezeichnet man im allgemeinen solche, bei denen alles, was man anfassen kann, gegen andere Bauteile auswechselbar ist. Tuben, Präparatetische verschiedenster Art, Tischträger, Objektivrevolver, Lampengehäuse und Beleuchtungsart (Durchlicht, Auflicht), Kondensoren. Alle Aufnahmeeinrichtungen für die Module müssen präzise, stabil und justierbar, mindestens zentrierbar sein. Das treibt die Kosten hoch. Ab 1973 gab es sogar ein Modell von Carl Zeiss (Oberkochen), das Axiomat, das von der Form her rotationssymmetrisch aufgebaut ist. Es ähnelt einem großen Quader, dessen einzelne Funktionsbausteine in Schichten wie Schachteln aufeinander liegen. Die einzelnen „Schachteln“ lassen sich untereinander vertauschen, auch umdrehen, so daß man beispielsweise aus einem aufrechten Durchlicht-Hellfeldmikroskop sogar ein umgekehrtes Auflicht-Interferenzkontrastmikroskop machen kann. Unendlichoptik. Automatisch gesteuerte Klein- und Großbildkameras sind eingebaut und weitere ansetzbar. Der Aufbau ist extrem stabil. Der Preis für eine universelle Ausstattung war so, daß es Amateure meist doch vorgezogen haben, statt dessen lieber ein Eigenheim zu erwerben.

Vielfach wird die Universalität großer Instrumente in der Forschung nicht genutzt, am ehesten noch, wenn solch ein Gerät öfter zwischen verschiedenen Forschungslabors mit unterschiedlichen Aufgabenstellungen ausgetauscht wird.

Doch auch bescheidenere Instrumente, wie Labor- oder Kursmikroskope, werden bei guter optischer und mechanischer Qualität in der Forschung für viele Aufgaben verwendet.

### 2.1.3 Exkursions- und Reisemikroskope

Dieses Kapitel können wir kurz fassen, denn das Angebot ist nicht groß.

Das **Wild M 11**, das 1980 aus dem Programm genommen wurde, als Wild in Heerbrugg und Leitz/Leica in Wetzlar zusammengingen, ist ein vollwertiges Forschungsmikroskop, das mit vielen Zusatzeinrichtungen ausgestattet werden konnte. Als Reisemikroskop eignet es sich wegen seiner ungewöhnlich stabilen stählernen Haube. Als Exkursionsmikroskop kann man es wegen seines erheblichen Gewichts nicht verwenden, es sei denn, die Exkursion findet mit dem Kfz statt. Gelegentlich taucht ein schönes Exemplar auf dem Gebrauchtmart auf.

**Hensoldt Tami** und **Protami**. Erstklassige Wetzlarer Qualität (die Hensoldt AG ist seit 1928 ein Betrieb der Carl-Zeiss-Stiftung). Das Instrument wird aber seit knapp 50 Jahren nicht mehr hergestellt. Auf dem Gebrauchtmart nicht nur bei Mikroskopikern, sondern leider auch bei Sammlern sehr begehrt, gute Stücke unter 200 Euro sind selten. Sehr klein, mit stabiler Metallhaube zum Aufschrauben; Protami mit 3 Objektiven am Revolver bis 100/1,30; das schwächste Objektiv ist ein Doppelobjektiv, seine Frontliniensfassung läßt sich abziehen, so daß man eine zusätzlich schwache Vergrößerung erhält. Gewicht 1 kg. Wegen der Kleinheit aller Teile mitunter etwas „nervig“ zu handhaben. Wenn es aber auf geringes Gewicht und kleinstes Volumen ankommt, unschlagbar.

Das **Meopta AZ 1** wird noch angeboten. Es kostet unter 100 Euro, hat ebenfalls eine Metallhaube und ist aus Leichtmetall gebaut, paßt mühelos auch in einen kleinen Rucksack. Die Qualität der fest eingebauten Kleinobjektive liegt erheblich über der von Kleinmikroskopen aus dem Warenhaus, kommt aber an die des Protami nicht heran. Damit kann man unterwegs schon einiges anfangen.

Das Kleinmikroskop **Askania KMC** hat ebenfalls eine gute optische Leistung. 2 Objektive, mit denen sich Vergrößerungen zwischen 50- und 225fach erzielen lassen. Kleine Abmessungen, geringes Gewicht: Nur 0,5 kg.

**Swift Exkursionsmikroskop**, von Händlern auch unter der Bezeichnung J51 oder M51 vertrieben. Umgekehrte Bauart. Es läßt sich auf ein Fotostativ schrauben. Das ist von der Qualität her bereits ein „echtes Mikroskop“, auch wenn es nicht mehr Platz in der Fototasche braucht als eine Spiegelreflexkamera. Die ist übrigens ansetzbar. Große Auswahl an Objektiven und weiterem Zubehör. Phasenkontrasteinrichtung erhältlich. Preis für Grundausstattung deutlich über 600 Euro.

Literatur: Hoffmann, P.: Ein Mikroskop für Untersuchungen im Feld. In: Mikrokosmos 70 (1981) 336-340. Saake, E.: Das Swift-Exkursionsmikroskop, ein vielseitig einsetzbares Gerät für die Mikrofotografie. In: Mikrokosmos 75 (1986) 87-92.

**McArthur Miniaturmikroskop**. Umgekehrte Bauart. Vom Volumen noch unscheinbarer als das Swift, ist das McArthur aber doch schon ein professionelles Kleinstmikroskop. Mechanische und optische Qualität sind vom allerfeinsten und stehen normalen Forschungsinstrumenten in nichts nach. Das Zubehör umfaßt verschiedene Kondensoren, Dunkelfeldkondensator, Phasenkontrastobjektive (permanent fokussiert und zentriert), einfache Polarisierungseinrichtung, Gleittische, Sektionstisch mit Objektiven für das Sezieren von Insekten und Moskitolarven, Blutzählkammern mit Zählnetz im Okular usw. Das alles kann man in einer Hand halten! Selbstverständlich ist auch eine Spiegelreflexkamera ansetzbar. Für eine durchschnittliche Ausrüstung reicht ein Tausender nicht – Euro versteht sich.

Literatur: Paschen, P.: Das McArthur-Miniaturmikroskop, ein praktisches Exkursionsmikroskop. In: Mikrokosmos 74 (1985) 91-94.

### 2.1.4 Das Stereomikroskop oder die Binokularlupe

#### *Frage*

Kann ich mit einem binokularen Mikroskop, d. h. einem normalen Mikroskop mit zwei Okularen, wie mit einem Feldstecher sehen? Ist das Bild plastisch, dreidimensional, echt stereo?

#### *Antwort*

Nein. Ein binokularer Mikroskopeinblick liefert bei einem Mikroskop kein Stereobild. Es handelt sich nur um einen Binokulareinblick. Vom Objektiv kommt ein einziger Strahlengang, der im Binokulartubus durch Prismen in zwei Strahlengänge aufgeteilt und in beide Okulare gelenkt wird. Das dient nur der Bequemlichkeit, weil man mit beiden Augen sehen kann, ohne eines mühsam zukneifen oder „abschalten“ zu müssen, doch entsteht kein dreidimensionales Bild, weil nur ein einziges Objektiv verwendet wird.

Anders ist das bei Stereomikroskopen, die man auch Binokularlupen nennt. Dort projizieren zwei Objektive mit zwei unterschiedlichen Strahlengängen zwei leicht unterschiedliche Bilder in die Okulare, wie bei einem Prismenfeldstecher. Oder ein Objektiv mit großem Durchmesser liefert die beiden Strahlengänge für die beiden Okulare. Das ergibt ein plastisches, stereoskopisches Bild. Preiswerte Stereomikroskope haben eine Gesamtvergrößerung von etwa 6- bis 60fach. Mit einem brennweitenverkürzenden Vorsatzchromaten läßt sich die Gesamtvergrößerung verdoppeln, vorausgesetzt, der Hersteller bietet einen an. Insgesamt kann auf diese Weise dann eine Gesamtvergrößerung von 100- oder gar 200fach erzielt werden. Höher als etwa 120fach ist aber nicht üblich oder zweckmäßig. Warum?

1. Für starke Vergrößerungen bei hoher Auflösung bräuchte man hohe Aperturen; das ist aber mit Objektiven langer Brennweite, die den wünschenswert großen Arbeitsabstand ergeben, nicht möglich;
2. Weil sich die mechanischen Fassungsteile für zwei Objektive bei stärkerer Annäherung an das Objekt, also mit kurzen Brennweiten, gegenseitig in die Quere kämen.
3. Außerdem ist bei Vergrößerungen ab etwa 120 x der Stereoeffekt nicht mehr so ausgeprägt, der typische Vorteil des Stereomikroskops geht verloren, der zusätzliche Erkenntniswert der stereoskopischen Abbildung ist dann nur noch gering.

Das Bild des Stereomikroskops ist – im Gegensatz zum echten Mikroskop – aufrechtstehend und seitenrichtig. Deshalb wird es gerne als komfortable „Präparierlupe“ verwendet, weil das Hantieren am Objekt wesentlich leichter fällt, wenn es sich im Okular in derselben Richtung bewegt, in die es die Hand bewegt.

## 2.2 Die mechanischen Teile des Mikroskops

### 2.2.1 Das Stativ

(mit Fuß, Triebkasten, Fokussiertrieben, Tragarm für den Tubus und dem Objektivrevolver)

Daß ein Mikroskop stabil stehen und haltbar konstruiert sein soll, ist selbstverständlich. Weil es aber keine meßbare Definition dafür gibt, gehen wir darauf nicht näher ein. Stabil bedeutet sicherlich nicht dasselbe für jedermann, offenbar auch nicht für jeden Hersteller. Ein stabiles Mikroskop muß auch auf einem stabilen, nicht wackelnden Tisch stehen. „Planktonfreunde“, die Wasserpräparate auf dem Objektisch haben, sollten auf die sogenannten **Gummifüße** achten, mit denen die Instrumente ausgestattet sind. Manche sind so weich und flexibel, daß das ganze Mikroskop kaum jemals ruhig steht und aus dem Schwingen und Vibrieren nicht herauskommt. Im Präparat entstehen dabei ständig Strömungen, besonders wenn man mit schwachen Objektiven ohne Deckglas beobachtet. Die „Gummifüße“ verursachen, da heutzutage meist aus Kunststoff, durch ihre chemischen Ausdünstungen mitunter nicht mehr entfernbare Flecken auf Möbeln. Es kann besser sein, solche schwabbeligen Gummifüße rigoros zu entfernen, notfalls einfach abzuschneiden und die Flächen glatt zu rubbeln. Als Ersatz empfehlen sich passend zurechtgeschnittene Stücke eines Bierdeckels. Darauf läßt sich auch ein schweres Mikroskop auf einem glatten Tisch mühelos hin und her schieben.

In modernen Mikroskopstativen ist meist die **Beleuchtung** eingebaut. Bei einigen Fabrikaten ist sie so hermetisch abgedichtet, daß kein kühlender Luftaustausch stattfindet und manche Stellen des Stativs sich stark erwärmen. Unter Umständen verändert sich dadurch die Konsistenz des Schmierfetts in den Fokussiertrieben so ungünstig, daß die Triebe „kleben“ und ruckartig laufen. Ein kapitaler Konstruktionsfehler, den man leider bei einem oberflächlichen Test nicht bemerkt, sondern erst nach Gebrauch von einigen Stunden, wenn die Teile so richtig warm geworden sind.

Neuerdings ist auch von einem der namhaftesten Hersteller ein Modell herausgebracht worden, dessen im Fuß eingebaute Beleuchtung so große Hitze nach unten abstrahlt, daß Labor- und andere Möbel davon Brandflecken bekommen. Der Hersteller liefert aber eine Abdeckplatte nach, wenn man reklamiert.

Gerade solche Mängel legen es nahe, ein Mikroskop, vor dem man einen Teil seines Lebens zuzubringen beabsichtigt, vor dem Kauf intensiv auszuprobieren, und zwar mehrere Stunden, und auf 14 Tage Rückgaberecht, einschließlich Rücktrittsrecht vom Kauf mit Geld-zurück-Garantie, zu bestehen.

### 2.2.2 Die Fokussiertriebe

Der oder die Fokussiertriebe sollten auf den Objektisch wirken, ihn heben und senken. Triebe, die auf den Tragarm mit den Objektiven wirken, sind eigentlich ein Anachronismus bei normalen Labormikroskopen und nur noch in Sonderfällen akzeptabel, z. B. wenn in der Zellforschung mit Mikromanipulatoren gearbeitet wird und der Tisch bei von außen angesetzten Manipulierelementen nicht höhenverstellt werden darf.

Für die **Mikrofotografie** ist ein höhenverstellbarer Tragarm ungünstig, weil das Gewicht der Kamera dann auf dem empfindlichen Triebmechanismus lastet und ihn „ausleiern“ kann, so daß das Kameragewicht den Tragarm hinunter drückt – oft die Ursache unscharfer Aufnahmen.

Schul- oder Kursmikroskope haben mitunter nur einen einzigen sogenannten **Kombinationstrieb**, der für die Objekte, die man im Biologieunterricht anschaut, nicht nachteilig ist. Grob- und Feintrieb werden da mit einunddemselben Triebknopf eingestellt. Dreht man den Triebknopf, wirkt zunächst der Feintrieb, bis nach einer viertel Umdrehung der Grobtrieb einsetzt. (Es gibt auch andere Konstruktionen, z. B. Drehen des Knopfes: Grobtrieb, Schwenken: Feintrieb – oder umgekehrt.) Für die üblichen biologischen oder medizinischen Präparate kann man diese Art Fokussiertrieb als praktisch empfinden. Für die Verfolgung von schnellbeweglichen Organismen im Wassertropfen ist er aber hinderlich. Da sollten Grob- und Feintrieb getrennt, aber ihre Einstellknöpfe auf einer einzigen Triebachse (koaxial) angeordnet sein.

Beim Vergleich verschiedener Mikroskope achte man besonders darauf, wie gut einem die **Fokussiertriebknöpfe** in der Hand liegen. Das ist wichtig, weil eine Hand beim Mikroskopieren ständig auf den Einstellknöpfen liegt und sie bewegt. Wenn da Unterschiede feststellbar sind, ist das ein wichtiger Gesichtspunkt für die Auswahlentscheidung. Die besten Triebknöpfe haben seit altersher eine zylindrische oder leicht konische Form mit hautsympathischer Rändelung, die eine feinfühligere Verstellung des Feintriebes ermöglicht. Diese Feinfühligkeit ist wichtig, die Rändelung darf nicht zu grob und das Rändel nicht

unterbrochen sein, weil die Feineinstellung sonst holprig vonstatten geht. Feine Rändel von trapezförmigem Querschnitt sind am besten, vermitteln den griffigsten und feinfühligsten Hautkontakt. Problematisch können glatte Triebknöpfe aus Kunststoff sein, die Finger rutschen an ihnen allzu leicht ab. Ungünstig sind Knöpfe mit Gummi- oder Plastiküberzügen, die Finger können darauf nicht gleiten. Bei jeder kleinsten, unbeabsichtigten Berührung mit dem Finger, dem Handrücken oder dem Arm „klebt“ der Gummi an der Haut und – schwupps – ist das Objekt „out of focus“. Eine ungeschickte Lösung.

Die Position der Triebknöpfe sowie auch derjenigen für den Kreuztisch ist nicht unwichtig. Sie bestimmt, ob die Unterarme beim Mikroskopieren mit dem Knochen mehr oder weniger schmerzhaft auf der Tischkante liegen oder flach auf dem Tisch. Wer länger mikroskopiert, wird hier eine gewisse Ergonomie schätzen. Das Ergonomie-Gedöns, das manche Hersteller allerdings um einen halben Zentimeter höher oder näher machen, ist jedoch stark übertrieben. Es trifft ja nicht zu, daß man stundenlang in derselben Position vor dem Mikroskop sitzt. Man beugt sich oft zur Seite, um im Bestimmungsbuch zu blättern oder etwas zu notieren und zu skizzieren, schlägt die Beine übereinander, greift zur Kamera oder zur Wasserflasche, zur Präpariernadel, geht zum Bücherschrank usw..

Wer mit Objektiven über 25:1 mikroskopiert, kann einen **Feintrieb** gut brauchen, ab 40:1 geht es nicht mehr ohne.

Einige Hersteller statten ihre Stative mit einer sogenannten **Grobtriebbremse** aus, mit der man die (Leicht-)Gängigkeit des Triebs selbst regulieren kann. Diese Einrichtung war vor vielen Jahrzehnten sinnvoll, als die Triebe auf den schweren Tubusträger wirkten, der durch sein eigenes Gewicht im Lauf der Zeit Abrieb und Spiel des Zahntriebs oder der Gleitflächen verursachte und dann mit der Grobtriebbremse wieder festgezogen werden konnte. Dieses Ausstattungsmerkmal, das die Herstellung verteuert, ist bei reinen Durchlichtmikroskopen heute überflüssig, weil die Triebe auf den leichten Tisch wirken. Noch immer sinnvoll ist die Grobtriebbremse mit Nachstellmöglichkeit jedoch bei einem Systemmikroskop, das zu einem Auflichtmikroskop umgebaut werden kann – mit schwerem Tisch oder mit schweren Metallpräparaten darauf. In so einem Fall wird der Tischtrieb ungleich stärker belastet als mit einem üblichen biologischen Präparat und muß schon gelegentlich nachgezogen werden können.

Bei einfacheren Kurs- oder Labormikroskopen genügt es auch, wenn der Tischtrieb einen in der Fabrik ein für allemal justierten oberen **Anschlag** hat, so daß das längste Objektiv (meist eine Ölimmersion 100:1) nicht auf die Tischfläche und das 10er Objektiv nicht auf den Objektträger aufstoßen kann. Ein variabler Anschlag, mit dem man verschiedene Tischhöhen-Anschläge selbst einstellen kann, ist überflüssig. Man muß trotzdem immer darauf achten, daß die Frontlinse eines stärkeren Objektivs nicht auf die auf der Tischfläche aufliegende Präparateklammer oder Kreuzführung stößt. Man sollte sich zur Gewohnheit machen, diese Metallteile aus der Gefahrenzone zu bringen, sobald man die Triebknöpfe oder gar den Objektivrevolver anfaßt.

In der Höhe verstellbare Anschläge sind ebenfalls nur bei Systemmikroskopen sinnvoll, die z. B. von Durch- auf Auflichtbeleuchtung umgestellt werden können, wodurch sich die Tubuslänge ändert, oder bei denen verschiedene Objektivreihen unterschiedliche Abgleichlängen haben, oder mit denen man Präparateserien unterschiedlicher Dicke untersucht. Oder auch wenn wahlweise Objektive mit großem Arbeitsabstand eingesetzt werden sollen.

### 2.2.3 Der Objektisch

Man beachte die Größe des Objektisches bei einem Forschungs- oder Laborinstrument von Zeiss, Leica oder Olympus. Viel kleiner sollte ein Objektisch nicht sein, weil man mitunter mehrere Mikropräparate zum Vergleich darauf liegen hat, oder mit Nadel, Pipette und Pinzette am Präparat hantiert und die Hände am oder auf dem Tisch (leicht) abstützen können muß. Dafür muß Platz sein.

Der Tisch sollte sich um mindestens 15 mm in der Höhe verstellen, d. h. absenken lassen, besser noch erheblich weiter, damit man auch einmal eine Petrischale darunter schieben kann.

Man sollte meinen, es sei eine Selbstverständlichkeit, daß ein Objektisch stabil befestigt ist und absolut waagrecht liegt. Mehr als hundert Jahre war das auch so, aber für die neueste Kreation eines sehr namhaften Herstellers gilt das offensichtlich nicht mehr. Für Freunde der „Wassertropfenmikroskopie“ ist solch ein Mangel wesentlich, denn wenn der Tisch nicht absolut waagrecht liegt, entstehen Strömungen im Präparat, welche die Mikroorganismen langsam aber sicher aus dem Bildfeld spülen und am Deckglasrand anhäufen. Einige Binokulartuben mit Einblickneigung von 45 Grad sind so hoch gebaut, daß es schon Personen mittlerer Größe schwerfällt, in die Okulare zu schauen, ohne auf dicken Telefonbüchern zu sitzen. Der Hersteller eines solchen Mikroskops liefert auf Wunsch eine preiswerte Neigeplatte, die

unter den Mikroskopfuß gesetzt wird, d. h. das ganze Mikroskop wird nach vorne gekippt. Es sollte klar sein, daß eine solche Lösung für Lebendpräparate in Wasser völlig unbrauchbar ist. Da werden nicht nur die Organismen an den Rand, sondern sofort samt Deckglas vom Objektträger gespült. Auch für alle Mikroskopiker, die Schnitte färben und diesen Prozeß unter dem Mikroskop kontrollieren, oder die bereits eingedeckte, aber noch nicht ausgehärtete Präparate begutachten müssen, ist ein solches Mikroskop unbrauchbar. Es eignet sich höchstens für das Studium gekaufter Präparate oder als Kursmikroskop, mit dem man an der Universität im Anatomiekursus fertig ausgegebene Präparate anschaut – wobei allerdings fraglich ist, welche Universität für kleinwüchsige Studenten massenweise teure Neigeplatten spendiert.

Bei Objektiven ab 25 bis 40:1 braucht man einen **Kreuztisch** oder einen ansetzbaren **Objektführer** mit Zahnstangen und Trieben in beiden Richtungen. Bei dieser Vergrößerung kann man den Objektträger mit der Hand nicht mehr zielgenau verschieben. Will man ein Präparat systematisch absuchen, ist ein Objektführer unverzichtbar. Ebenso, wenn man lebende, bewegliche Organismen im Wasserpräparat verfolgt. In diesem Fall muß der Tischtrieb für die x- und y-Bewegung koaxial angeordnete Triebknöpfe haben, weil man sonst durch das ständige Umgreifen von einem Triebknopf zum anderen zu langsam ist und das Präparat nicht schnell genug verschieben kann, um die kleinen „Flitzer“ zu verfolgen. Das mit der Hand, also ohne Objektführer zu bewerkstelligen, ist ganz unmöglich.

Statt mit einem Kreuztisch kann ein Mikroskop auch mit einem **Gleittisch** ausgestattet sein. Der ist für die Mikrofotografie ideal, weil er auch gedreht und ein passender Bildausschnitt festgelegt werden kann. Gleittische sind sehr teuer und bedürfen regelmäßiger Pflege (Reinigung mit „Fettwechsel“). Ob ein Gleittisch auch für die Verfolgung von schnellbeweglichen Mikroorganismen gut geeignet ist, muß jeder mit sich selbst abmachen. Das Mikroskop liefert ja ein seitenverkehrtes und auf dem Kopf stehendes Bild. Wie man die Triebknöpfe zum Verschieben des Tisches drehen muß, lernt man rasch. Aber den Gleittisch instinktiv in die entgegengesetzte Bewegungsrichtung zu schieben, und das auch noch diagonal, ohne lange zu überlegen, scheitert meist. Wer jemals schnelle Schnappschüsse mit einer Spiegelreflexkamera mit Lichtschachtsucher (seitenverkehrtes Bild) versucht hat, weiß wovon die Rede ist.

Für die quantitative **Polarisationsmikroskopie** benötigt man einen runden, dreh- und zentrierbaren Objektisch. Solche Tische gibt es in verschiedenen Ausführungen und Preislagen. Je nach Ausstattung und Verwendungszweck können sie das Mehrfache eines kompletten Kursmikroskops kosten.

Muß man ohne Kreuztisch arbeiten, ist es besser, das Präparat nur mit einer der beiden **Objektklemmen** des Objektisches festzuklemmen und die andere zu entfernen. Dann kann man den Objektträger am freien Ende besser zwischen Daumen und Zeigefinger an den Ecken fassen und feinfühlig schieben oder schwenken. Wenn man keinen Objektführer hat und die Klemmen benützt, sollte man nur **feinbekantete Objektträger** verwenden. Die einfach geschnittenen haben meist so scharfe Kanten, daß sie, durch die Objektträgerklemmen auf den Tisch gepreßt, auf diesem „hobeln“, so daß ein feiner Abrieb von Farbe, Metall oder Kunststoff entsteht und nur allzu leicht in den Triebmechanismus gerät, wo er aus dem nur dünnen Fettfilm im Laufe der Jahrzehnte, aber manchmal auch weniger Jahre, eine schwergängige Klebeschmiere macht. Vorbeugen ist auch hier billiger als eine Servicestunde.

#### 2.2.4 Der Objektivrevolver

Ist der Objektivrevolver nicht mittels Schwalbenschwanzführung austauschbar, so wird man immer zu wenige Objektivgewinde im Revolver haben. Wenn der Hersteller die Wahl zuläßt, wähle man wenigstens einen vierfachen, aber grundsätzlich den größten, den man sich leisten kann. Das wird wohl ein fünffacher sein. Sechs- und siebenfache werden nur für große Forschungsinstrumente angeboten und sind teurer als manches komplett ausgestattete Mikroskop eines Amateurs.

Der Revolver muß leicht drehbar sein und trotzdem satt und genau einrasten – und ohne harten Anschlag, weil sonst bei der Untersuchung von Wasserproben alle Viecher panikartig durcheinander schwimmen. Wichtig ist auch, daß er sauber mittig zentriert ist, ebenso seine Gewindebohrungen für die Objektive. Nach einer international akzeptierten Qualitätsvorstellungen soll beim Wechsel zum nächststärkeren Objektiv bei einem mittelstarken Okular, z. B. 10 bis 16 x, das Objekt, das vorher in der Gesichtsfeldmitte zu sehen war, nicht weiter wegwandern als bis in das mittlere Drittel des Gesichtsfeldes. Das ist ein guter Test: Hersteller, die diese aus der Anwendungspraxis stammende Mindestforderung nicht erfüllen, haben im Mikroskopbau eigentlich nichts verloren.

## 2.2.5 Der Tubus

### 2.2.5.1 Der Binokulartubus

#### Frage

Kann ich mit einem binokularen Einblick bequemer und mehr sehen?

#### Antwort

Bequemer ja; mehr nein. Kneift man beim Blick durch ein Monokular ein Auge ständig zu, bekommt man durch die dauernde Muskelanspannung und infolgedessen auch durch falsche Adaption der Augenlinse nicht selten Kopfschmerzen. Deshalb empfehlen alle Mikroskopie-Ratgeber seit hundertfünfzig Jahren, daß man ins Okular schaut, indem man beide Augen offen hält. Das Großhirn schaltet dann nach kurzer Zeit die Auswertung des Bildes ab, das das freie Auge sieht. Über Jahre und Jahrzehnte ist das aber nicht so günstig, weil das Großhirn die Sehzellen des nicht beanspruchten Auges, vor allem aber dessen Sehnerven, die Leitungsbahnen zum Gehirn, weniger „übt“ und versorgt, ihre Kapazität nimmt ab, das Auge verliert an „Empfindlichkeit“. Ich würde deshalb ein monokulares Mikroskop heutzutage nur als Exkursionsmikroskop gelten lassen, oder als ein Schul-, Kurs- oder Vereinsmikroskop zum nur gelegentlichen Gebrauch.

Auch ein einfacheres Mikroskop sollte heutzutage einen bequemen Schrägtubus haben. Für Schrägtuben, mono- oder binokular, behalte man sich beim Kauf uneingeschränktes Rückgaberecht vor, am besten schriftlich, vor allem wenn es sich um ein preiswertes Mikroskop handelt. Die präzise Justage von Umlenkprismen scheint manchen Herstellern schwerzufallen. Wenn sich bei längerem Mikroskopieren **Kopfschmerzen** einstellen, suche man die Ursache in dieser Reihenfolge: Falsch eingestellter Augenabstand beim Binokulartubus; falsch eingestellte Okulare; eigener Augenfehler; schlecht justierte Tubusprismen; zu hell oder zu dunkel eingestellte Beleuchtung (von völlig dejustierter Beleuchtung einmal abgesehen).

Mit einem binokularen Mikroskop sieht man nicht mehr, und kein anderes Bild als mit nur einem Okular. Wenn sich aber ein Hobbymikroskopiker an sein Instrument setzt, dann nicht, weil er nur einen kurzen Kontrollblick auf irgendwelche Bakterien werfen will. Meist schaut man lange und intensiv. Dabei ist das „Bino“ viel bequemer und auf Dauer nicht so anstrengend.

Im Gegensatz zum binokularen Mikroskop, in welchem der Strahlengang aus einem einzigen Objektiv des bequemerem Sehens halber in beide Okulare aufgespalten wird, nimmt das Stereomikroskop (auch Binokularlupe genannt) das Bild wie ein Feldstecher durch zwei Objektive auf – oder durch zwei Strahlengänge in einem großen gemeinsamen Objektiv – und leitet jeden getrennt in sein Okular. Man sieht in ihm ein dreidimensionales Bild.

Wer fotografieren will, kann die Kamera auf vielfältige Weise über dem Mikroskop anbringen. Das **Non-plusultra für den Fotografen ist ein binokularer Fototubus**, auch Trinokulartubus genannt, der zusätzlich zu den beiden Okulareinblicken noch einen senkrecht nach oben ragenden Fototubus hat, in dem das Fotookular steckt und auf dem die Kamera befestigt wird. Siehe 2.2.5.3 *Der Binokular-Fototubus*.

Ein einfacher senkrechter Tubus sollte im Lieferprogramm jedes Herstellers sein. Er ist für viele Zwecke nützlich.

#### Frage

Was ist ein **Tubusfaktor**? Ist das etwas, was ich wissen muß?

#### Antwort

Ja. Im Tubus befindet sich eventuell ein zusätzliches Linsensystem. Mitunter ist es so konstruiert, daß es das vom Objektiv entworfene Bild vergrößert, z. B. um den Faktor 1,25 oder gar 1,6. In diesem Fall errechnet sich die Gesamtvergrößerung so: Abbildungsmaßstab des Objektivs mal Okularvergrößerung mal Tubusfaktor. Beispiel:  $40 \times 10 \times 1,25 = 500:1$ . Von 1,0 abweichende Tubusfaktoren sind unbeliebt, besonders bei Mikrofotografen, weil man durch die spätere Nachvergrößerung des Negativs zu rasch aus dem Bereich der förderlichen Vergrößerung gerät. Bei einem 100er Objektiv und einem 12,5fachen Okular bereits ohne Nachvergrößerung:  $100 \times 12,5 \times 1,25 = 1562,5:1$ . (Die förderliche Vergrößerung liegt zwischen dem 500fachen und dem 1000fachen der num. Apertur des verwendeten Objektivs.)

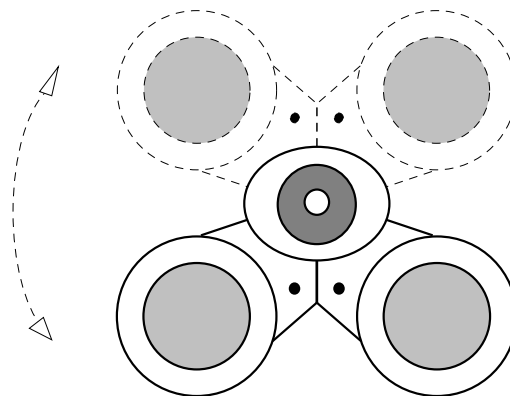


### 2.2.5.2 Der Augenabstand

Der Augenabstand wird bei einem binokularen Einblick entweder dadurch eingestellt, daß man die beiden Okulare auf einer Schiene gegeneinander verschiebt, oder indem man eine „**Knickbrücke nach Siedentopf**“ nach Art eines Feldstechers knickt. Bei der Knickbrücke ändert sich durch die Augenabstandsverstellung die optische Weglänge zwischen dem Zwischenbild und der Okularaustrittspupille nicht.

Bei den Schiebetuben ändert sich beim Verstellen des Augenabstands die optische Weglänge und mit ihr die mechanische Tubuslänge. Es gibt zwei Ausführungen: Beim **automatischen Schiebetubus** wird die veränderte Weglänge im Tubusinnern automatisch ausgeglichen. Bei dem **nichtautomatischen** muß man das Ausmaß der Verschiebung an einer Anzeigeskala ablesen und dann per Hand an den Okularstutzen oder Okularen einstellen.

Zeiss liefert für das Modell Axiostar einen Binokulartubus mit Knickbrücke nach Siedentopf, bei dem sich die Okulare in einem weiten Bereich verstellen lassen, aber auch die Einblickshöhe, die man der Körpergröße anpassen kann, so daß man vor dem Mikroskop weder den Hals recken noch „katzbuckeln“ muß. Das funktioniert im Prinzip so:



Wer kleineren Kindern gelegentlich einen Blick in die Mikrowelt bieten möchte, sollte sich auch einen monokularen Schrägtubus für sein Mikroskop anschaffen. Erstens haben Kinder oftmals Schwierigkeiten mit der richtigen Anordnung der Augen über dem Binokulartubus, und zweitens liegen ihre Augen oft so nah beieinander, daß der Verstellbereich des Binos nicht ausreicht. In solchen Fällen ist ein Mono-Tubus sehr hilfreich.

### 2.2.5.3 Der Binokular-Fototubus

Wer mikrofotografieren will, sollte auf folgendes Detail achten. Im Zuge der Rationalisierung bzw. Produktwertanalyse gibt mancher Mikroskophersteller traditionelle Ausstattungsmerkmale preis. Es kommen neuerdings wieder binokulare Fototuben, auch Trinokulartuben genannt, auf den Markt, die nur eine einzige Alternativeneinstellung haben: entweder 100 % des Lichtes in die Beobachtungsokulare oder 100 % in das Fotookular. Abgesehen davon, daß die ständige Umschaltung von Beobachtung auf Foto und wieder zurück für die meisten Fotoaufgaben unzumutbar lästig ist und auch öfter einmal vergessen wird, sind solche Tuben für die Fotografie von schnell beweglichen Mikroorganismen völlig unbrauchbar. Es sei denn, man möchte gerne im Stehen fotografieren, indem man von oben in den Kamerasucher schaut. Aber dann muß die Kamera mit einer Klarscheibe mit Doppelfadenkreuz ausgestattet sein. Hierzu lese man den entsprechenden Aufsatz *Das Luftbild im Fadenkreuz* in der MVM-Homepage.

Die bessere Lösung sind Tuben mit einer (eventuell schaltbaren) Einstellung, bei der 20 oder 30 % des Lichts in die Beobachtungsokulare geleitet wird und gleichzeitig 80 oder 70 % in den Fototubus.

Bei einem Binokular-Fototubus mit Knickbrücke nach Siedentopf werden im Gegensatz zu einem Schiebetubus die Okulare beim Verstellen des Augenabstands auch etwas gedreht. Wenn eine Formatstrichplatte in einem der Okulare ist, stimmt danach der Bildausschnitt der Strichplatte mit dem tatsächlichen der Kamera nicht mehr überein, sie sind etwas gegeneinander verschoben. Deshalb gibt es binokulare Fototuben nach Siedentopf mit automatischer Aufrichtung der Strichplatte. Fehlt dieses nützliche Konstruktionsmerkmal, muß man nach der Augenabstandsverstellung die Kamera auf dem Fototubus etwas drehen, damit die Bildausschnitte in Kamera und Okular wieder übereinstimmen.

### 2.2.5.4 Die Tubuslänge

Es gibt zwei verschiedene Tubuslängenmaße.

Da ist einmal die **optische Tubuslänge**. Sie ist eigentlich die wichtigere Länge, aber nur für den Optikkonstrukteur, denn der Benutzer kann sie nicht nachmessen. Das ist die Entfernung zwischen der hinteren Brennebene des Objektivs und der vorderen Brennebene des Okulars, der Zwischenbildebene. Die hintere Objektivbrennebene kennt nur der Optikkonstrukteur, denn sie liegt bei jedem Objektiv an einer anderen Stelle, manchmal hinter ihm, mitunter auch innerhalb des Objektivs zwischen den Linsengruppen. Auch wenn die Brennweite eines Objektivs bekannt ist, ist die Lage der Brennebene nicht bestimmbar, weil sie von der hinteren Hauptebene des Objektivs aus gemessen wird, deren Lage nur dem Optikkonstrukteur bekannt ist.

Die **mechanische Tubuslänge** ist die Entfernung von der Anschraubfläche des Objektivs zum obersten Tubusrand, der Auflagefläche des Okulars. Früher, hauptsächlich vor 1940, hatten bessere Mikroskope ausziehbare Tuben, doch ist man davon inzwischen abgekommen. Die konstanten Tubuslängen heutiger Mikroskope betragen 160 mm, vor 1980 waren bei etlichen Herstellern auch 170 mm üblich. Dieses Maß spielt eine große Rolle, wenn man Objektive und Okulare eines „fremden“ Herstellers am Mikroskop verwenden möchte – siehe die Kapitel 2.3.3.8 *Abgleichlänge und Parfokalität* und 2.4 *Umrüstung von Mikroskopen mit fremden Bauteilen*. Bei modernen Mikroskopen mit monokularem Schrägeinblick oder Bino-kulartuben ist auch die mechanische Tubuslänge nicht nachmeßbar, weil die Länge des Strahlengangs durch die Umlenkprismen im Tubuskopf nicht feststellbar ist.

### 2.2.6 Der Kondensorträger

Der Kondensorträger ist bei vielseitigeren Mikroskopen auswechselbar. Die Kondensoraufnahme ist meist mit einer wenig präzisen Klemmvorrichtung ausgestattet. Deshalb muß man den Kondensorträger zentrieren können, oder wenn dieser keine Zentriervorrichtung hat, muß der Kondensorträger selbst über Zentrierschrauben verfügen. An diesem mechanisch eher anspruchslosen Teil kann man gut erkennen, ob der Konstrukteur auch Liebe zum Detail hat walten lassen. Der Kondensorträger muß den Bewegungen der Zentrierschrauben nämlich ruck- und spielfrei willig folgen. Manche Klemmvorrichtung macht ihrem Namen „alle Ehre“ und klemmt auch dann, wenn sie nicht soll und springt irgendwann ruckartig in eine unerwünschte Position. Manchmal ist der Kondensorträger oder der Kondensorträger noch mit einer Hilfslinse ausgestattet, die bei schwachen Objektiven zur besseren Ausleuchtung des Bildfeldes aus dem Strahlengang geschwenkt werden kann. Und manchmal hat auch diese Hilfslinse zwei Zentrierschrauben, die man für die Feinzentrierung des Strahlengangs benützt, weil sie griffiger angeordnet sind und sich viel leichter drehen lassen als die meist schwergängigen Kondensorträgerschrauben.

Nicht bei allen Mikroskopmodellen ist der Kondensorträger stabil ausgeführt. Nicht selten sind Träger und Zahntrieb etwas schwächlich dimensioniert. Deshalb ist es wichtig, daß der Kondensorträger eine leicht zugängliche Spannschraube hat, mit der man ihn ab und zu wieder stramm ziehen kann, sobald er sich gelockert hat. Das macht er gerne, besonders wenn man gelegentlich den Standardkondensorträger gegen einen schwereren auswechselt.

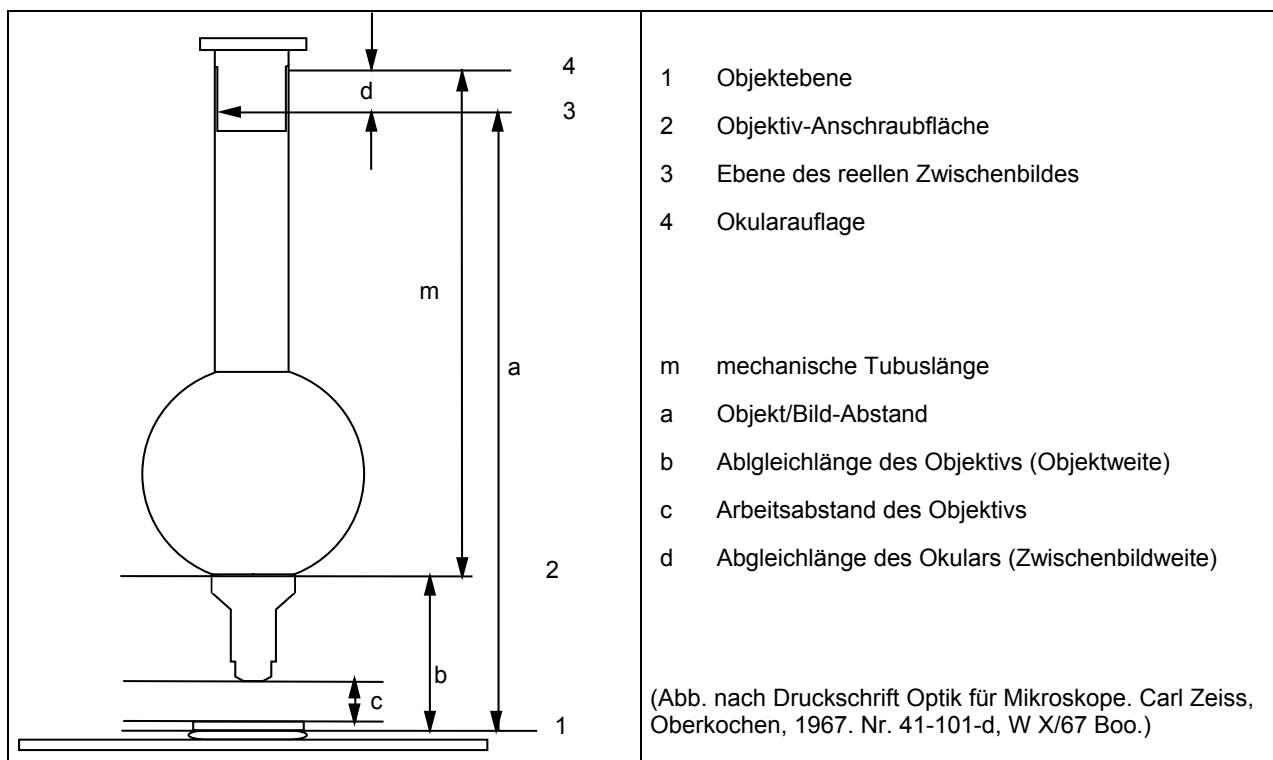
Zwischen der Fassung des Lichtaustritts am Mikroskopfuß und dem Kondensorträger sollte genügend freier Platz sein, damit man dort eventuell selbstgebastelte Teile wie spezielle Filterhalter oder ein Umlenkspiegelgehäuse für das Blitzgerät unterbringen kann. Gerade für Amateure ist das ein sehr wichtiger Gesichtspunkt. Es gibt Stative, die man noch nachträglich mit einer besseren Beleuchtung ausstatten kann, deren klobiges Lampengehäuse dann zwischen Mikroskopfuß und Kondensorträger gesetzt wird. Dann paßt kein Daumen mehr dazwischen. Unter sogenannten Schüler- und Kursmikroskopen findet man öfter solche unpraktischen Konstruktionen, die „moderne“ Bedürfnisse der Benutzer völlig ignorieren.

## 2.3 Die abbildende Optik des Mikroskops

### 2.3.1 Das Gesamtsystem Objektiv + Okular

#### 2.3.1.1 Herkömmliche Endlich-Optik

Eine einfache Linse erzeugt nur ein unvollkommenes Abbild eines Gegenstands, ihr haften unvermeidlich Bildfehler an. Der Objektivkonstrukteur kombiniert deshalb in einem optischen System mehrere Linsen aus verschiedenen Glassorten, die teilweise entgegengesetzte Bildfehler aufweisen. Doch lassen sich nicht alle Bildfehler auf diese Weise restlos beseitigen, weil die weitgehende Korrektur des einen immer einen oder mehrere andere verstärkt. Ein gutes Objektiv ist also immer ein Kompromiß, das noch gewisse Bildfehlerreste aufweist. Besonders der Farbvergrößerungsfehler (chromatische Vergrößerungsdifferenz, die wichtigste der chromatischen Aberrationen) kann nicht beseitigt werden. Er entsteht dadurch, daß blaue Lichtstrahlen stärker von einer Linse gebrochen werden als rote, deshalb bilden die blauen einen Gegenstand größer ab als rote. Besonders bei Mikroskopobjektiven höherer Apertur, also bei solchen höherer Korrektionsstufe (Achromaten und Fluoritsystemen) aber auch bei Planobjektiven und starken Achromaten ist das der Fall. Deshalb konstruiert man (seit Abbe) in die Okulare einen entgegengesetzten Fehler hinein, der den restlichen Farbvergrößerungsfehler der Objektive ausgleicht, kompensiert. Solche Okulare heißen **Kompensationsokulare**, bei Zeiss abgekürzt KPL oder CPL, bei Leitz/Leica *Periplan*. Schwächere Achromate haben den Farbvergrößerungsfehler nicht oder in nicht störendem Ausmaß. Sie wurden deshalb früher mit normalen, einfacher gebauten Okularen verwendet. Das ständige Wechseln von Okularen, je nachdem ob man ein Objektiv mit oder ohne Farbvergrößerungsfehler einschwenkte, war lästig. Deshalb führte Carl Zeiss Oberkochen 1950 eine Neuerung ein, die inzwischen von allen namhaften Mikroskopherstellern übernommen wurde: Man konstruiert auch in die schwächeren Objektive einen Farbvergrößerungsfehler hinein, damit alle Objektive, starke wie schwache, ihn etwa im gleichen Ausmaß haben. Man braucht deshalb als einzigen Okulartyp nur noch Kompensationsokulare. Das Ausmaß des Farbvergrößerungsfehlers des Objektivs und die Art seiner Korrektion im Okular ist je nach Hersteller etwas unterschiedlich. Wie stark der Restfehler in den Objektiven ist, der durch das Okular ausgeglichen wird, hängt unter anderem vom Können des Optikkonstrukteurs ab und vom Aufwand, den er bei der Korrektion der Objektive treiben kann. Hierin unterscheidet sich die Mikroskopoptik einzelner Hersteller mehr oder weniger. Deshalb sollte man Objektive nicht mit Kompensationsokularen eines anderen Herstellers benutzen, wenn man ihre Leistungsfähigkeit voll ausschöpfen will.



Herstellerspezifisch war bisher auch der Ort im Tubus, an dem das Objektiv das **Zwischenbild** des Objekts entwirft. Bei Carl Zeiss Oberkochen: 10 mm unterhalb des oberen Tubusrandes, bei ehem. VEB Zeiss Jena 13, bei Leitz 18, bei Meopta 11, Reichert 13, Lomo 12,5 und Wild 9 mm. An dieser Stelle, in seiner unteren Brennebene, nimmt das Okular das Zwischenbild auf. 1980 sind die Maße von Zeiss Oberkochen als DIN-Norm 58887 festgelegt worden. Seitdem halten sich alle namhaften Mikroskophersteller in aller Welt an diese Okularabgleichlänge: 10 mm unter dem oberen Tubusrand. DIN 58887 beschreibt außerdem die **Objektivabgleichlänge**, das ist der Abstand vom Objekt bis zur Anschraubfläche des Objektivs: 45 mm; ebenso die **mechanische Tubuslänge**: 160 mm.

Aus den oben aufgezählten Gründen sind also Objektiv und Okular ein zusammengehöriges optisches System. Objektive und Okulare verschiedener Hersteller sollte man deshalb nicht miteinander mischen, ebensowenig Objektive, die für unterschiedliche mechanische Tubuslängen berechnet sind. Jedenfalls in der Regel nicht. Besonders bei stärkeren Objektiven kann eine dadurch verursachte Bildverschlechterung deutlich bis drastisch sein.

Trotz des einheitlichen Steckdurchmessers für die Okulare und des einheitlichen Anschraubgewindes der Objektive, die beide vor 150 Jahren von der *Royal Microscopical Society* in London als „Norm“ vorgeschlagen wurden, sind Objektive und Okulare unterschiedlicher Hersteller also nicht kompatibel; besonders dann nicht, wenn auch die mechanische Tubuslänge unterschiedlich ist (160 oder 170 mm). Denn dann sind die optischen Weglängen unterschiedlich. Dennoch gibt es gewisse Möglichkeiten der „Mischung“ – siehe 2.4.2 *Objektiv-Kompatibilität*.

Abschließend ein Hinweis von Dr. Oliver SKIBBE, Berlin (in seiner Homepage).

„Vorsicht beim System-Mix. Natürlich passen Olympus-Objektive mechanisch auch an Leitz-Mikroskope (das gilt zumindest für alle Geräte ohne Unendlichoptik). Trotzdem kann die Kombination optischer Komponenten zu Schwierigkeiten führen. Das ist insbesondere bei hochkorrigierten Objektiven der Fall. Diese besitzen nämlich einen chromatischen Restfehler, der nur durch die passenden Kompensationsokulare des gleichen Herstellers wieder beseitigt wird. Zumindest theoretisch. Ich habe aber auch schon mit Leitz-Objektiven am Zeiss Mikroskop viel Freude gehabt. Auch die Kombination Zeiss/Olympus habe ich schon gesehen (zur Qualität kann ich keine Angaben machen). Probleme können außerdem durch Unterschiede im Längenabgleich der Objektive auftreten, d.h. beim Wechsel zwischen 2 Objektiven verschiedener Hersteller tritt mit hoher Wahrscheinlichkeit ein Schärfesprung ein. Im ungünstigsten Fall knallt man dann mit der Frontlinse des Objektivs mitten auf das Deckglas!

Spätestens bei der Anwendung von Kontrastverfahren (Phasenkontrast bzw. Interferenzkontrast) bringen „Fremdobjektive“ nichts als Probleme. Die Größe und Breite von Phasenringen und die Lage der Objektivaustrittspupillen unterliegen nämlich keinem Standard. Da hilft nur ein System aus einem Guß.“

### 2.3.1.2 Moderne Unendlichoptik

Bei der modernen Unendlichoptik wirken nicht Objektiv und Okular, sondern Objektiv und Tubuslinse zusammen.

Ein herkömmliches Endlichobjektiv entwirft in einer endlichen Entfernung, nämlich 10 mm unter dem oberen Tubusrand bei einer mechanischen Tubuslänge von 160 mm (nach DIN 58887) das reelle Zwischenbild. Genau an dieser Stelle liegt auch die vordere Brennebene des Okulars, dort nimmt es das Bild sozusagen auf und projiziert es in einem parallelen Strahlenbündel ins Unendliche. So sind alle optischen Geräte für die direkte Beobachtung konstruiert, weil unsere Augenmuskeln bei Einstellung der Augenlinse auf unendliche Entfernung „entspannt“ sind. Wir beobachten dann praktisch ermüdungsfrei ohne anstrengende Muskelarbeit und Steuerungstätigkeit des Großhirns.

Wegen des schrägen Strahlenverlaufs hinter dem Objektiv kann der Farbvergrößerungsfehler nur unvollkommen korrigiert werden, weshalb die endgültige Korrektur des Restfehlers erst im Okular stattfindet. Solche Okulare heißen Kompensationsokulare.

Der nicht parallele Strahlenverlauf hinter dem Objektiv ist Ursache konstruktiver Schwierigkeiten. Für verschiedene Beleuchtungsverfahren, z. B. Polarisation oder Interferenzkontrast, müssen nämlich zwischen Objektiv und Okular planparallele Glasplatten (Filter) eingeschoben werden. Wenn aber Lichtstrahlen eine planparallele Platte schräg durchdringen, werden sie beim Eintritt und beim Austritt durch Brechung abgelenkt, das stört die Korrektur des Objektivs.

Um das zu verhindern, hat man **Zwischentuben** konstruiert, die man – bei Bedarf – oberhalb des Objektivs, zwischen dem Tragarm des Objektivrevolvers und dem aufgesetzten Tubus einfügt. Ein solcher Zwischentubus hat zwei sogenannte Telanlinsen. Die untere richtet das vom Objektiv kommende

Zwischentubus hat zwei sogenannte Telanlinsen. Die untere richtet das vom Objektiv kommende Strahlenbündel parallel, die obere hebt diese Veränderung wieder auf und stellt den ursprünglichen Strahlenverlauf wieder her, und zwar so, daß an der berechneten Stelle (10 mm unter dem oberen Tubusrand) das Zwischenbild entsteht. Nun kann man in einen Schlitz zwischen den beiden Telanlinsen, wo der Strahlengang parallel verläuft, beliebige Filter oder andere optische Gläser einschieben, ohne daß dabei die Strahlen abgelenkt werden. Eine praktische Lösung, wenngleich das Bild durch die Einfügung von zwei zusätzlichen (Telan-)Linsen nicht besser werden kann. Nun brauchen aber nur wenige Mikroskopiker solche Zwischentuben. Sie wurden deshalb in so geringen Stückzahlen gebaut, daß sie sehr teuer waren, so zwischen 1200 und 1800 Euro. Auch war die Konstruktion nicht so ideal, denn man kann den Zwischentubus nicht beliebig lang bauen, weil der Mikroskopiker sonst wegen der Bauhöhe des Mikroskops ständig seinen Hals recken oder seinen „Drehstuhl“ so hoch drehen müßte, daß er nur unbequem sitzen könnte. Deshalb ist der parallele Strahlengang im Zwischentubus nur kurz, dort lassen sich also nur wenige Filter unterbringen.

Man hat immer wieder versucht, den Strahlenverlauf gleich vom Objektiv parallel richten zu lassen. Nicht daß man das nicht gekonnt hätte: Seit etwa 1920 gibt es Mikroskope mit parallelem (unendlichem) Strahlengang, die vor allem in der Metallmikroskopie eingesetzt wurden. Reichert Wien hat auch normale Durchlichtmikroskope mit unendlichem Strahlengang ausgestattet. Ebenso gab es das NU 2 von Zeiss Jena, das NS 400 von NACHET in Paris, das Axiomat von Zeiss Oberkochen. „Unendlichoptik“ gibt es also schon viele Jahrzehnte. Doch erst durch neue, teilweise hochbrechende Glassorten mit geringer Teildispersion wurde es ab ca. 1980 möglich, Unendlichobjektive wirtschaftlich zu berechnen und herzustellen.

Ein weiterer Beweggrund war die aufkommende **Digitalfotografie**. Die Mikrochips in digitalen Kameras sind ziemlich klein, so daß nur ein kleiner Teil des vom Okular kommenden Bildes darauf paßt. Daraus resultiert eine unerwünscht starke Vergrößerung dieses Bildteils. Und dadurch wiederum wird der Bereich der förderlichen Vergrößerung allzubald überschritten, wenn das Bild anschließend nachvergrößert wird, sei es auf dem Bildschirm oder auf Papier. Eine geringere Vergrößerung auf dem Chip ergäbe sich zwar, wenn man das vom Objektiv entworfene Bild nicht vom Okular nachvergrößern ließe, also das Okular einfach wegließe. Aber dann wäre die Korrektur des störenden Farbvergrößerungsfehlers durch das Okular nicht möglich.

Neue Glassorten bieten neue Lösungsmöglichkeiten. Das für unendliche Bildweite korrigierte Unendlichobjektiv entwirft ein Zwischenbild im Unendlichen, das man nicht mit einem Okular betrachten kann. Es entsteht also ein (nahezu) paralleles Strahlenbündel, in das man an beinahe beliebiger Stelle im Tubus planparallele optische Elemente unterbringen kann. Doch das Okular braucht ein reelles Zwischenbild im Tubus. Deshalb befindet sich im Tubus, in einiger Entfernung hinter dem Objektiv, ein optisches System, die **Tubuslinse**, die das parallele Strahlenbündel in seiner Brennebene zu einem reellen Bildpunkt vereinigt. Dabei korrigiert es außerdem noch Restfehler des Objektivs, so daß das Zwischenbild keinen Farbvergrößerungsfehler mehr enthält. Deshalb kann man z. B. bei der Digitalfotografie das Okular, das nun keinen Objektivfehler mehr zu korrigieren hat, einfach weglassen und bekommt mehr auf den Chip. Das System *Unendlichobjektiv + Tubuslinse* entspricht in seiner Wirkung im Grunde einem Objektiv mit endlicher Bildweite.

Bei der Unendlichoptik sind also nicht mehr Objektiv und Okular zusammen ein optisches System, sondern **Objektiv und Tubuslinse gehören zusammen**. Nun ordnet jeder Hersteller seine Tubuslinse an einer anderen Stelle im Tubus an und verleiht ihr spezielle Eigenschaften, um Restfehler des Objektivs zu korrigieren. Deshalb sind die Unendlichobjektive verschiedener Hersteller nicht mit derselben Tubuslinse kombinierbar, Unendlich-Mikroskope kann man also nicht mit Objektiven anderer Hersteller ausstatten. (Wenn sie denn überhaupt das gleiche Anschraubgewinde und dieselbe Abgleichlänge haben!) Vor solchen Kombinationen muß nachdrücklich gewarnt werden, weil die Tubuslinse großen Anteil an der Gesamtkorrektur des Systems hat.

### 2.3.1.3 Ist Unendlichoptik besser?

Unendlichoptik wird bislang nur von wenigen Spitzenfirmen geliefert (Zeiss, Leica, Olympus, Nikon). Bei ihnen wird man über kurz oder lang wohl gar keine anderen Instrumente mehr bekommen. Die kleineren Firmen und „No-Names“ bauen nach wie vor Endlichobjektive. Endlichoptik der genannten Spitzenfirmen bekommt der Amateur aber (noch) listenmäßig bzw. jederzeit gebraucht, manchmal mit Geduld und Mühe, aber immerhin.

In den Hauptanwendungen der Mikroskopie ist es im Prinzip gleichgültig, an welchen Stellen die Bildfehlerkorrektur erfolgt; entscheidend ist, daß das Auge des Beobachters ein Bild möglichst hoher Qualität

sieht. Das ist in beiden Fällen möglich. Die Bildqualität ist bei der herkömmlichen Optik also prinzipiell nicht schlechter als bei den modernen Unendlichtsystemen.

Weil sich aber die Weiterentwicklung bei den Spitzen-Herstellern auf die Unendlichobjektive konzentriert, fließen neue Erkenntnisse und der technologische Fortschritt eben da hinein. Ein gewisser Qualitätsabstand zu den meisten älteren Systemen wird sich im Laufe der Jahre sicherlich ergeben. So haben z. B. die neuen Neofluar-Objektive von Carl Zeiss keine Flußspatlinsen mehr, sondern man verwendet ein einziges, mit großer Sorgfalt hergestelltes Schwerflintglas mit besonders günstigen Eigenschaften in Bezug auf Spannungsfreiheit und geringe Eigenfluoreszenz. Deshalb sind diese Objektive für Hellfeld, DIK und Fluoreszenz gleichermaßen gut geeignet. Auch hat sich die Kombination aus Objektiv und Tubuslinse in Bezug auf die Linsenzahl günstig ausgewirkt, man kommt selbst bei Planobjektiven mit viel weniger Linsen aus, man braucht z. B. für manche Plan-Neofluar-Objektive nicht mehr Linsen als früher für normale Fluoritsysteme mit Bildfeldwölbung. Das kommt der Brillanz des Bildes zugute. Auch bei den Okularen braucht man nicht mehr so viele Linsen, trotz gesteigerter Abbildungsleistung, weil die Aufgabe der früheren Okulare entfallen ist, die Vergrößerungsdifferenz der Objektive zu kompensieren.

**Die heutigen Unterschiede kann man vielleicht prinzipiell so zusammenfassen:**

**Die Endlichoptik** ist in der Konstruktion einfacher und deshalb preisgünstiger; die Aperturen können bei sonst gleicher Dimensionierung des Objektivs höher sein; eine gute apochromatische Korrektur ist möglich.

**Die Unendlichoptik** hat folgende Vorteile: Sehr gute Korrektur großer Sehfelder (20 mm sind sozusagen die Mindestnorm); größerer freier Arbeitsabstand der Objektive; große Freiheitsgrade bei der Anordnung unterschiedlicher Module im Freiraum zwischen Objektiv und Tubus. Nachteile hat die Unendlichoptik nicht, wenn man einmal vom relativ hohen Preis für das Grundstativ und seine Bauteile absieht. Einige Firmen, wie Carl Zeiss liefern aber auch schon preisgünstige Stative für Labor- und Kursmikroskope mit Unendlichoptik.

Die Beschaffung von Zubehör und Ergänzungsteilen für die älteren Endlich-Mikroskope derjenigen Hersteller, die auf Unendlichoptik übergegangen sind, wird mit jedem Jahr schwieriger, weil ja der Erhaltungszustand der alten Sachen mit der Zeit schlechter wird. Auch versuchen heute viele Mikroskopiker noch rasch, für ihr Alt-Mikroskop so viele Zubehörteile wie möglich auf dem Gebrauchtmakrt zu bekommen, so daß das Angebot zusehends knapper wird. Wer genug Geld investieren kann, kauft selbstverständlich Unendlichoptik, da sind z. B. sogar die Teile für Interferenzkontrast neu billiger als die alten "endlichen" in gebrauchtem Zustand, weil der Unendlich-Strahlengang eine konstruktiv und fertigungstechnisch einfachere Bauweise ermöglicht. (In den sechziger und siebziger Jahren hatte eine Interferenzkontrasteinrichtung mit DIK-Kondensator, Zwischentubus mit Analysatorschieber und einigen Wollastonprismen immerhin den Preis eines VW-Käfers.)

### 2.3.2 Förderliche und leere Vergrößerung

#### *Frage*

Hat der Begriff der förderlichen Vergrößerung etwas mit der leeren Vergrößerung zu tun?

#### *Antwort*

Ja. Jedes von einem ordentlichen Hersteller gelieferte Mikroskopobjektiv weist die Angabe seiner numerischen Apertur auf, sie ist neben der Eigenvergrößerung des Objektivs auf die Fassung graviert. Sie ist seine wichtigste Eigenschaft.  $40:1 / n. A. 0,65$  – oder auch  $40:1 / 0,65$  oder  $40 / 0,65$  bedeutet: Dieses Objektiv ergibt am vorgesehenen Mikroskopstativ einen Abbildungsmaßstab von  $40:1$ , und seine numerische Apertur beträgt  $0,65$ . Die **numerische Apertur** ( $n. A.$ ) ist eine Eigenschaft des jeweiligen Objektivs und ein Maß für sein Auflösungsvermögen, d. h. für seine Fähigkeit, kleinste Details aufzulösen, getrennt sichtbar zu machen, sie nicht zu einem einzigen, größeren, unscharfen Detail zu verschmelzen. Je größer die Apertur, um so höher das Auflösungsvermögen. Siehe Kapitel 2.3.3.1 *Die Apertur des Mikroskopobjektivs* und 3.3 *Von der Wellennatur des Lichts*.

Mit **Trockenobjektiven** läßt sich physikalisch-theoretisch maximal eine  $n. A.$  von  $1,0$  erzielen, in der Praxis jedoch nicht mehr als  $0,95$ . Objektive mit höherer Apertur sind **Immersionsobjektive**, die nur dann ein scharfes Bild liefern, wenn man einen Tropfen Immersionsöl zwischen die Frontlinse des Objektivs und das Objekt bzw. das Deckglas bringt. Die Frontlinse taucht also in das Öl ein. Zusätzlich muß auf dieselbe Weise auch die Unterseite des Objektträgers mit der Frontlinse des Kondensators verbunden werden, wenn nicht idealerweise mit Immersionsöl, so doch wenigstens mit dest. Wasser. Für Immersionsobjektive gilt als praktische Obergrenze eine Apertur von  $1,4$ , die jedoch nur von sehr teuren Apoch-

romaten erreicht wird, deren Stückpreis z. T. bei 3.000 Euro und darüber liegt, z. B. das berühmte Carl Zeiss 63:1 / 1,40. Die n. A. der meist verwendeten Immersionsobjektive liegt zwischen 1,25 und 1,30. Siehe auch 2.3.3.2 *Wozu braucht man Immersionsobjektive?*

Die **Gesamtvergrößerung** eines Mikroskops sollte nicht kleiner sein als das 500fache der n. A. des verwendeten Objektivs, sie sollte aber das 1000fache nicht überschreiten. Diesen Spielraum zwischen empfehlenswerter Minimal- und Maximalvergrößerung nennt man die **förderliche Vergrößerung**.

Mit einem Objektiv 40:1, n. A. 0,65 sollte man also mindestens eine Gesamtvergrößerung von  $0,65 \times 500 = 325$ fach erzielen, was mit einem Okular 8x möglich ist. Die Vergrößerung sollte  $0,65 \times 1000 = 650$ fach nicht übersteigen, ein Okular 16x nützt diesen Spielraum also gerade aus. Ein Okular 10x oder 12,5x ist ein guter Kompromiß, liegt sozusagen in der Mitte. Geringere Okularvergrößerungen ergeben ein helleres und kontrastreicheres Bild, höhere zeigen in der Regel die Details deutlicher.

Bei höherer Vergrößerung als dem 1000fachen der n. A. machen sich im Zwischenbild, das vom Objektiv entworfen wird, unvermeidliche **physikalische Beugungserscheinungen** bemerkbar, die zu einer allgemeinen Unschärfe im Bild führen. Deshalb entsteht in einem solchen Fall eine sogenannte leere Vergrößerung, d. h. die zusätzliche Vergrößerung, die das etwa 1000fache der n. A. übersteigt, ist „leer“, sie zeigt keine neuen, zusätzlichen Details, sondern es wird nur das unscharfe Bild vergrößert. Die Details, die das Objektiv als Zwischenbild nicht liefert (auflöst), kann auch ein Okular durch seine Vergrößerung nicht sichtbar machen. Auch ein unscharfes Foto wird ja durch Vergrößern nicht schärfer, zeigt nicht mehr Details als vorher, sondern es vergrößert nur die Unschärfe. Trotzdem geht man gelegentlich über die förderliche Vergrößerung hinaus, z. B. um einen Blutausrich besser auszählen zu können oder um ein Objekt leichter auszumessen.

Bleibt man unterhalb des Bereichs der förderlichen Vergrößerung, also unterhalb des 500fachen der n. A., indem man ein zu schwaches Okular verwendet, so wird die Auflösungsfähigkeit des Objektivs nicht ausgenutzt, das Okular zeigt dem Auge dann weniger Details als es sehen könnte und als das Objektiv im Zwischenbild abgebildet hat.

#### *Frage*

Die **Gesamtvergrößerung** ist doch mathematisch das Produkt aus Abbildungsmaßstab des Objektivs und Okularvergrößerung. Wenn ich eine 500fache Vergrößerung haben möchte, kann ich sie (A) mit einem Objektiv 40:1 und einem Okular 12,5 x erzielen. Aber doch ebenso (B) mit einem Objektiv 20:1 und einem 25fachen Okular. Das Ergebnis ist doch dasselbe?

#### *Antwort*

Nein, es ist nicht dasselbe. A ist richtig. B ist falsch. Wir nehmen als Objektive normale Achromaten. Da hätte das 40:1 etwa die n. A. 0,65, das 20er etwa 0,35 bis 0,40. Bei dem 40er liegt mit dem 12,5fachen Okular die Gesamtvergrößerung (500fach) gut innerhalb der förderlichen Vergrößerung, mit dem 20er und einem 25fachen Okular liegt man schon deutlich darüber. Im letzten Fall ist das Bild nicht so hell, nicht so kontrastreich-brillant, vor allem aber nicht so scharf.

Zwar lautet eine alte Mikroskopierregel, daß man die erforderliche Vergrößerung stets mit dem schwächstmöglichen Objektiv bewerkstelligen sollte, weil das infolge des geringeren Abbildungsmaßstabs eine größere Schärfentiefe hat als ein stärkeres, und weil Unvollkommenheiten der optischen Korrektion sich weniger bemerkbar machen. Doch darf man dabei nicht die förderliche Vergrößerung überschreiten, wenn man ein scharfes und kontrastreiches Bild haben will. Man bleibt mit der Gesamtvergrößerung besser 10 bis 20 Prozent unterhalb des 1000fachen der numerischen Apertur, soweit das möglich ist. Das ist eine Erfahrung aus der Praxis. So hat es sich durchaus bewährt, ein 40er und ein 100er mit einem Okular 10x zu benutzen. Beim 40er nutzt man dabei die Obergrenze der förderlichen Vergrößerung zu 61 % aus, beim 100er (n. A. 1,25 bis 1,30) zwischen 77 und 80 %.

Wenn es aber darum geht, kritische **Details an der Auflösungsgrenze** deutlich sichtbar zu machen, so schadet es bei gut korrigierten Systemen auf keinen Fall, mit einem stärkeren Okular bis zu 50 % über die Obergrenze der förderlichen Vergrößerung zu gehen. Im Grenzbereich ist das auch deshalb vorteilhaft, weil die Annahmen der Optiker über das Auflösungsvermögen des menschlichen Auges sich als nicht richtig erwiesen haben. Einem sechzigjährigen Mikroskopiker nützt es nämlich herzlich wenig, daß die Annahmen über die förderliche Vergrößerung von einem durchschnittlichen Auflösungsvermögen des Auges ausgehen, das auch die Zwanzigjährigen mit einbezieht.

(Auf die Unstimmigkeiten zwischen den z. T. willkürlichen, inzwischen korrekturbedürftigen Annahmen von vor über hundert Jahren, den verbesserten Objektiven und Beleuchtungstechniken von heute und der

Leistungsfähigkeit des Auges hat C. van DUIN jr. in einem Vortrag im November 1992 auf den 4. Internationalen Mikroskopie-Tagen in Hagen hingewiesen und zum deutlichen Erkennen bedeutend höhere Vergrößerungen als das 1100fache der n. A. befürwortet. Er kommt zu dem Schluß, daß jede Vergrößerung nützlich sei, welche die individuelle Wahrnehmung erleichtert, ohne von zunehmender physikalischer Beugungsunschärfe gestört zu werden.)

Generell ist aber zur Verwendung von starken Okularen zu sagen, daß sie stets ein dunkleres Bild ergeben als schwächere.

### 2.3.3 Objektive

#### 2.3.3.1 Die Apertur des Mikroskopobjektivs

##### *Frage*

Was bedeutet n. A., ist das wichtig?

##### *Antwort*

Die numerische **Apertur** ist ein **Zahlenwert** für das **Auflösungsvermögen** eines Objektivs. Sie ist eine Maßzahl für die vom Mikroskopobjektiv aufgenommene Lichtmenge, den Lichtstrom. Sie ist die wichtigste Eigenschaft eines Objektivs. Je größer die Zahl, desto höher ist das Auflösungsvermögen. (Gewöhnlich ist sie auf der Objektivfassung angegeben, gleich hinter der Maßstabszahl bzw. bei Unendlichobjektiven der Vergrößerungsangabe.)

Weil die Begriffe Apertur und Auflösung nicht nur in der Theorie der Bildentstehung, sondern gerade auch in der täglichen Praxis des Mikroskopierens eine überragende Rolle spielen, sollen die Zusammenhänge näher ausgeführt werden.

**Auflösungsvermögen:** Die Fähigkeit des Objektivs, zwei benachbarte Punkte als getrennte Punkte darzustellen und sie nicht zu einem einzigen, größeren, unscharfen Punkt zu verschmelzen. Je höher das Auflösungsvermögen, um so mehr Details enthält das vom Objektiv entworfene Zwischenbild des Objekts, das durch das Okular vergrößert betrachtet wird. Die Verwendung eines stärkeren Okulars anstelle eines schwächeren läßt deshalb nur dann zusätzliche feine Bilddetails erkennen, wenn sie im Zwischenbild vorhanden sind, weil sie vom Objektiv aufgelöst wurden. Ist das nicht der Fall, entsteht durch das stärkere Okular „leere Vergrößerung“. Das ist durchaus vergleichbar mit einer fotografischen Vergrößerung, die man von einer unscharfen Aufnahme anfertigt. Man sieht dann nur die Unschärfe, also das „Nichts“ größer.

Die numerische Apertur, manchmal, wenn eine Verwechslung ausgeschlossen ist, nur Apertur genannt, abgekürzt n. A., oder in mathematischen Formeln als A bezeichnet, kann zwar mit einem Abbeschen Apertometer gemessen werden, das ist aber in der Regel unnötig, denn die auf dem Objektiv gravierte Aperturangabe ist – zumindest bei renommierten Herstellern – heutzutage verlässlich.

Die **Apertur** ist nichts anderes als die – allen Fotofreunden bekannte – **Lichtstärke** eines Fotoobjektivs. Sie wird in der Fotografie als relative Öffnung, als Größenverhältnis angegeben: Brennweite zum Durchmesser der wirksamen Öffnung (das ist die Eintrittspupille); deshalb nennt man die Lichtstärke auch Öffnungsverhältnis. Lichtstärke f:4 oder 1:4 besagt bei einem Objektiv von 50 mm Brennweite, daß die Eintrittspupille einen Durchmesser von 12,5 mm hat. Die größte einstellbare Blende („volle Öffnung“) beträgt 4,0. Hat aber ein Objektiv von 25 mm Brennweite denselben Durchmesser der Eintrittspupille, so ist seine Lichtstärke 1:2. Seine größte Blende ist 2,0.

**Auch ein Fotoobjektiv hat bei voller Öffnung** (d. h. bei größter Blende = kleinste einstellbare Blendenzahl) **das höchste Auflösungsvermögen**. In der Praxis blendet man, wann immer möglich, etwas ab, weil bei kleinerer Blende die Abbildungsfehler des Objektivs weniger in Erscheinung treten und weil eine geringere Öffnung eine größere Schärfentiefe und bessere Kontrastzeichnung ergibt.

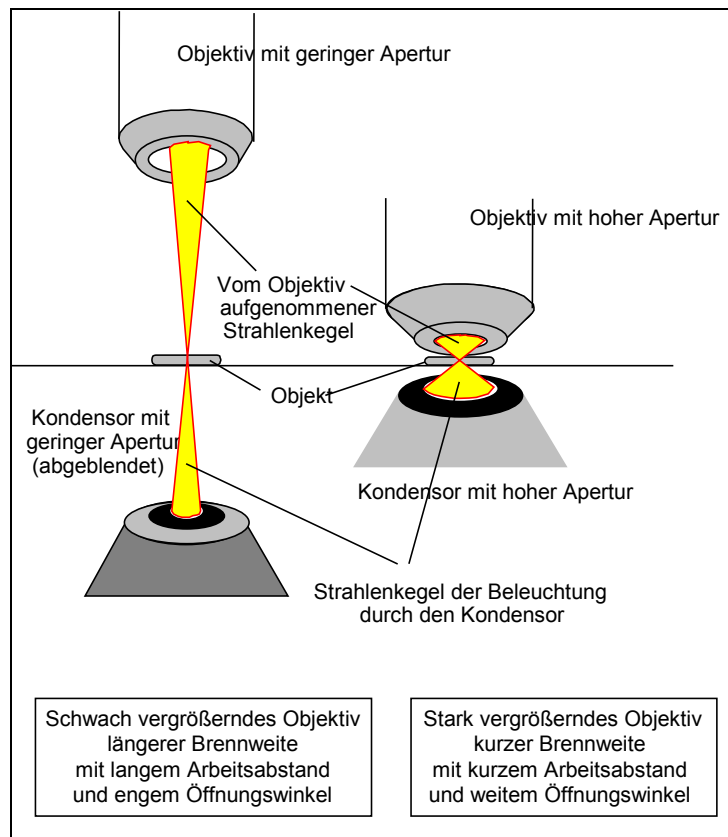
#### **Der Öffnungswinkel des Objektivs**

Die Apertur (lateinisch: Öffnung) eines Mikroskopobjektivs hingegen wird anders gemessen als bei einem Fotoobjektiv.

Bei einer Kamera mit Balgengerät zwischen Kameragehäuse und Objektiv erhält man ein um so stärker vergrößertes Bild, je weiter man das Objektiv dem Objekt nähert, die Gegenstandsweite verringert und



gleichzeitig den Balgen weiter auszieht, um die Bildweite zu vergrößern. Diese Technik ist beim Mikroskop sowohl aus optischen als auch aus mechanischen Gründen nicht anwendbar, deshalb braucht man mehrere Objektive unterschiedlicher Brennweite, um den Abbildungsmaßstab zu verändern. Die Brennweite bestimmt dabei den Abstand des Objektivs vom Objekt.



Das Objektiv mit der höheren Apertur, dem größerem Öffnungswinkel, hat das höhere Auflösungsvermögen. Daß es eventuell stärker vergrößert, ist dabei ohne Belang, wie wir noch sehen werden. Auch die Beleuchtungsstärke im mikroskopischen Bild wächst mit dem Quadrat der Apertur.

### Die numerische Apertur

Ein Mikroskopobjektiv mit großem Öffnungswinkel kann einen großen Lichtstrom aufnehmen. Als Maßeinheit verwendet man jedoch nicht das Winkelmaß, sondern den Sinus des halben Öffnungswinkels. Warum? Warum bleibt man nicht bei dem in der Fotografie üblichen Begriff Lichtstärke?

Die Lichtstärke ist das Verhältnis von Brennweite zum Durchmesser der Eintrittspupille, also eine rein geometrische Verhältniszahl.

Nun befindet sich aber bei manchen Mikroskopobjektiven (Immersionsobjektiven)

zwischen dem Objekt bzw. Deckglas und der Objektivfrontlinse ein anderes Medium als Luft, ein Immersionsmittel. Das kann Wasser sein, Glycerin oder meistens Immersionsöl. Je nach dessen Brechungsindex ist der praktisch erzielte Öffnungswinkel recht verschieden. Die numerische Apertur berücksichtigt das. Die Formel lautet:

$$A = n \sin \sigma.$$

$\sigma$  ist der halbe Öffnungswinkel,  $n$  der Brechungsindex des Mediums zwischen Deckglas und Objektivlinse. Im Falle eines Trockenobjektivs ist das Luft:  $n = 1,0$ . Bei Immersionsöl gilt  $n = 1,515$ .

Den Wert  $A$  kann man einfach in die bei Fotoobjektiven übliche „Lichtstärke“ umrechnen:

Lichtstärke (relative Öffnung) =  $1 : A : 2$ . Das gängige Objektiv 40:1,  $n. A. 0,65$ , hat demnach eine Lichtstärke von  $1 : 0,65 : 2 = 0,77$ . Blende 0,77. Das ist viermal so lichtstark wie ein hochlichtstarkes Fotoobjektiv 1:1,4. Ein Ölimmersionsobjektiv mit  $n. A. 1,30$  ist 16 mal so lichtstark wie 1:1,4.

Die maximale Apertur ist  $1 \times n$ , wobei  $n$  die Brechzahl des Mediums zwischen Objekt/Deckglas und Frontlinse ist. Bei Luft ist die Brechzahl = 1,0, so daß die maximale Apertur theoretisch 1,0 ist. Doch ein solches Objektiv müßte einen Öffnungswinkel von  $180^\circ$  und eine unendlich große Frontlinse haben. In der Praxis erreicht man deshalb höchstens  $A = 0,95$ .

### Frage

**Wie groß muß ein Objekt mindestens sein, damit ich es im Lichtmikroskop sehen kann?**

### Antwort

Das hängt von der Apertur des verwendeten Objektivs ab. Besitzt das Objekt eine periodische Struktur, z. B. ein Gitter, und wendet man zur Beleuchtung Strahlenbündel von sehr geringer Öffnung (nahezu parallelstrahliges Licht) an, so läßt sich zeigen, daß eine sich periodisch wiederholende Struktureigenschaft des Objekts im Bild gerade noch gesehen wird, wenn ihre Periodenlänge ist:

$$d = \lambda / A \text{ bei gerader und}$$

$$d = \lambda / 2A \text{ bei äußerst schiefer Beleuchtung.}$$

Die Größe des gerade noch auflösbaren Abstands  $d$  liegt also zwischen den beiden Grenzen  $\lambda / A$  und  $\lambda / 2A$

Hier eine kleine Tabelle mit den Mindestgrößen bei verschiedenen Objektivaperturen.

numerische Apertur	Mindestgröße des Objekts (Auflösungsgrenze in $\mu\text{m}$ )	
	$\lambda / A$	$\lambda / 2A$
0,10	5,5	2,75
0,30	1,83	0,92
0,65	0,84	0,42
0,95	0,58	0,29
1,25	0,44	0,22
1,40	0,39	0,20

Warum bei schiefer Beleuchtung die Auflösung theoretisch doppelt so groß ist wie bei gerader Beleuchtung, steht im Kapitel 3.3.4 *Höhere Auflösung bei schiefer Beleuchtung*.

Die kleinsten, gerade noch aufgelösten Strukturen werden **nicht objektgetreu** wiedergegeben, d. h. man kann gerade erkennen, daß es sich z. B. um zwei Objektdetails handelt. Das mikroskopische Bild vermittelt jedoch in diesem Grenzbereich keine Aussage über ihr tatsächliches Aussehen. Man kann das gut vergleichen mit dem Aufleuchten von Staubteilchen in der Luft, wenn ein Sonnenstrahl sie trifft. Man kann sie dann sehen, aber nicht ihre körperliche Gestalt erkennen.

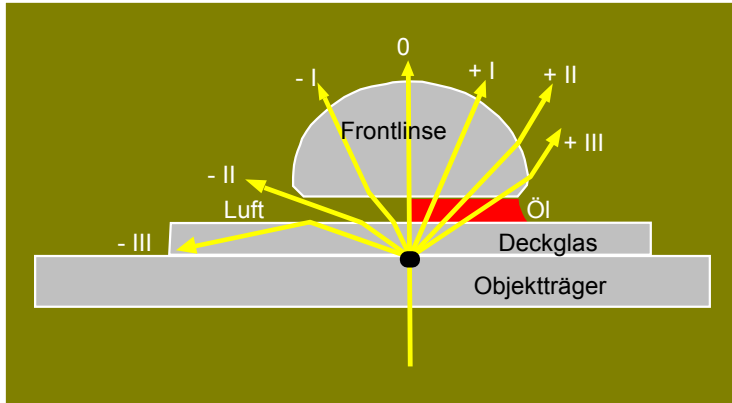
Will man das Auflösungsvermögen nach der obigen Tabelle wirklich ausschöpfen, vor allem bei den stärkeren Objektiven, so müssen einige Bedingungen erfüllt sein:

Die Auflösungsgrenze  $d$  hängt außer von der  $n \cdot A$  des Objektivs auch von der **Wellenlänge des Lichts** ab. Es gilt:  $d = \lambda / A$ . Es gilt:  $d = \lambda / A$ . Im allgemeinen können wir für das gelbgrüne Licht, für das unser Auge am empfindlichsten ist und für das alle Mikroskopobjektive am besten korrigiert sind, einsetzen:  $\lambda$  (Lambda) = 0,550  $\mu\text{m}$ . Sodann muß die **Beleuchtung** exakt nach den **Köhlerschen Regeln** eingestellt werden, eine „Nachtischlampe“ als Beleuchtung genügt nicht. Ferner muß die Beleuchtungsapertur des Kondensors so groß sein wie die  $n \cdot A$  des Objektivs. Die Abbildung einige Absätze weiter oben verdeutlicht das.

Warum eine höhere Apertur gleichbedeutend mit höherem Auflösungsvermögen ist, hat Ernst Abbe, der Partner von Carl Zeiss, 1868 herausgefunden und in seiner Theorie der optischen Abbildung beschrieben. Der Effekt ist begründet in der Wellennatur des Lichts und der Lichtbeugung. Eine kurze Darstellung zur Einführung gibt Teil 3: *Die Grundlagen der mikroskopischen Abbildung*.

### 2.3.3.2 Wozu braucht man Immersionsobjektive?

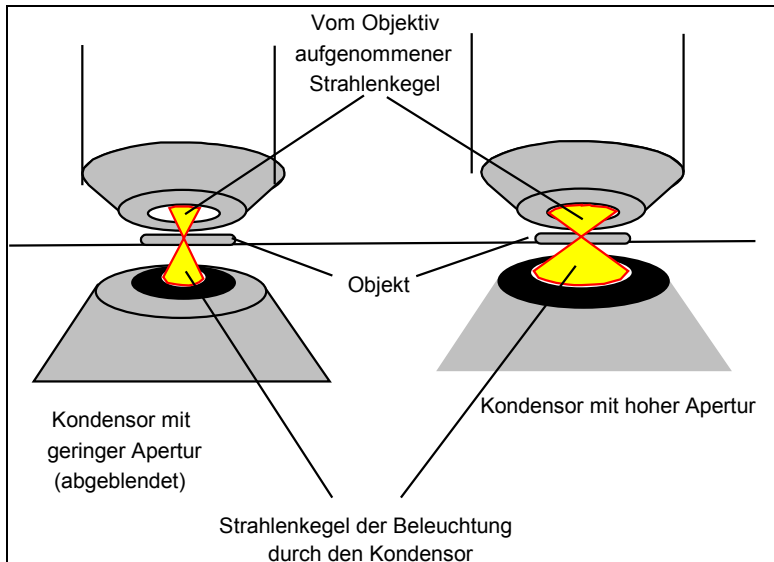
Je weiter der Öffnungswinkel eines Objektivs ist, desto höher ist sein Auflösungsvermögen. Auf der linken Hälfte der Abbildung sehen wir, was bei einem Trockenobjektiv mit weitem Öffnungswinkel passieren würde, brächte man es, seiner kurzen Brennweite entsprechend, nahe an das Objekt.



Die Lichtstrahlen -II und -III des einfallenden Strahlenbündels, würden entweder am Objektiv vorbei gehen (-II) oder durch Totalreflexion an der Grenzfläche Glas/Luft des Deckglases gespiegelt (-III). Sie erreichen das Objektiv gar nicht. Die hohe Apertur könnte nicht genutzt werden, das Objektiv hätte nur eine geringe Auflösung.

Wenn höhere Aperturen als 1,0 (Theorie) bzw. 0,90 bis 0,95 (Praxis) benötigt werden, braucht man ein Immersionsobjektiv.

Eine Schicht Öl zwischen Deckglas und Frontlinse (rechte Hälfte der Abbildung) sorgt dafür, daß die Lichtstrahlen +II und +III nicht vom Mittelstrahl weg gebrochen werden, sondern ebenfalls ins Objektiv fallen. Sie sind deshalb am Bildaufbau beteiligt. Auf diese Weise wird die Apertur und mit ihr das Auflösungsvermögen des Ölimmersionsobjektivs gesteigert. Eine Ölimmersion nennt man homogen, wenn Brechzahlen und Dispersion des Öls, des Deckglases und der Objektivfrontlinse nahezu gleich sind. In diesem Fall ist die rückwärtige Kugelfläche der Frontlinse die erste brechende Fläche.



**Auch die Kondensatorfrontlinse muß immergiert werden.** Das ist Voraussetzung für die Nutzung der vollen Apertur. Die oberste Kondensatorlinse muß durch Immersionsöl mit der Unterseite des Objektträgers verbunden sein, damit die Beleuchtungsapertur ebenso groß ist wie die Objektivapertur. Denn das Objektiv kann das Licht ja nur in demselben Winkel erfassen, in dem es durch den Kondensator von unten einfällt – siehe nebenstehendes Bild – sonst nützt auch die hohe Objektivapertur nichts.

Ohne Immersionsöl können weder die Objektiv- noch die Kondensatorapertur größer sein als 0,95. Es muß aber ein **Immersionskondensator** sein, denn auf Trockenkondensatoren darf man keinesfalls Immersionsöl auftragen. Einen Immersionskondensator erkennt man immer daran, daß er eine höhere Apertur als 1,0 hat, z. B. 1,2, 1,3 oder 1,4 – aber eben nur, wenn man ihn immergiert.

Eine Immersion kann man ausführen mit Öl, Wasser oder Glycerin. Auf der Fassung des Objektivs ist graviert, für welche Art von Immersion es berechnet ist. Als Immersionsöl nehme man stets das vom Objektivhersteller empfohlene oder gelieferte. Das ist wichtig, weil sein Öl eventuell auf Verträglichkeit mit dem Kitt getestet ist, mit dem die Frontlinse des Immersionsobjektivs in die Fassung gekittet bzw. die Fassung abgedichtet ist, damit das Öl nicht ins Objektivinnere eindringen kann.

## 2.3.3.3 Objektivklassen

Korrektionsklasse	<b>Normale</b> Objektive mit Bildfeldwölbung	<b>Plan</b> objektive Bildfeldwölbung beseitigt
Achromate	Einfach aufgebaute, robuste Allgebrauchsobjektive. Farbfehlerreste. Neuere Typen manchmal von erstaunlicher Qualität. Sehr preisgünstig.	<b>Plan</b> achromate: Korrektur etwas besser auf Fotografie abgestimmt. Deutlich teurer als Achromate
Fluoritobjektive	Auch Halbapochromate genannt. Gegenüber Achromaten wesentlich verbesserte Farbkorrektion. Hohe Schärfe- und vor allem Kontrastleistung. Meist hohe Auflösung infolge großer Apertur. Bester Typ für Fluoreszenzverfahren.	<b>Plan</b> fluoritobjektive: Meist als Immersionsysteme ausgeführt. Ideal für Fotografie. Sehr teuer.
Apochromate	Beste Korrektur aller Farbfehler. Hohe Aperturen, hohe Auflösung. Teuer.	<b>Plan</b> apochromate: Für besonders kritische Farbfotografie. Sehr teuer.

**Die am meisten gekauften Objektive** sind die robust gebauten, einfach zu handhabenden normalen Achromate, deren Korrektioneigenschaften für sehr viele Aufgaben völlig ausreichen. Gerade bei ihnen ist der Fortschritt der letzten 25 Jahre deutlich sichtbar.

Hinsichtlich der Korrektur der Bildfeldwölbung kamen in den letzten 20 Jahren verschiedene neue Bezeichnungen auf, beispielsweise CP (Clinical plan), A-Plan, D-Plan u. ä. Diese Objektive zeichnen gewöhnlich ein Okular-Sehfeld von 18 mm mehr oder weniger plan aus, nicht jedoch größere Bildfelder wie die „echten“ Planobjektive, welche Sehfelder von 24 oder gar 28 mm völlig plan wiedergeben. Es handelt sich bei den ersten um sogenannte *Semiplan*objektive. Welche Bedeutung die hersteller-individuellen Bezeichnungen und Abkürzungen jeweils haben, sollte man vor dem Kauf durch das Studium der Prospekte genau ergründen.

Manchmal sind Semi- oder Clinical-Plan-Objektive oder andere mit werbewirksamen Bezeichnungen nicht nennenswert „planer“ als die z. T. hervorragenden, ganz normalen Achromate der Spitzen-Hersteller Zeiss und Leica, bei deren normalen 10er und 40er Achromaten die Bildfeldwölbung nur noch in einem Randbereich auf Anhieb sichtbar, in  $\frac{3}{4}$  bis  $\frac{4}{5}$  der Bildfläche aber kaum der Rede wert, weil nicht störend ist.

Von den meisten Autoren werden für die **Mikrofotografie** mehr oder weniger kategorisch mit Bildfeldwölbung behaftete Objektive, wie Achromate, Fluorite und Apochromate abgelehnt und Planachromate oder gar Planapochromate gefordert. Diese strenge Forderung ist indes nur berechtigt, wenn es sich um kritische Aufnahmen von z. B. histologischen Schnitten in der Medizin u. ä. handelt. Und auch hier kommt es allein auf den Verwendungszweck an. Lesen Sie dazu auf der MVM-Homepage den Aufsatz: *Planobjektive – wozu eigentlich?*

„Entgegen einer verbreiteten Meinung sind **auch Mikroskopobjektive einfacher Bauart (Achromate) für Farbfotografie geeignet**, allerdings zeigt sich auch die Überlegenheit höher korrigierter Objektive (z. B. vom Typ Plan-Neofluar) besonders auffällig.“ (F. K. Möllring vom ehem. Zeiss-Mikrolabor in Oberkochen, in der Broschüre: *Mikroskopieren von Anfang an*. Carl Zeiss, Oberkochen 1980.)

Die Fotoqualität von Apochromaten kann man auf einfache Weise auch mit normalen, preiswerten Achromaten erzielen. Man verwendet einen normalen panchromatischen oder einen orthochromatischen Schwarzweißfilm und legt ein Schott-Filter VG 9 (strenges Grünfilter, 3 mm dick) in den Filterhalter. Dieses Filter unterdrückt alle jene Spektralfarben, für die ein achromatisches Objektiv nicht voll korrigiert ist. Weil dabei aber von einer „tonwertrichtigen“ Schwarzweiß-Wiedergabe der Farben und ihrer Abstufungen

nicht die Rede sein kann, muß man überlegen, ob man die Farbtonabstufungen der verbesserten Schärfe opfern kann. Bei farblosen Objekten, wie Schalen von Diatomeen, Radiolarien oder Planktonorganismen spielt das jedoch keine Rolle.

Nun bräuchten wir noch eine Objektivklassen-Tabelle wie die obige für die neuen Unendlichobjektive. Doch sind die Bezeichnungen von Hersteller zu Hersteller derart „individuell“, daß man jedem Interessenten zur Zeit nur raten kann, deren Prospekte aufmerksam zu studieren.

Wer ein **Objektiv auf Schärfe testen und mit einem anderen vergleichen** möchte, sollte beachten, daß mitunter schon geringste Abweichungen von der korrekten Deckglasdicke das Vergleichsergebnis fragwürdig machen, wenn beide Objektive unterschiedliche Aperturen haben. Nicht selten haben z. B. Achromate aus dem früheren Ostblock eine geringere n. A. als das Vergleichsobjektiv und reagieren deshalb auf Deckglasdickenabweichungen weniger stark als jenes. Daß ein Achromat geringerer Apertur bei fehlerhafter Deckglasdicke möglicherweise schärfer und kontrastreicher abbildet als ein Vergleichsobjektiv mit höherer, mag dann zu dem falschen Schluß verleiten, es sei allgemein besser korrigiert und bilde besser ab. Man vergleiche deswegen nur bei korrekter Deckglasdicke.

Als Abschluß dieses Kapitels eine kleine Geschichte, die Kevin Cunningham am 17. April 2002 in der Internet Newsgroup *sci.techniques.microscopy* zum besten gab (Übersetzung vom Verfasser):

„Re: APO, semi-APO, ACHRO – was wählen?“

„Natürlich liefern Apos ein gutes Bild. Aber auch die anderen Objektive. Es kommt eben darauf an, was du machen willst. Als ich auf einem Kursus bei Carl Zeiss war, betrachteten wir zwei Vergleichsfotos, die mit einem 40er Apo und mit einem 40er Achromaten aufgenommen waren. Das Apo-Bild war großartig, Auflösung, Kontrast – einfach perfekt. Ein weiteres Bild desselben Objekts war wiederum mit dem Apo aufgenommen, aber mit einem Fingerabdruck auf der Frontlinse des Apos. Ergebnis? Die Aufnahme mit dem Achromaten war im Vergleich weitaus besser. Zunächst kommt es also darauf an, wie man die Objektive behandelt.

Apos haben zwar eine hohe Apertur, aber nur einen geringen Arbeitsabstand. Das bedeutet, daß man bei einem 40er Trockenapo eine Deckglaskorrektureinstellung benötigt, weil es eine n. A. über 0,8 hat. Deshalb sind Apos in der Regel damit ausgestattet.

Nun aus dem wirklichen Leben. Ich habe früher Mikroskope verkauft, Olympus um genau zu sein. Vor vielen Jahren verkaufte ich einem jungen Doktoranden ein Olympus BHA, der mir sagte, er brauche Apos. Er beobachtete Gehirnschnitte und Nervenveränderungen, was ziemlich dicke Schnitte erfordert. Ein 40er Apo konnte das einfach nicht schaffen. Die oberste Schicht konnte scharf eingestellt werden, und das Bild war erstklassig, aber man konnte nichts unterhalb der obersten Schicht sehen. Ich verkaufte ihm schließlich einen 40er Achromaten. [Der Arbeitsabstand des Apos war zu gering, um auf die darunter liegenden Schichten zu fokussieren.]

Die Hersteller wollen wirklich niemanden übers Ohr hauen, aber sie setzen voraus, daß man selbst weiß, was man tut und was man braucht.“

#### 2.3.3.4 Objektiv-Gravuren

##### Frage

Was bedeutet die Gravur 0,17 auf der Fassung meines Objektivs?

##### Antwort

Durchlichtobjektive sind so berechnet, als wäre ein auf dem Präparat liegendes Deckglas von genau 0,17 mm Dicke die erste Linse des Objektivs. Das macht man seit über 100 Jahren so. (Meopta Prag jedoch und manche japanischen Hersteller früher 0,18 mm.) Ein so graviertes Objektiv liefert nur dann ein scharfes und kontrastreiches Bild, wenn das Präparat auch mit einem solchen Deckglas bedeckt ist.

Ein Deckglas soll jedoch nur dann genau 0,17 mm dick sein, wenn das Präparat direkt an der Unterseite des Deckglases anliegt. Befindet sich zwischen dem Präparat und der Deckglasunterseite noch Einschlußmittel, z. B. Glyzeringelatine, ein Balsam oder Wasser (bei Lebenduntersuchungen), so muß dessen Schichtdicke zur Deckglasdicke hinzu gerechnet werden. Das Deckglas sollte dann also um diese Schichtdicke dünner sein. Siehe auch Kapitel 5.2 *Objekttträger und Deckgläser*.

Je höher die Objektivapertur, desto stärker reagiert das Objektiv bei Abweichungen von der vorgeschriebenen Deckglasdicke mit flauer bis unscharfer Abbildung.

Objektive, bei denen die Angabe 0,17 fehlt oder „-“ lautet oder „o. D.“, können mit oder ohne Deckglas benützt werden.

### Andere Gravurangaben in alphabetischer Reihenfolge

—	(ein Strich) mit oder ohne Deckglas verwendbar.
∞	(liegende Acht) Das Zeichen für „unendlich“. Kennzeichen für ein Unendlichobjektiv.
0,... oder 1,...	numerische Apertur (n. A.).
160 oder 170	mechanische Tubuslänge, für die das Objektiv berechnet ist.
40:1	Abbildungsmaßstab für ein herkömmliches Endlichobjektiv.
40x	Vergrößerungsangabe auf einem Unendlichobjektiv.
A	Objektiv ohne chromatische Vergrößerungsdifferenz.
Apo	Apochromat (höchste Korrektionsstufe).
C	Objektiv mit chromatischer Vergrößerungsdifferenz.
D	mit Deckglas zu verwenden.
DO	mit oder ohne Deckglas zu verwenden.
FL, FI	Fluoritobjektiv (auch Halbapochromat genannt)
H	Heiztischobjektiv.
HD	Auflichtobjektiv für Hell-Dunkelfeld.
HI	homogene Immersion (Jena).
Iris	Objektiv mit eingebauter Irisblende (für Dunkelfeldbeleuchtung)
Korr	Korrektionsfassung. Mit einem Rändelring lassen sich die Linsengruppen des Objektivs im Innern so gegeneinander verschieben, daß von der Norm 0,17 mm abweichende Deckglasdicken ausgeglichen werden können. Die Handhabung solcher Korrektionsobjektive ist diffizil und erfordert viel Sorgfalt und Aufmerksamkeit; außerdem sind sie teuer.
L,	LD Long Distance. Objektive mit besonders großem Arbeitsabstand z. B. für umgekehrte Planktonmikroskope, mit denen man anstatt durch ein 0,17 mm dünnes Deckglas durch das ca. 1 mm dicke Bodenglas einer Planktonkammer beobachtet.
NPL, Npl	Planobjektiv für normales Gesichtsfeld von 18 mm Durchmesser (Leitz).
O, o. D.	Verwendung ohne Deckglas z. B. (für Bakterien- oder Blutausstriche) oder bei Objektiven für ein Auflichtmikroskop, z. B. ein Metallmikroskop.
Öl, Oel, Oil / G, Gl, Glyz / W	verwendbare Immersionsflüssigkeit Öl / Glycerin / Wasser.
P	(Polarisation) Objektiv mit spannungsfrei gefaßten Linsen.
(P)	bedingt spannungsfrei, d. h. für Polarisationsmikroskopie bedingt geeignet.
Ph, Phako	Phasenkontrastobjektive (bei Olympus auch PL oder anders).
Phv	Objektiv für veränderlichen Phasenkontrast nach PLUTA (PZO).
PL	Phasenkontrast (Low); Olympus.
Pol, POL	Polarisation. Objektive, die sorgfältig spannungsfrei gefaßt sind.
Pv	Phasenkontrast nach Heine (Leitz).
Q	Quarzglas.
WI	Wasserimmersion (Jena).

### 2.3.3.5 Empfehlenswerte Objektivausstattung

Lesen Sie hierzu auch das anschließende Kapitel 2.3.3.6 *Besondere Objektive für Wasserorganismen?* Die dortigen Empfehlungen gelten im Grunde auch für ein Allgebrauchsmikroskop, zumindest in den Anfangsjahren und wenn man keine Untersuchungen plant, für die hochkorrigierte oder besondere Objektive, wie spannungsfrei gefaßte, Heitzischobjektive o. ä., erforderlich sind.

Auch wer es sich als Anfänger leisten kann, besser korrigierte Objektive zu kaufen, sollte sich das gründlich überlegen. Bis man mit dem Mikroskop ganz vertraut ist, unterlaufen einem bestimmt die meisten der typischen Anfängerfehler, bei denen durchaus auch ein Objektiv zu Schaden kommen kann. Wozu sollte denn das kleine Quentchen an zusätzlicher Auflösung eigentlich dienen, wenn man zunächst noch gar nicht weiß, was man sehen will und worauf dabei zu achten ist? Es ist auf jeden Fall weniger kostspielig, die ersten Gehversuche mit den robusten Achromaten zu machen. Sie sind heute in der Regel von so guter Qualität, daß der Wunsch nach höher korrigierten Systemen nicht so bald aufkommt.

Wer fleißig in der Mikrofibel gelesen hat oder in einem Lehrbuch der Mikroskopie, wird es wissen, aber es sei trotzdem noch einmal gesagt: Die wichtigsten optischen Leistungsmerkmale sind einerseits das farbreine, brillante, kontrastreiche Bild (im Hellfeld) und andererseits das Auflösungsvermögen. Gut konstruierte, einwandfrei und robust gefertigte, sorgfältig justierte Objektive und Okulare vorausgesetzt, hängt das Auflösungsvermögen nur vom Öffnungswinkel, d. h. von der numerischen Apertur (Lichtstärke) des Objektivs ab. Das Ausmaß der Vergrößerung ist zweitrangig und richtet sich nach den Objekten, die beobachtet werden sollen oder anderen praktischen Erwägungen. Die erzielte **Gesamtvergrößerung** ist **kein Qualitätsmerkmal** eines Mikroskops.

Ein besonderes Kapitel ist die Verwendung von Phasenkontrastobjektiven im Hellfeld. Ihre Brauchbarkeit auch für die normale Hellfeldbeleuchtung wird zwar oft beschworen, doch selten wird dabei klar, was diejenigen, die solche Aussagen machen, damit genau meinen, wenn Formulierungen verwendet werden wie „mit kaum merklichen Qualitätseinbußen auch im Hellfeld brauchbar“. Näheres dazu unter 2.6.5 *Phasenkontrast*.

### 2.3.3.6 Besondere Objektive für Wasserorganismen?

#### *Frage*

Brauche ich für die Beobachtung von Wasserorganismen („Plankton“ usw.) besondere Objektive? Welche Ausrüstung ist zweckmäßig? Ist **Phasenkontrast** besser?

#### *Antwort*

Einfach aufgebaute, preiswerte, gute **Hellfeld-Achromate** mit normalen Aperturen (am besten von einem namhaften Hersteller) sind zunächst alles, was man braucht. Für Wasserorganismen empfiehlt sich ein Suchobjektiv 2,5 bis 4 :1; ein 10:1, n. A. 0,22 bis 0,30; ein 40:1, n. A. 0,65. Eine Ölimmersion 100:1, n. A. 1,25 bis 1,30 ist vorerst nicht erforderlich. Wenn noch Geld übrig ist, wäre ein 20 oder 25:1 erwägenswert. Das ist übrigens auch ein sehr praktischer Abbildungsmaßstab für die Fotografie.

60er oder 80er Objektive haben eine höhere num. Apertur, so um 0,80 bis 0,95, doch reagieren Trockenobjektive mit so hoher Apertur äußerst empfindlich auf Abweichungen von der vorgeschriebenen Deckglasdicke. Unter Umständen bekommt man überhaupt kein scharfes und kontrastreiches Bild, wenn man die Dicke der Deckgläser nicht einzeln ausmißt und nur die passenden verwendet. Aus diesem Grunde eignen sich auch qualitativ höherwertige Objektive mit hoher Apertur (Fluoritobjektive oder Achromate) weniger als man vermuten könnte. Aber ein 25er Fluoritsystem mit einer n. A. zwischen 0,45 und 0,55 und ein 40er Fluorit mit 0,75 sind gut brauchbar und geben sehr farbreine und kontrastreiche Bilder. Das 40/0,75 reagiert aber schon recht deutlich auf falsche Deckglasdicke!

Anfänger ohne Erfahrung sollten sich zunächst an die preiswerten und robusten Achromate halten. Planobjektive sind ebenfalls nicht erforderlich, meist noch nicht einmal für die Mikrofotografie. Das kann man ausführlich nachlesen auf der MVM-Homepage im Aufsatz: *Planobjektive - wozu eigentlich?*

Zu Phasenkontrastobjektiven siehe Kapitel 2.6.5 *Phasenkontrast*.

Gelegentlich werden Immersionsobjektive für das Immersionsmittel Wasser angeboten. Daß sie besonders gut für die Beobachtung von „Wasserorganismen“ geeignet seien, ist als allgemeine Aussage nicht richtig. Jedenfalls haben sie in bakterienverseuchtem Tümpelwasser nichts zu suchen. Es gibt Bakterien, die den Linsen kitt zum Fressen gern haben.

Long-Distance-Objektive (Gravur LD oder auch L) werden für umgekehrte Planktonmikroskope angeboten. Sie haben lange Brennweiten und deshalb einen besonders großen Arbeitsabstand (und geringere Aperturen), damit man mit ihnen Planktonkammern mit dickem Glasboden von unten durchsuchen kann. Man braucht für sie auch einen LD-Kondensator mit langer Schnittweite. Für ein aufrechtes Durchlichtmikroskop sind sie nicht zweckmäßig.

### 2.3.3.7 Objektivgewinde

Das sogenannte englische oder Society-Gewinde, das von der *Royal Microscopical Society* in London 1856 eingeführt und 1936 nochmals neu beschrieben wurde hat die Maße: W 0,8" x 1/36", (ca. 20,32 mm x 0,705 mm). Es wird international als Quasi-Norm für „biologische“ Lichtmikroskope mit Endlichtoptik akzeptiert. Für andere Mikroskope werden aber auch abweichende Gewinde verwendet.

Beispiel für Objektivgewinde für unendliche Tubuslänge Durchlicht: M 19 x 0,75.

Beispiel für Objektivgewinde für unendliche Tubuslänge Auflicht: M 30 x 0,75 mm.

### 2.3.3.8 Abgleichlänge und Parfokalität

Beim Kauf muß man die **Abgleichlänge** der Objektive beachten. Bevor Zeiss-Winkel 1948 die Objektivabgleichlänge von 45 mm einführt, waren meist solche von 36 (Meopta) und 37 mm (z. B. Leitz, Reichert, Wild-Heerbrugg, Olympus) üblich. Das sind teilweise Zirkawerte, genaue Angaben enthält die Tabelle im Kapitel 2.4.2 *Objektiv-Kompatibilität*.

Nach 1950 haben die meisten Hersteller irgendwann, manchmal erst Ende der siebziger Jahre, die Abgleichlänge von 45 mm übernommen.

Die Einhaltung der Abgleichlänge ist wichtig für die Parfokalität und die Bildqualität. Zwischen der mechanischen Tubuslänge (160 oder 170 mm) und der Objektivabgleichlänge bestehen optisch-gesetzmäßige Beziehungen. Objektivabgleichlänge und mechanische Tubuslänge müssen stets zusammen betrachtet werden, weil von ihnen die Lage des Zwischenbildes im Tubus und damit auch die Abgleichlänge der Okulare abhängt.

#### Parfokalität

Nach einem Vorschlag von Prof. A. KÖHLER, wissenschaftlicher Mitarbeiter bei Zeiss Jena, von dem auch die Köhlersche Beleuchtung stammt, hat Zeiss 1911 den Objektivabgleich eingeführt. Was ist das? Die eingestellte Schärfenebene soll erhalten bleiben, wenn Okulare im Tubus oder Objektive am Revolver gewechselt werden. Das Objekt soll nach dem Objektivwechsel nicht optisch „verschwinden“, sondern idealerweise so scharf wie zuvor, aber mindestens noch so deutlich erkennbar sein, daß eine winzige Drehung am Knopf der Feinfokussierung genügt, um die vorherige Schärfenebene wieder einzustellen. Das erfordert, daß die Entfernung zwischen dem Objekt und dem Zwischenbild im Tubus konstant gehalten wird. Damit das bei bestimmter mechanischer Tubuslänge erreicht wird, muß die Fassung des Objektivs je nach seiner Brennweite entsprechend bemessen werden. Die Länge der Fassung muß so gewählt sein, daß bei konstanter Entfernung zwischen Objektebene und der unteren Fläche des Tubus bzw. Revolvers, an den sich das Objektiv beim Anschrauben anlegt – Objektivanschraubfläche – das Linsensystem so zu liegen kommt, daß das Zwischenbild unabhängig von der Objektivbrennweite immer an derselben Stelle im Tubus entsteht. Das Maß zwischen Objektebene und Objektivanschraubfläche ist die Abgleichlänge des Objektivs, die bei allen Objektiven für ein bestimmtes Mikroskopmodell exakt gleich sein muß. Dann sind die Objektive „parfokal abgeglichen“.

Selbstverständlich muß dann auch jedes Okular so gefaßt sein, daß die Linsen beim Einstecken in den Tubus so stehen, daß das Zwischenbild immer in seinen Objektbrennpunkt bzw. seine Objektbrennebene fällt. Diese vom oberen Tubusrand gemessene Größe ist die Abgleichlänge des Okulars.

Sind die Grundbedingungen eingehalten, nämlich konstante Tubuslänge, z. B. 160 mm nach DIN 58887, sowie die richtige Objektiv- und die richtige Okularabgleichlänge, so stimmt die „parfokale“ Abstimmung, wenn – ja wenn

- der Mikroskopiker „rechtsichtig“ ist, also keinen Augenfehler hat, den er anstatt mit seiner Fernbrille mit einer Verstellung der normalen Scharfeinstellung ausgleicht: dann stimmt nämlich die Tubuslänge nicht mehr;
- und wenn er außerdem mit entspanntem Auge mikroskopiert (Augeneinstellung auf „Unendlich“, siehe Aufsatz *Das Luftbild im Fadenkreuz* auf der Homepage der MVM.



Bei mäßiger Kurz- oder Weitsichtigkeit, kann man zwar die Okulare korrigierend einstellen, wenn sie oder der Tubus ein Fokussiergewinde haben, doch geht dabei der saubere Abgleich mehr oder weniger verloren. Da ist es dann besser, mit der Fernbrille zu mikroskopieren, dann stimmt alles wieder.

### 2.3.3.9 Objektive „nach DIN“?

#### Frage

Wenn ich ein Mikroskop mit DIN-Objektiven kaufe, liege ich dann **qualitätsmäßig** und von der **Kompatibilität** her (verschiedene Hersteller am selben Mikroskop) auf der „sicheren Seite“?

*Antwort (unter weitgehender Verwendung eines Textes von G. Göke, Hagen)*

Keineswegs. Einige Anbieter von Mikroskopen geben an, ihre Mikroskope bzw. deren Objektive und Okulare seien „nach DIN“. Mit der Qualität von Objektiven und Okularen oder mit einer „Kompatibilität“ hat DIN jedoch überhaupt nichts zu tun.

Zunächst zum Objektivgewinde, das ja eine Grundvoraussetzung für die Austauschbarkeit ist. Mikroskope sind entweder für Objektive mit *endlicher* Bildweite oder für solche mit unendlicher Bildweite konstruiert.

**Endlichobjektive** haben allgemein das sogenannte englische Schraubgewinde W 0,8 " x 1/36 " (ca. 20,32 mm x 0,705 mm). Dieses Gewindemaß wurde von der *Royal Microscopical Society* 1856 vorgeschlagen und 1936 nochmals beschrieben. Seit 1979 existiert ein DIN-Normblatt 58888, das dieses Gewinde beschreibt und seine Anwendung empfiehlt, soweit nicht technische Gründe dagegen sprechen.

Bei **Unendlich-Objektiven** ist das nicht unbedingt genau so. Beispielsweise hatten alle Mikroskope 250-CF aus Jena ab 1982 das Gewinde M 25x0,75 und davor das Gewinde M 19x0,75. Für die Hell-/Dunkelfeldobjektive (HD-Objektive) wurde das Gewinde M 30x0,75 verwendet. Beim Kauf auf Börsen und Trödelmärkten muß man das beachten.

Bei manchen Mikroskopen müssen die Objektivanschlüsse einen größeren Durchmesser haben, z. B. bei den Auflicht-Dunkelfeldobjektiven (z. B. von LOMO). Auch die Objektive der Serie *Eclipse* von Nikon verlangen relativ große Gewindedurchmesser.

Das vom Objektiv erzeugte reelle Zwischenbild entsteht in einer genau berechneten Entfernung vor dem oberen Tubusrand. Den Abstand dieses Zwischenbildes von der Okular-Auflagefläche des obersten Tubusrandes nennt man auch **Okularabgleichlänge**. Dieser Wert ist (war) bei den einzelnen Herstellern unterschiedlich groß. Bei den Mikroskopen aus Jena betrug er 13 mm (nach Normblatt TGL 33750/04). Bei Leitz 18, Reichert 9, Lomo 12,5, Wild 9, Zeiss Oberkochen und PZO 10 mm usw. Nach DIN 58887 beträgt er seit 1980 10 mm. Das reelle Zwischenbild liegt also bei Mikroskopen, die seit 1980 nach DIN 58887 konstruiert wurden (bei Zeiss Oberkochen seit 1950) 10 mm unterhalb, oder vom Objektiv aus betrachtet 10 mm vor dem oberen Tubusrand, dort holt es sich das Okular ab und vergrößert es, damit das Auge die Details sehen kann. Nach DIN 58887 beträgt also die Okularabgleichlänge 10 mm.

Zweitens beträgt nach DIN 58887 die **Objektivabgleichlänge** 45 mm, das ist die Entfernung von der Objektebene bis zur Objektivanlagefläche am Revolver. Und drittens ist nach DIN 58887 die **mechanische Tubuslänge** 160 mm.

Auch die mechanische Tubuslänge war nicht bei allen Herstellern gleich. Bei Leitz (alt) 170 mm, bei vielen anderen hessischen Herstellern wie Seibert, Kaps, Hertel & Reuss, Beck, sowie bei Meopta Prag und ROW Rathenow ebenfalls 170. 160 mm hatten bzw. haben Zeiss Oberkochen und Jena, PZO, Reichert, Wild, Will, Lomo, Olympus, Bausch & Lomb, American Optical, Watson, Vickers, Nacet.

Aus den Angaben für die Abgleichlänge der Objektive (z. B. 45 mm), der Okulare (10 mm) und der mechanischen Tubuslänge (z. B. 160 mm) kann die Objekt-Bild-Entfernung ermittelt werden:

Nach TGL 33750/4 (nach VEB Zeiss Jena)	$45 + 160 - 13 = 192$ [mm]
Nach DIN 58887 (nach Carl Zeiss Oberkochen)	$45 + 160 - 10 = 195$ [mm]
Leitz Wetzlar	$45 + 170 - 18 = 197$ [mm]

Wenn man die Parameter anderer Hersteller einsetzt, kommt man auf ganz andere Objekt/Bild-Entfernungen. Für die optimale Nutzung der Leistung von Objektiven, besonders der starken und „hochgezüchteten“ Fluoritsysteme und Apochromate, ist die Kenntnis dieser Zahlen wichtig.

Findet man als Gravur auf einem Objektiv oder Okular (meistens auf einem ausländischen) die Angabe „DIN“, so meint der Hersteller damit die DIN 58887 und die DIN 58888 (nur steht das nicht ausdrücklich auf dem Objektiv oder Okular).

Obwohl alle namhaften Hersteller auf der ganzen Welt seit 1980 ihre Mikroskope an die DIN-Norm 58887 angepaßt haben, besagt die Angabe „nach DIN“ also nichts in Bezug auf die optischen Eigenschaften bzw. auf die Austauschbarkeit von Objektiven oder Okularen unterschiedlicher Hersteller.

Man sollte Okulare und Objektive immer vom selben Hersteller nehmen, sonst stimmt die optische Abstimmung nicht. Siehe 2.3.1 *Das Gesamtsystem Objektiv + Okular* und 2.4.2 *Objektiv-Kompatibilität*.

Bei **Unendlich-Objektiven** verhält sich das anders, DIN 58887 ist nicht anwendbar. Hier entwirft das Objektiv das Bild nicht in einer bestimmten Entfernung im Tubus, wo es vom Okular aufgenommen wird, sondern im Unendlichen, und eine spezielle Tubuslinse projiziert das Bild dorthin, wo es vom Okular aufgenommen wird, z. B. 10 mm unterhalb des oberen Tubusrandes. Eigenschaften und Anordnung der **Tubuslinse** sind bei den einzelnen Herstellern aber unterschiedlich, ebenso die Aufteilung der Korrektionsmerkmale zwischen Objektiv und Tubuslinse. Deshalb sind Unendlichobjektive verschiedener Hersteller grundsätzlich nicht untereinander austauschbar. Die Einführung der Unendlichoptik bei den Top-Herstellern hat also an der prinzipiellen **Inkompatibilität** der optischen Bauteile zwischen den Herstellern nichts geändert.

### 2.3.4 Okulare

Das Okular ist seiner Funktion nach eine spezielle Lupe, mit der man das vom Objektiv entworfene Zwischenbild so weit vergrößert, daß das Auge des Benutzers die Einzelheiten dieses Bildes leicht erfassen und betrachten kann. Details, die im Zwischenbild nicht enthalten sind, z. B. weil das Objektiv sie nicht aufgelöst hat, kann ein Okular nicht sichtbar machen.

Wenn die Gesamtvergrößerung 500 mal größer ist als die numerische Apertur des benutzten Objektivs, so wird im allgemeinen das menschliche Auge alle von Objektiv abgebildeten Einzelheiten wahrnehmen. Zur bequemen Beobachtung ist es ratsam, mit der Vergrößerung etwas weiter zu gehen. Im menschlichen Auge sind gewisse variable Unterschiede vorhanden. Eine gröbere Verteilung der lichtempfindlichen Elemente in der Netzhaut verlangt eine verhältnismäßig höhere Vergrößerung eines Bildes, um seine Einzelheiten zu erkennen. Ein ungeübter Beobachter kann wohl stets Einzelheiten des Bildes leichter erkennen, wenn die Vergrößerung etwas über den Wert hinausgeht, den ein geübter Mikroskopiker als angemessen betrachten würde. Auf jeden Fall ist die obere Grenze förderlicher Vergrößerung bei subjektiver Betrachtung erreicht, wenn sie etwa das 1000fache der  $n. A.$  des benutzten Objektivs beträgt. Dem entsprechend wäre die zulässige Gesamtvergrößerung für ein Objektiv mit der  $n. A.$  von 0,65 ungefähr 650fach.

Diese *nutzbare* Vergrößerung bestimmt den Wert eines Mikroskops, nicht die technisch *mögliche* Vergrößerung.

Dagegen ist es bei Messungen und Zählungen oft erwünscht, über die Grenze der nutzbaren Vergrößerung hinaus zu gehen. In solchen Fällen kommt es aber nicht auf feinste Einzelheiten an, sondern nur darauf, kleine Intervalle oder Teilchen bequem zu überblicken.

Es gibt Huygenssche, Kellnersche, orthoskopische, oder Kompensationsokulare, Großfeld-, Weitfeld- und Weitwinkelokulare, Strichplatten-, Meß-, Zähl-, Zeichen- und Fotookulare.

Huygensokulare, die konstruktiv einfachsten, werden heute kaum noch gebaut. Man braucht sie in der Regel nicht mehr. Sie gleichen den Farbvergrößerungsfehler der Objektive nicht aus. Deshalb sind sie nur zusammen mit schwächer vergrößernden Objektiven geeignet (3,2 bis 10:1), bei denen der Farbvergrößerungsfehler nicht ins Gewicht fällt. Ist in diese Objektive jedoch ein Farbvergrößerungsfehler absichtlich hineinkonstruiert worden, so müssen auch sie ebenso wie die anderen Objektive mit **Kompensationsokularen** kombiniert werden.

Bei Mikroskopen mit **Unendlichoptik** studiere man den Herstellerprospekt und verwende keinesfalls andere Okulare als diejenigen, die der Objektivhersteller für diese Objektive vorgesehen hat.

Ein qualitativ gutes Bild sieht man nur, wenn man Okulare verwendet, die der Objektivhersteller ausdrücklich für die jeweiligen Objektive empfiehlt. Man ist also keineswegs frei in der Auswahl. Wenn man sich nicht wirklich sehr genau mit allen Okular-Optionen seines speziellen Fabrikats auskennt, verzichte man auf vermeintliche Schnäppchen bei Gebrauchthändlern, auf Fotobörsen oder Trödelmärkten. Ein ungeeignetes Okular kann den ganzen Rechen- und Konstruktionsaufwand, den der Objektivhersteller getrieben hat, zunichte machen.

Gute Allround-Weitwinkel- oder -Weitfeldokulare haben ein ausreichendes Gesichtsfeld von mindestens 18 mm Durchmesser, kleiner sollte es heutzutage nicht sein. Das ist auf der Fassung graviert, z. B. WF 10x / 18 Br. Beim Kauf achte man darauf, daß es sich um Okulare handelt, die für **Brillenträger** geeignet sind, was in der Gravur mit B, Br oder einem Brillensymbol bezeichnet ist. Bei den Brillenträgerokularen liegt die Austrittspupille so weit oberhalb der Okularfassung, daß zwischen Auge und Okular noch ein Brillenglas paßt. Die meisten Hersteller liefern auch Gummi- oder Plastikstülpringe, die man zur Schonung der Brillengläser auf die Okularfassung setzen kann. Ein Okular ohne eine entsprechende Gravur ist kein Brillenträgerokular, aber auch eines mit Gravur nicht immer ein gutes. Den diesbezüglichen Versicherungen des Verkäufers vertraue man nicht blindlings, sondern probiere das vor dem Kauf aus! Manche Hersteller legen den Begriff Brillenträgerokular, ebenso wie die Angabe des Gesichtsfelddurchmessers, recht großzügig aus.

Okulare mit größeren Sehfelddurchmessern als 20 mm sind nur in besonderen Anwendungsfällen erforderlich. Bei 25 mm könnte man sogar eine gewisse Grenze setzen. Einerseits lassen sich noch größere Sehfelddurchmesser nur mit Großfeldtuben mit größeren Okulardurchmessern realisieren, was teuer ist, andererseits darf man bezweifeln, daß solche großen Gesichtsfelder in der allgemeinen Mikroskopie einen Nutzen stiften. Man kann ein so großes Gesichtsfeld nämlich gar nicht mehr ohne Mühe und ohne

ständige Kopfbewegungen überblicken. Sehfelder über 18 mm Durchmesser können ihren Vorteil auch nur dann ausspielen, wenn sie mit Planobjektiven kombiniert werden.

*Frage*

Brauche ich für die **Mikrofotografie** ein besonderes Okular?

*Antwort*

Nicht unbedingt. Siehe 4.4.2.3 *Anpassung von Mikroskop und Kamera*.

## 2.4 Umrüstung von Mikroskopen mit fremden Bauteilen

### 2.4.1 Tubus-Kompatibilität

Siehe hierzu auch 2.4.2 *Objektiv-Kompatibilität*.

Beim Gebrauchtkauf von Beobachtungstuben muß man aufpassen. Es ist durchaus möglich, einen Meopta-Tubus auf ein Mikroskop von VEB Zeiss Jena zu setzen, denn die Ringschwalben waren bei Lomo, Zeiss Jena, Meopta und Euromex die gleichen oder doch zumindest sehr ähnlich. Doch ist damit keineswegs sichergestellt, daß die mechanische Tubuslänge eingehalten wird, denn der Weg der Lichtstrahlen kann unterschiedlich lang sein, je nach Anordnung und Bauart der Prismen im Tubuskopf bzw. Binokular. Das kann der Laie praktisch nicht nachmessen.

Lomo und Zeiss hatten 160, Meopta aber 170 mm Tubuslänge.

Es genügt also beispielsweise nicht, die Ringschwalbe an ein anderes Mikroskop anzupassen. Es ist nicht garantiert, daß dabei die Tubuslänge erhalten bleibt. Auch wenn sie nur wenig abweicht, führt das zu einem Abstimmfehler, der bei „hochgezüchteten“ Objektiven deutlich in Erscheinung tritt.

Lediglich die Tuben und Okulare, wie auch die Objektive des Zeiss Standard (Oberkochen) und die von PZO sind austauschbar, da die mechanische Tubuslänge und die Zwischenbildlage dabei erhalten bleibt.

### 2.4.2 Objektiv-Kompatibilität

(Mit freundlicher Genehmigung von Gerhard GÖKE, Hagen, aus: Göke, G.: Methodensammlung Lichtmikroskopie: M 39, Blatt 1-5; Anwendungsbereich: Alle Mikroskope mit Endlich-Optik.)

Bastelfreudige Hobby-Mikroskopiker finden auf Fotobörsen und Flohmärkten manchmal preiswerte Objektive, Okulare, Kondensoren und Tuben, die sie an ihr Mikroskop anpassen möchten. Dabei wird häufig übersehen, daß die Mikroskophersteller zum Teil sehr unterschiedliche Anpassungsmaße bevorzugen und daß zwischen der mechanischen Tubuslänge und den Objektiv- und Okularabgleichlängen gesetzmäßige Beziehungen bestehen, deren Nichtbeachtung zur Bildverschlechterung führen kann. Die Leistung hochwertiger Objektive wird durch eine falsche Anpassung vermindert. In diesem Beitrag werden die Zusammenhänge zwischen mechanischer und optischer Tubuslänge einerseits und der Objektiv- und Okularabgleichlänge andererseits allgemeinverständlich erklärt. Die Tabelle soll den Mikroskopiker über die möglichen Anpassungsmaße informieren. Mit Hilfe der Formeln kann er im Bedarfsfalle die Abweichungen von den Sollwerten selbst berechnen und deren eventuelle negative Auswirkungen beurteilen.

Als **mechanische Tubuslänge**  $t_{\text{mech}}$  des Mikroskops bezeichnet man die Entfernung zwischen der Anschraubfläche  $A_f$  des Objektivs am unteren Tubusrand bzw. am Objektivrevolver und dem oberen Tubusrand  $T_r$  (= Auflagefläche der Okulare). Sie kann den technischen Daten in den Prospekten oder Bedienungsanleitungen entnommen werden. Bei den meisten Mikroskopen mit endlichem Strahlengang beträgt sie heute 160 mm. Ältere Mikroskope verschiedener Hersteller aus Kassel und Wetzlar, z.B. Leitz, und die heute nicht mehr hergestellten Meopta-Mikroskope aus Prag, haben eine mechanische Tubuslänge von 170 mm. Bei Mikroskopen mit Unendlich-Strahlengang, die wir hier unberücksichtigt lassen, ist eine Angabe der mechanischen Tubuslänge wegen der hier erforderlichen Tubuslinse wenig sinnvoll.

Die Objektivabgleichlänge  $A_{\text{ob}}$  ist die Entfernung zwischen der Objektebene  $O_e$  und der Auflagefläche  $A_f$  des Objektivs am unteren Tubusrand bzw. am Objektivrevolver. Sie beträgt heute bei den meisten Mikroskopen 45 mm und kann an Objektiven, besser Immersionsobjektiven, mit der Schublehre gemessen werden. Die früher in Wetzlar hergestellten Mikroskope mit einer mechanischen Tubuslänge von 170 mm haben Objektive mit einer Abgleichlänge von 37 mm, während die Meopta-Mikroskope bei ebenfalls 170 mm Tubuslänge eine Abgleichlänge von 36 mm haben. Bei älteren japanischen Mikroskopen kann die Objektivabgleichlänge auch bei einer mechanischen Tubuslänge von 160 mm nur 36 mm betragen.

Heute werden aber auch in Japan 45 mm-Objektive hergestellt.

Vor dem zweiten Weltkrieg hatten die Mikroskope von Zeiss Jena bei 160 mm mechanischer Tubuslänge eine Objektivabgleichlänge von 33,65 mm. Die Maße der alten Zeiss-Mikroskope findet man z. T. noch bei russischen Mikroskopen von LOMO, deren übliche Objektivabgleichlänge etwa 33,5 mm beträgt, manchmal aber auch geringfügig davon abweicht.

Mechanische Tubuslänge und Objektivabgleichlänge müssen stets im Zusammenhang gesehen werden, weil die Lage des reellen Zwischenbildes in der Zwischenbildebene  $Z_e$  und die Entfernung zwischen Objektebene  $O_e$  und Zwischenbildebene  $Z_e$  von beiden Maßen abhängig ist (s. hierzu Bild 1).

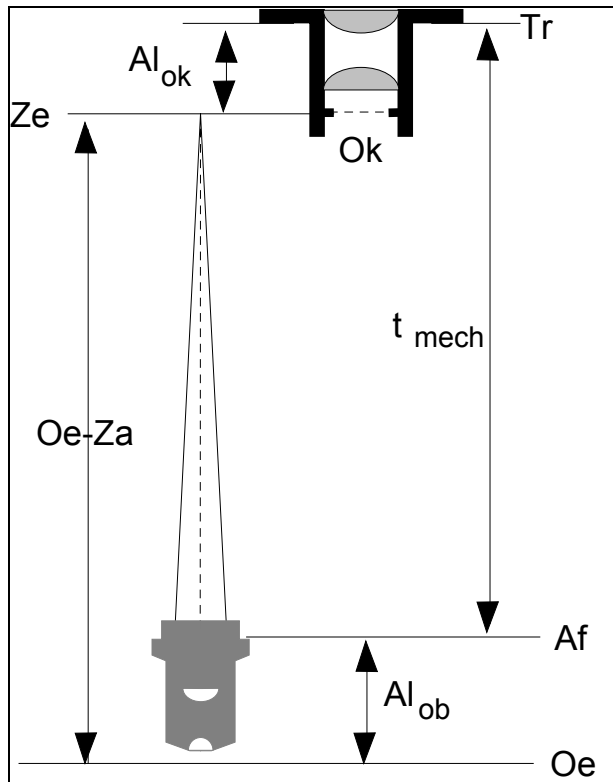


Bild 1.

Zur Definition von Objektivabgleichlänge, mechanischer Tubuslänge und Okularabgleichlänge bei Mikroskopen mit Endlich-Optik. **Oe** Objektebene, **Al<sub>ob</sub>** Abgleichlänge des Objektivs mit endlicher Bildweite, **Af** Auflagefläche des Objektivs am unteren Tubusrand (Revolver), **t<sub>mech</sub>** mechanische Tubuslänge, **Ok** Okular, **Ze** Zwischenbildebene, **Tr** oberer Tubusrand, **Al<sub>ok</sub>** Abgleichlänge des Okulars. (Nach G. Göke, verändert.)

Der Abstand zwischen der Ebene des reellen Zwischenbildes  $Z_e$  und der Okular-Auflagefläche (= oberer Tubusrand  $Tr$ ) wird als Okularabgleichlänge bezeichnet. Diese liegt je nach Hersteller zwischen 9 und 18 mm. Hierdurch ergeben sich Unterschiede in der Entfernung zwischen Objektebene  $O_e$  und Zwischenbildebene  $Z_e$ . Zum Beispiel kann sie bei gleicher Objektivabgleichlänge von 45 mm und gleicher mechanischer Tubuslänge von 160 mm zwischen  $(45 + 160 - 10 =) 195$  und  $(45 + 170 - 18 =) 197$  mm liegen. Haben die Objektive und Okulare andere Abgleichlängen, so hat auch die Objekt-Bild-Entfernung andere Werte, z.B.  $36 + 160 - 10 = 186$  oder, wie bei Meopta  $36 + 170 - 11 = 195$  mm (Bild 1).

**Tabelle 1**

enthält die mechanischen Tubuslängen, Objektivabgleichlängen, Okularabgleichlängen und die daraus resultierende Objekt/Bild-Entfernung (Objektebene - Zwischenbildebene) der bekanntesten Fabrikate.

Hersteller	Mech. Tubuslänge	Objektiv-abgleichlänge	Okular-abgleichlänge	Objekt/Bild-Entfernung
Carl Zeiss, Oberkochen Neueste Baureihen:	160 $\infty$	45	10	195
Zeiss-Winkel, Göttingen ca. 1949-57* seit 1957: Carl Zeiss, Oberkochen)	160	45	5	200
Carl Zeiss Jena alt * VEB Carl Zeiss Jena, ausgelaufen ca. 1992)	160 160	33,65 45	13 13	180,65 192
ROW, Rathenow alt (Busch) * (ausgelaufen ca. 1992)	170	33,62	13,7	189,92
ASKANIA, Rathenow (neu) *	160	45	10	195
Ernst Leitz, Wetzlar ältere Mikroskope ab ca. 1980 Neueste Baureihen (Leica)	170 170 160 $\infty$	4537 (36,86*) 45	18 18 10	197 189 195
W. Will, Nauborn bei Wetzlar * Will neu und Helmut Hund *	160 160	37 45		
C. Reichert, Wien (ältere Modelle) größere Modelle * ausgelaufen, heute Leica	160 $\infty$	37	13* (9?)	184 (188?)
PZO (Polnische Optische Werke)	160	45	10	195
LOMO, St. Petersburg	160	33,5 / 32,3	12,5	181 / 179,8
Meopta, Prag (ausgelaufen)	170	36	11	195
Wild, Heerbrugg, Schweiz ausgelaufen, heute Leica	160	37	9	188
Nachet (Sopelem), Paris	160			
Olympus, Tokyo, neuere Baureihen Neueste Baureihen	160 160 $\infty$	36, 65* 45	16 10	180,65 195
Nikon, Japan Neueste Baureihen	160 $\infty$	45		
American Optical Co. (Spencer), Buffalo, USA (heute Leica)	160		11,3	
Bausch & Lomb, Rochester, USA * (heute Leica)	160			

(\* Werte nachgetragen von K. Henkel)

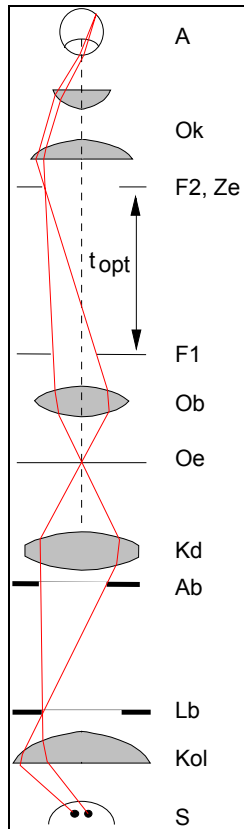


Bild 2. Von unten nach oben:

**S** Lichtquelle, **Kol** Kollektor, **Lb** Leuchtblende, **Ab** Aperturblende, **Kd** Kondensator, **Oe** Objektebene, **Ob** Objektiv, **F1** Fourierebene des Objektivs,  $t_{opt}$  optische Tubuslänge, **F2, Ze** bildseitige Okularbrennweite, Zwischenbildebene, **Ok** Okular, **A** Auge.

Bei Mikroskopen mit Endlich-Optik erzeugt das Objektiv in einer endlichen Entfernung hinter seinem bildseitigen Brennpunkt, der rechnerisch festgelegten optischen Tubuslänge  $t_{opt}$ , ein reelles Bild des Objekts.  $t_{opt}$  ist also die Entfernung zwischen dem bildseitigen Brennpunkt  $F_1$  des Objektivs mit der Brennweite  $f'_{ob}$  und dem objektseitigen Brennpunkt  $F_2$  des Okulars mit der Brennweite  $f'_{ok}$  bzw. zwischen der Fourierebene des Objektivs und der Ebene des reellen Zwischenbildes  $Ze$  (Bilder 1 und 2).

Der Abbildungsmaßstab des reellen Zwischenbildes ist

$$M_{ob} = \frac{-t_{opt}}{f'_{ob}}$$

Die objektseitige Brennweite des Mikroskops,  $f'_{Mikr}$ , wird nach der Formel berechnet:

$$f'_{Mikr} = \frac{f'_{ob} \cdot f'_{ok}}{t_{opt}} = f'_{ob} \cdot \frac{f'_{ok}}{t_{opt}}$$

Die Vergrößerung des Mikroskops ergibt sich aus der Formel

$$V_{Mikr} = M_{ob} \cdot V_{ok} = \frac{250 \cdot t_{opt}}{f'_{ob} \cdot f'_{ok}}$$

Aus diesen drei Formeln geht zweifelsfrei hervor, daß jede Änderung der mechanischen Tubuslänge ohne Korrektur und damit der optischen Tubuslänge  $t_{opt}$  die Brennweite des Mikroskops  $f'_{Mikr}$  und damit den Arbeitsabstand der Objektive und ebenso den Vergrößerungsmaßstab beeinflusst. Die Objektive arbeiten nicht mehr in dem normalen Arbeitsabstand zum Präparat, für den sie berechnet wurden. Diese Abweichungen treten immer dann auf, wenn fremde, evtl. mit Abgleichringen (= Gewinderingen) angepasste Objektive oder fremde Tuben verwendet werden, oder wenn das Mikroskop bei der Mikrofotografie wegen falscher optischer Kameralänge umfokussiert werden muß. Die sphärischen Fehler der optischen Systeme werden hierdurch verstärkt. In gewissen Grenzen sind die Fehler so gering, daß sie vernachlässigt werden können. Je größer die Abweichungen von der rechnerisch festgelegten optischen Tubuslänge durch die Veränderung der mechanischen Tubuslänge werden, um so stärker treten die sphärischen Fehler in Erscheinung.

Mikroskopobjektive sind normalerweise so korrigiert, daß ihre Aberration – und hier speziell die sphärische Aberration – in der Zwischenbildebene  $Ze$  auf ein Minimum reduziert wird, wenn sie mit der bei der Korrektur zugrunde gelegten mechanischen Tubuslänge verwendet werden. Manche Objektive, besonders die Planachromate und die hochaperturigen Apochromate und Planapochromate, sind bei Abweichungen von der Tubuslänge sensibler als andere. Objektive höchster Leistung sind meistens auf eine Genauigkeit der mechanischen Tubuslänge von  $\pm 1$  mm festgelegt. Eine Veränderung der mechanischen Tubuslänge  $t_{mech}$  um den Betrag  $\Delta t_{mech}$  versetzt die Objektebene  $Oe$  um den Wert

$$\Delta Oe = \frac{f'_{ob} \cdot \Delta t_{mech}}{f'_{ob} \cdot M_{ob}^2}$$



Für Trockenobjektive, bei denen bildseitige und objektseitige Brennweite identisch sind ( $f = f'$ ), kann die Formel vereinfacht werden:

$$\Delta Oe = \frac{\Delta t_{\text{mech}}}{M_{\text{ob}}^2}.$$

Ein zu kurzer Mikroskoptubus führt zu einer unterkorrigierten sphärischen Aberration, ein zu langer Tubus zu einer überkorrigierten. In den meisten Fällen wird die defokussierte sphärische Aberration vom Auge des Mikroskopikers nicht wahrgenommen. Als Faustregel kann hier gelten, daß bei achromatischen Objektiven bis zu einer numerischen Apertur von 0,85 eine Differenz der mechanischen Tubuslänge bis zu 7 mm toleriert werden kann.

Nach folgender Formel ändert sich die Maßstabszahl des Objektivs  $M_{\text{ob}}$  um den Betrag  $\Delta M_{\text{ob}}$ , wenn man die Tubuslänge  $t_{\text{mech}}$  um den Betrag  $\Delta t_{\text{mech}}$  ändert:

$$\Delta M_{\text{ob}} = \frac{\Delta t_{\text{opt}}}{f_{\text{ob}}} = \frac{\Delta t_{\text{mech}}}{f_{\text{ob}}}.$$

#### Literatur

Göke, G.: Moderne Methoden der Lichtmikroskopie. Franckh-Kosmos, Stuttgart 1988

Pluta, M.: Advanced Light Microscopy. Amsterdam-Oxford-NewYork-Tokyo 1988.

### Praktische Beispiele

#### Beispiel 1

An ein älteres Leitz-Mikroskop mit der mechanischen Tubuslänge 170 mm soll zusammen mit den vorhandenen Objektiven der Abgleichlänge 37 mm ein Meopta-Objektiv mit der Abgleichlänge 36 mm adaptiert werden. Da die erforderliche mechanische Tubuslänge (170 mm) auch für das Meopta-Objektiv gilt, ist nur ein Distanzring von 1,0 mm erforderlich. Das Ergebnis ist gut.

#### Beispiel 2

Ein älteres Leitz-Mikroskop mit der mechanischen Tubuslänge 170 mm soll zusammen mit den vorhandenen Objektiven der Abgleichlänge 37 mm mit fremden Objektiven ausgerüstet werden, die eine Abgleichlänge von 45 mm haben und für eine mechanische Tubuslänge von 160 mm bestimmt sind. Davon ist abzuraten. Man müßte die Originalobjektive mit Anpassungsringen von 8 mm versehen. Die mechanische Tubuslänge würde jetzt 178 mm betragen. Das 45 mm-Objektiv würde eine Tubuslängendifferenz von 10 mm bewirken. Die eventuell noch tolerierbaren 7 mm würden in beiden Fällen überschritten.

#### Beispiel 3

An ein Mikroskop mit der mechanischen Tubuslänge 160 mm soll zusammen mit den vorhandenen 45 mm-Objektiven ein Objektiv adaptiert werden, das bei einer Abgleichlänge von 36 mm ebenfalls für eine mechanische Tubuslänge von 160 mm bestimmt ist. Man benötigt hierfür einen 9 mm Anpassungsring ( $36 + 9 = 45$  mm). Die Tubuslängendifferenz für dieses Objektiv beträgt 9 mm. Mit sphärischen Bildfehlern muß eventuell gerechnet werden.

#### Beispiel 4

An ein Mikroskop mit der mechanischen Tubuslänge 160 mm soll zusammen mit den vorhandenen 45 mm-Objektiven ein russisches Objektiv adaptiert werden, das eine Abgleichlänge von 33,5 mm hat und ebenfalls für eine mechanische Tubuslänge von 160 mm bestimmt ist. Man benötigt einen 11,5 mm Anpassungsring. Für dieses Objektiv wird die mechanische Tubuslänge um 11,5 mm verlängert. Mit sphärischen Fehlern muß gerechnet werden.

#### Beispiel 5

An ein Mikroskop mit der mechanischen Tubuslänge 160 mm soll zusammen mit den vorhandenen 45 mm-Objektiven ein fremdes Objektiv adaptiert werden, das eine Abgleichlänge von 37 mm hat und für eine mechanische Tubuslänge von 170 mm bestimmt ist. Man benötigt einen 8 mm-Anpassungsring ( $37 + 8 = 45$  mm). Die mechanische Tubuslänge für dieses Objektiv beträgt jetzt  $160 + 8 = 168$  mm. Die Tubuslängendifferenz  $t_m$  beträgt nur 2 mm und ist zu vernachlässigen.

#### Beispiel 6

Ein altes Leitz-Mikroskop mit der mechanischen Tubuslänge 170 mm soll mit 45 mm-Objektiven ausgerüstet werden, die für 160 mm mechanische Tubuslänge bestimmt sind. Die Tubuslänge nimmt um 8 mm zu und würde jetzt 178 mm betragen. Das sind 18 mm mehr, als der Berechnung der 45 mm-Objektive zugrunde liegen. Die Umrüstung sollte besser nicht durchgeführt werden. Das gilt auch für den gleichen Fall bei einem Meopta-Mikroskop. Die Tubuslängendifferenz würde hier 19 mm betragen.

## 2.5 Die Beleuchtungsoptik des Mikroskops

### 2.5.1 Über dieses Kapitel

Die mikroskopische Optik hat in den letzten Jahrzehnten Fortschritte gemacht, die im visuellen Bild wie auch im mikrofotografischen bemerkbar sind. Gleichmäßige Farbdurchlässigkeit, Farbsättigung, Kontrast und besonders bei einfachen Achromaten Randschärfe und Klarheit des Bildes durch neue Glassorten und verbesserte Korrektionsmethoden sind im Vergleich zu früheren Jahrzehnten deutlich verbessert. Bei viellinsigen Systemen wie Planapochromaten und Fluoritobjektiven ist ein Gewinn an Kontrast, Farbsättigung und Brillanz zu verzeichnen, der ihre einstmaligen spezifischen Schwächen vergessen läßt.

Ein gewissen Anteil an diesen Verbesserungen haben die fortentwickelten, mehrfachen Antireflexschichten auf den Linsenoberflächen („Vergütung“), die bei Objektiven für Foto- und Filmkameras seit Jahrzehnten üblich sind. Da nimmt es nicht wunder, wenn gelegentlich die Meinung vertreten wird, solche ingeniösen Einrichtungen wie die *Köhlersche Beleuchtungsanordnung* seien heute nicht mehr erforderlich. Und in der Tat rüsten manche Hersteller ihre Mikroskopmodelle ab, verzichten im unteren Preissegment auf die Köhlersche und verwenden die sogenannte *kritische* oder *Nelsonbeleuchtung*. Auch wenn das mit gewissen Einschränkungen begründbar und akzeptabel ist, so muß doch konstatiert werden, daß bei allen renommierten Herstellern die **Köhlersche Beleuchtung das wesentliche Charakteristikum** der für **Forschung** und **Technik** bestimmten Mikroskopmodelle ist. Da andererseits die Hersteller alle Möglichkeiten der Kosteneinsparung nutzen, wo sie sich nur bieten, muß es doch gewichtige Gründe für die Beibehaltung der Köhlerschen Beleuchtung geben.

Die Mikrofibel ist nicht nur Ratgeberin für den Neukauf moderner Instrumente der unteren Preisklasse, sondern unterstützt auch Käufer von Gebrauchtgeräten der ehemals oberen Preisklassen. Deshalb ist es kein Anachronismus, wenn der Beleuchtungsstrahlengang und die **Köhlersche Beleuchtung** besonders ausführlich behandelt werden. Die Grundlagendarstellung geht dabei weit über die Vermittlung von Fertigkeiten für die korrekte Einstellung der Beleuchtung hinaus. Denn die praktischen Regeln zum Einstellen ihrer Köhlerschen Beleuchtung (wie unter 4.1.5 *Richtig köhlern* beschrieben) genügen vielen Mikroskopikern nicht, sie möchten mehr wissen. Doch auch eine ausführliche Darstellung bleibt unbefriedigend, wenn die Kenntnis der wichtigen optischen Bestandteile des mikroskopischen Strahlengangs unzureichend ist. Zum Verständnis der beiden verflochtenen Strahlengänge der Köhlerschen Beleuchtungsanordnung ist die Kenntnis der Begriffe **Blenden**, **Pupillen** und **Luken** wertvoll. Der Bezug zur Praxis stellt sich spätestens dann ein, wenn die eingehende Kenntnis der Luken und Pupillen hilft, die Ursache von Fehlern im Strahlengang zu finden und zu beseitigen und wenn sie dem Bastler wirkungsvolle Eingriffe in den Strahlengang ermöglicht.

Kein Maßstab kann indessen sein, daß infolge der jüngsten Ausbreitung der „digitalen Mikrofotografie für Jedermann ohne fotografische Vorkenntnisse“, besonders im Internet, wo das scharfe Auge des Verlagslektors und meist auch die Selbstkritik des Bildautors fehlt, die Qualität von Mikroaufnahmen vielfach auf ein inakzeptables Niveau abgesunken ist. Schon finden manche Fachzeitschriften nichts mehr dabei, Mikroaufnahmen abzdrukken, die früher nicht in der engeren Auswahl, sondern als Ausschuß direkt im Papierkorb landeten. Die Wichtigkeit einer optimal eingestellten Beleuchtung schwindet aus dem Bewußtsein von Mikrofotografen. Es ist an der Zeit, sie wieder in den Vordergrund zu rücken.

Der amerikanische Mikrofotografie-Spezialist John Gustav DELLY berichtet aus seiner Branchenerfahrung: "Die richtige Beleuchtung eines Mikropräparates ist die wichtigste Voraussetzung sorgfältiger Mikroskopie und Mikrofotografie. 80 % aller für Wettbewerbe und Ausstellungen eingereichten Mikrofotos werden wegen falsch oder ungenau eingestellter Beleuchtung abgelehnt. Weitere 10 % wegen falscher Einstellung der Aperturblende. Dasselbe gilt für viele veröffentlichte Mikrofotos, leider auch solche in Mikrofotografie-Fachbüchern und wissenschaftlichen Journalen." – Und:

"Die Köhlersche Beleuchtung ist das am meisten angewandte (most common) System für die Durchlicht-Mikrofotografie. Es wird sowohl für die visuelle Arbeit als auch für die Mikrofotografie benützt, weil es die größte Lichtintensität mit gleichmäßiger Ausleuchtung von inhomogenen Lichtquellen ergibt. Dieses Kapitel zur optimalen Beleuchtung ist – wie ganz allgemein die Beleuchtung auf allen Gebieten der Fotografie – der wichtigste Aspekt guter Mikrofotografie. Und deshalb muß man ihn regelrecht *lernen* und *üben*, bis man ihn beherrscht." Und er verwendet in seinem Buch über die Mikrofotografie von ganzen 104 Seiten im Großformat allein 10 Seiten mit 37 Abbildungen für die Erklärung und Einstellung der Köhlerschen Beleuchtung. Der englische Fachmann Douglas LAWSON (1972) drückt es so aus: "Der Vorteil des Köhlerschen Beleuchtungsverfahrens ist, daß die gesamte Fläche der Leuchtfeldblende die gleiche Leuchtdichte (luminance power) hat wie die kleine Leuchtwendel selbst: deshalb wird nur eine Niedervoltlampe

benötigt. Die im Präparat beleuchtete Fläche entspricht derjenigen der Feldblende im Okular. Das holt das Maximum aus dem Beleuchtungsstrahlengang bei gleichzeitiger Minimierung von Streulicht; gleichmäßig durchleuchtete Präparate von maximaler Auflösung sind die besonderen Eigenschaften dieses Beleuchtungsverfahrens." Schon Professor F. SKELL, Altmeister der Mikrofotografie, hat immer wieder betont, daß keine andere Beleuchtungsanordnung für die Mikrofotografie der Köhlerschen gleichkomme: sie sei heller, gleichmäßiger, reflexfreier, kontrastreicher, kühler.

Es ist also nicht abwegig, daß sich die Mikrofibel dem Thema Beleuchtung und der Köhlerschen Beleuchtung im besonderen ausführlich widmet.

### 2.5.2 Eine optische Eselsbrücke

In Wissenschaft und Technik lauert unter so mancher volkstümlichen Erklärung eine Fallgrube, die den Weg zum richtigen Verständnis einer Erscheinung versperrt. So gibt es im deutschen Sprachgebrauch des Alltags den Ausdruck, daß eine Taschenlampe oder ein Scheinwerfer „das Licht“ auf einen kleinen Fleck „konzentriert“. Davon mag es herrühren, daß dieser Ausdruck meist unbedenklich auch auf andere optische Systeme angewandt wird. Und schon sitzen wir in der Falle! Denn diese Vorstellung blockiert förmlich das Verständnis für den Aufbau optischer Instrumente, wie auch der Köhlerschen Beleuchtung am Mikroskop. Wir wollen deshalb eine kleine Eselsbrücke über diese spezielle Fallgrube schlagen.

Der Köhlersche Beleuchtungsstrahlengang besteht aus zwei miteinander verflochtenen Strahlengängen, dem Abbildungs- und dem Beleuchtungsstrahlengang. Da liegt die Vorstellung nahe, die Linsensysteme im Abbildungsstrahlengang hätten die Aufgabe, *Bilder* zu erzeugen, und diejenigen im Beleuchtungsstrahlengang würden das *Licht* transportieren und bündeln. Die Bezeichnungen *Kollektor* und *Kondensor* suggerieren dieses Mißverständnis förmlich. Schon die volkstümliche Erklärung, ein Brennglas verdichtet Licht und Wärme in einem kleinen Punkt, versperrt uns den Zugang. Deshalb merken wir uns ein für alle Mal: Wo immer sich Linsen befinden mögen, sie verdichten, sammeln, kondensieren und konzentrieren nichts. Ihre alleinige Aufgabe ist die Abbildung eines Gegenstands, sie entwerfen ein Bild von ihm.

Ein Brennglas erzeugt das verkleinerte *Bild* der Sonne auf einem Papier. Der Kondensor, ebenfalls ein Linsensystem, entwirft ein *Bild* der Lichtaustrittsöffnung samt Leuchtfeldblende in der Präparateebene, der Kollektor *bildet* die Leuchtwendel der Glühlampe in der Ebene der Kondensorblende ab, ein Projektionsobjektiv entwirft ein *Bild* des Diapositivs in der Bildebene „Leinwand“. Unsere Eselsbrücke lautet deshalb:

*Linsen machen Bilder.*

Wir wollen sie nie mehr vergessen und auch an sie denken, wenn es sich um Linsen im Beleuchtungsstrahlengang handelt. Um so leichter werden wir verstehen, was es mit den Blenden, Luken und Pupillen auf sich hat.

## 2.5.3 Die Strahlenbegrenzung

### 2.5.3.1 Die Blenden im Strahlengang

Die einstellbare Irisblende in einem Kameraobjektiv regelt die Bildhelligkeit so, daß der Film richtig belichtet wird. Bei enger Einstellung wird die Beleuchtungsstärke gedrosselt, bei Erweiterung vervielfacht. Bei Verstellung der Fotoblende wird das ganze Filmbild von der Mitte bis in seine Ecken heller oder dunkler, die Blende schneidet also nicht etwa seitliche Teile ab, engt das Bildfeld nicht ein. Eine solche Blende nennt man **Aperturblende**. Auch die Pupille des menschlichen Auges ist eine Aperturblende mit gleicher Eigenschaft. Beim Fernrohr und Feldstecher ist die Objektivfassung die Aperturblende. Ein einfacher Versuch beweist es. Wenn wir vor das Objektiv eine Blende aus schwarzem Papier halten, so daß die Öffnung zur Hälfte oder drei Vierteln abgedeckt ist, dann ist das beobachtete Bild insgesamt dunkler, aber nicht am Rand beschnitten.

Beim Mikroskop wirkt die Irisblende im oder unter dem Kondensator genau so, sie ist also eine Aperturblende. Doch die Aperturblende im Auge, in der Kamera, am Feldstecher oder am Mikroskop bewirkt noch mehr. Ist sie regulierbar, so verändert sie die Schärfentiefe, die bei weiter Einstellung gering, bei enger aber größer ist. Im fotografischen Bild ist die Schärfentiefe, d. h. der Bereich der Raumbtiefe, der scharf dargestellt wird, ein wichtiges Gestaltungsmittel. Schließt man sie jedoch zu weit, so verliert das gesamte Bild infolge der Lichtbeugung bei kleiner Blende an Schärfe. Dasselbe gilt auch für das Mikroskop. Bei offener Blende ist die Auflösung des Mikroskops am höchsten, die Schärfezeichnung am größten. Beim Schließen der Aperturblende wächst die Schärfentiefe an, wobei sich bei einem durchsichtigen Objekt von gewisser Tiefenausdehnung mehrere Schärfeebenen überlagern und seine Konturen auf diese Weise kräftiger, dicker, fetter machen, so daß sie trotz der gleichzeitigen Abdunklung deutlicher sichtbar werden. (Irrigerweise wird das gemeinhin als Steigerung des Bildkontrasts gedeutet, was jedoch nicht zutrifft, obwohl man es visuell durchaus so empfinden mag.)

Die Strahlenbegrenzung bestimmt auch die Ausdehnung des Bildfeldes. Die Aperturblende kann das jedoch nicht bewerkstelligen, wie gezeigt wurde. Es muß sich also noch eine Blende anderer Art im Strahlengang befinden. Es ist die **Gesichtsfeldblende**. Beim Feldstecher erzeugt sie die schwarze Umrahmung des vergrößert gesehenen Bildausschnitts durch eine Metallblende hinter jedem Okular. Auch in jedem Mikroskopokular ist eine solche Gesichtsfeldblende. Legt man eine Blende aus schwarzem Papier mit einer kleineren Öffnung auf diese Gesichtsfeldblende, so wird das Bildfeld kleiner, ohne daß die Bildhelligkeit abnimmt. Die Gesichtsfeldblende verhält sich also umgekehrt wie die Aperturblende. Bei der Kamera ist das Bildfenster dicht vor dem Film die Gesichtsfeldblende.

**Jedes aus einem Objektiv und einem Okular zusammengesetzte optische Instrument besitzt grundsätzlich eine Aperturblende und eine Gesichtsfeldblende.**

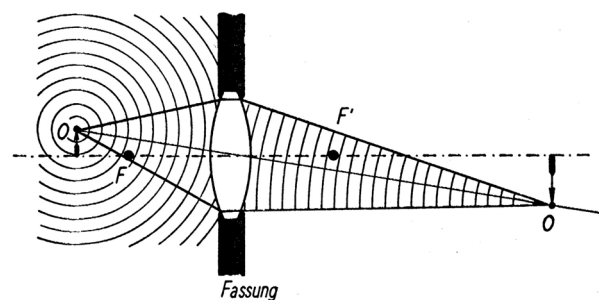
Zwar sind noch weitere Blenden vorhanden, aber die bestimmen nicht die Strahlenbegrenzung.

Strahlenbegrenzung durch Blenden ist für die optische Abbildung unerlässlich, denn sie bestimmt die Bildhelligkeit, die Ausdehnung des Bildfeldes, die Schärfentiefe, den Schärfegrad, den Kontrast und die Detaillauflösung des Bildes. Deshalb ist die Lehre der Strahlenbegrenzung bei optischen Geräten genau so wichtig wie die geometrische Optik der Bildentstehung.

### 2.5.3.2 Der Öffnungswinkel

Die von einem Punkt einer leuchtenden Fläche ausgehenden Lichtwellen gelangen nur zum geringen Teil in ein optisches System, das in der Abbildung rechts durch eine einzelne Linse dargestellt ist. Der ins System eintretende Lichtkegel ist begrenzt durch den Rand der Linse oder durch den Rand einer Linsenfassung.

Bei Abbildungssystemen, die aus mehreren Linsen zusammengesetzt sind, ist entweder die Fassung der kleinsten Linse die *strahlenbegrenzende Öffnung* oder eine besonders angebrachte Blende, die veränderlich sein kann. Sie wird deshalb als **Öffnungsblende** oder mit ABBE als **Iris** bezeichnet.



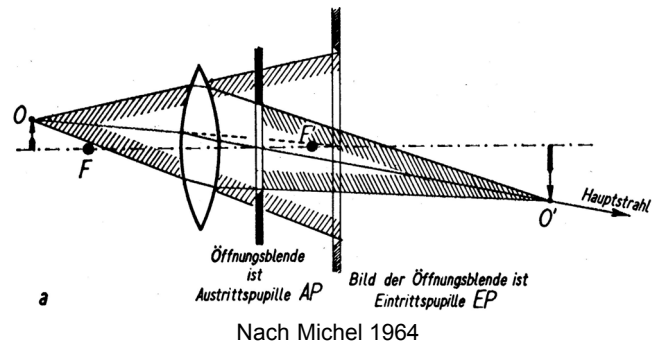
Strahlenbegrenzung bei einer Linse.  $O$  Objektpunkt,  $O'$  Bildpunkt,  $F, F'$  objekt- und bildseitiger Brennpunkt.

Nach Michel 1964.

Solange eine Blende vom *Objektpunkt*  $O$  aus gesehen *vor* dem System liegt, bestimmt sie selbst den Winkel der Strahlen, die von den einzelnen Objektpunkten aus nach ihren Rändern verlaufen. Hier ist die Blende selbst die Kegelbasis aller Lichtkegel, die von  $O$  ausgehen und ins das System eintreten. Den Winkel an der Spitze  $O$  des Kegels bezeichnet man als *Öffnungswinkel* des Systems.

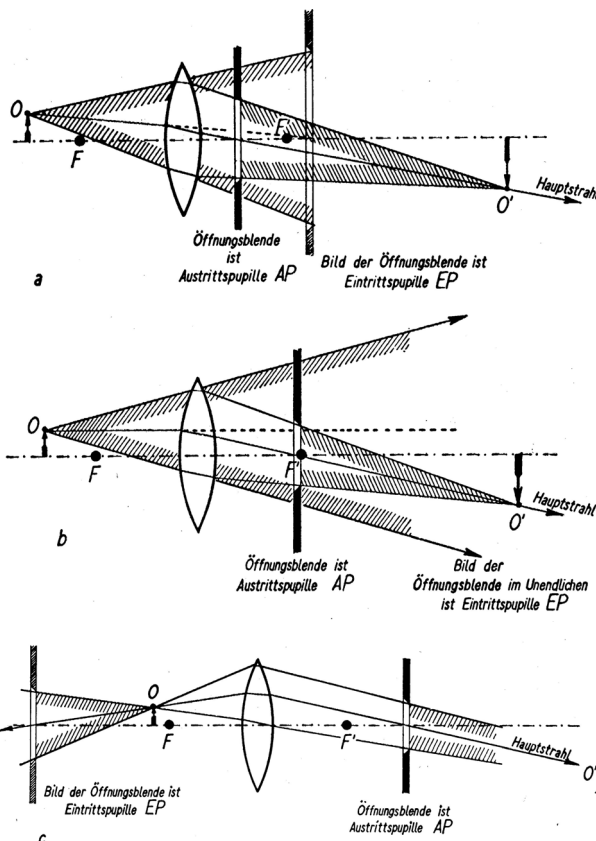
### 2.5.3.3 Die Pupillen

Liegt die Öffnungsblende jedoch inmitten des Systems, also hinter einem seiner Teile, oder gar hinter dem gesamten System, so können wir sie beim Blick ins System von  $O$  aus nicht sehen, sondern nur ihr Bild, das von den Linsen des Systems erzeugt wird. Also begrenzt nicht sie selbst den Strahlenkegel, sondern ihr Bild. Dieses kann je nach Lage der Öffnungsblende zum Brennpunkt reell oder virtuell sein.



In gleicher Weise werden die aus dem System austretenden und zu den einzelnen *Bildpunkten*  $O'$  hin zielenden Strahlenkegel begrenzt, entweder von der Öffnungsblende selbst, wenn sie hinter dem System liegt, oder, wenn sie *vor* dem System oder einem seiner Teile liegt, von ihrem Bild, das wir vom *Bildpunkt*  $O'$  aus beim Blick ins System sehen. Alle Öffnungen, die in dieser Weise die Größe eines Öffnungswinkels bestimmen, heißen nach ABBE **Pupillen**. Die Eintrittspupille EP des Systems bestimmt den Öffnungswinkel des eintretenden, seine Austrittspupille AP den des austretenden Strahlenkegels. Die durch die Mitte einer Pupille gehenden Strahlen sind *Hauptstrahlen*.

Fotofreunde sind gelegentlich irritiert, wenn sie aus Neugier die Lichtstärke eines Objektivs „nachmessen“ und dabei den Durchmesser der Frontlinse zugrunde legen. Doch der ist nicht maßgebend, sondern die Eintrittspupille. Auch sie kann man leicht abmessen, indem man ein glasklares Plastiklineal über die Objektivöffnung legt und aus möglichst großer Entfernung (Armlänge) von vorn in seine voll aufgeblendete Öffnung schaut. Die freie Öffnung, die man gegen einen hellen Hintergrund sieht, ist die Eintrittspupille. Das Verhältnis der Brennweite zum Durchmesser der EP ergibt bei Division die Lichtstärke des Objektivs, seine größte Blende.

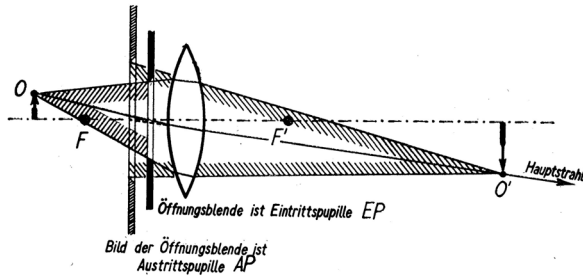


Liegt die Öffnungsblende hinter dem System, so kann sie vor, in oder hinter dem Bildbrennpunkt  $F'$  liegen. In diesen drei Fällen ist sie Austrittspupille. Ihr durch die Linse erzeugtes Bild ist Eintrittspupille und begrenzt die von den Objektpunkten ausgehenden, wirksamen Strahlenkegel.

Die Eintrittspupille ist virtuell, wenn die Öffnungsblende zwischen Linse und Bildbrennpunkt liegt (**a**), reell, wenn sie hinter ihm liegt (**c**).

Liegt sie genau im Brennpunkt (**b**), dann entsteht die Eintrittspupille im Unendlichen, wobei zwischen reellem und virtuellem Bild kein Unterschied mehr ist.

Der wesentliche Unterschied zwischen den drei Fällen liegt im Verlauf der Hauptstrahlen. Bei **a** sind die konvergent, bei **b** parallel und bei **c** sogar divergent.



(Alle Abb. nach Michel 1964.)

Liegt die Öffnungsblende vor dem System, so ist sie stets Eintritts-, ihr Bild hingegen Austrittspupille. Sie kann vor, in oder hinter dem Objektbrennpunkt liegen. Im ersten Fall ist das Bild der Austrittspupille virtuell, im dritten reell, im zweiten entsteht es im Unendlichen.

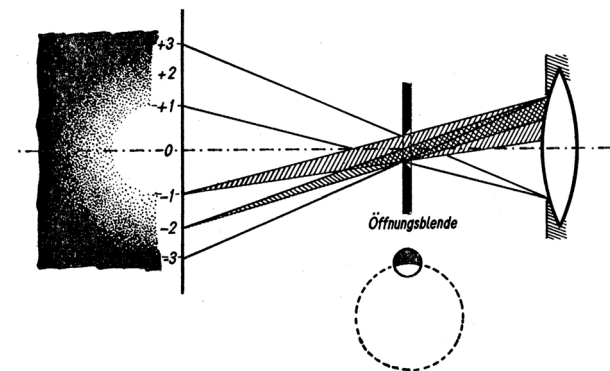
### 2.5.3.4 Die Luken

Ein optisches System erzeugt Bilder, die entweder reell oder virtuell sein können. Reelle Bilder werden auf einem Film oder einem elektronischen Chip einer Kamera, auf einer Mattscheibe oder auf einer Projektionswand aufgefangen. Virtuelle Bilder werden *unmittelbar* mit dem Auge betrachtet. Da dieses aber ebenfalls ein optisches System ist, kann es mit dem bilderzeugenden System auf die Weise zusammenwirken, daß wiederum ein reelles Bild auf einem Auffangschirm entsteht: der Netzhaut des Auges.

In allen genannten Fällen ist die Fläche des Schirms am Ende des Bildraums nicht unbegrenzt. Deshalb ist auch der ihm konjugierte Ausschnitt aus dem Objekt(raum) nicht unbegrenzt. Das optische System hat ein mehr oder weniger begrenztes „Gesichtsfeld“. Dessen Größe wird entweder bestimmt durch das in den Objektraum zurück projizierte Bild des Auffangschirms oder durch das Bild einer Blende innerhalb des Systems, die in einer zum Auffangschirm konjugierten Ebene angebracht ist. Diese Blende begrenzt also das sichtbare Bild, deshalb heißt sie Gesichtsfeld- oder Sehfeldblende, wird aber auch **Luke** genannt.

Ist im System keine solche Blende vorhanden, und wirkt auch der Auffangschirm selbst nicht als Blende, dann wirkt in der Regel irgendeine andere, dem Sehfeld nicht genau konjugierte Öffnung als Begrenzung des Gesichtsfeldes.

In diesem Fall ist die Begrenzung nicht „scharf“ beim Blick ins System. Auf ein gleichmäßig ausgeleuchtetes, zentrales Bildteil folgt dann eine mehr oder weniger breite Zone abnehmender Helligkeit. Wie breit diese Zone, d. h. wie scharf oder unscharf die Gesichtsfeldumgrenzung und wie groß das gleichmäßig helle zentrale Gesichtsfeld ist, hängt davon ab, wie weit die begrenzende, „vignettierende“ Öffnung vom Objekt und der Eintrittspupille entfernt ist. Auch diese begrenzende Öffnung ist eine **Luke**.



(Abb. nach Michel 1964)

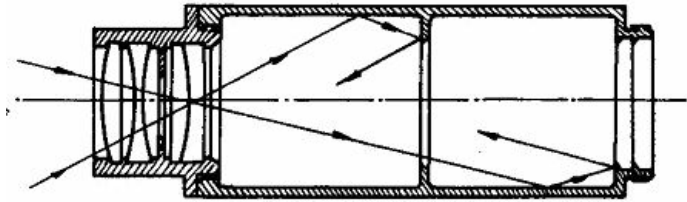
Für Strahlenkegel, die von Teilen des Objekts zwischen den Punkten +1 und -1 ausgehen, wirkt die Öffnung zwischen Objekt und Linse als Öffnungsblende und Eintrittspupille. Diese Teile werden also mit der größten hier überhaupt möglichen Apertur abgebildet. Dementsprechend bleibt auch die Helligkeit des ins Objekt zurück projizierten Bildes über diesen ganzen Bereich gleich.

Außerhalb der beiden Punkte, z. B. bei einem Punkt -2, wird die Apertur nicht mehr von der Öffnung der Blende allein bestimmt, denn diese begrenzt den von -2 ausgehenden Strahlenkegel nur noch auf einer Seite. Auf der anderen wirkt jetzt wegen ihrer beschränkten Größe die Linsenfassung begrenzend. Die Grundfläche des Kegels ist kein voller Kreis mehr, sondern ein Kreisweieck, wie es als Aufsicht von -2 aus gesehen, etwa in der Art erscheint wie in der obigen Nebenfigur angedeutet. Die Fläche des Zweiecks wird um so kleiner, je weiter der betrachtete Punkt von der Achse entfernt ist. Von einem bestimmten Punkt des Gesichtsfelds ab kann überhaupt kein Licht mehr in die Linse eintreten. Da der aufgenommene Lichtstrom der Fläche der aufnehmenden Öffnung proportional ist, müssen in der Zone zwischen 1 und 3 liegende Punkte mit von innen nach außen abnehmender Helligkeit abgebildet werden, und das Gesichtsfeld wird durch das Zusammenwirken der beiden Öffnungen unscharf begrenzt, wie es das im

linken Teil der Figur angedeutete, ins Objekt zurück projiziert gedachte Bild einer mit gleichmäßigen Helligkeit strahlenden Fläche zeigt.

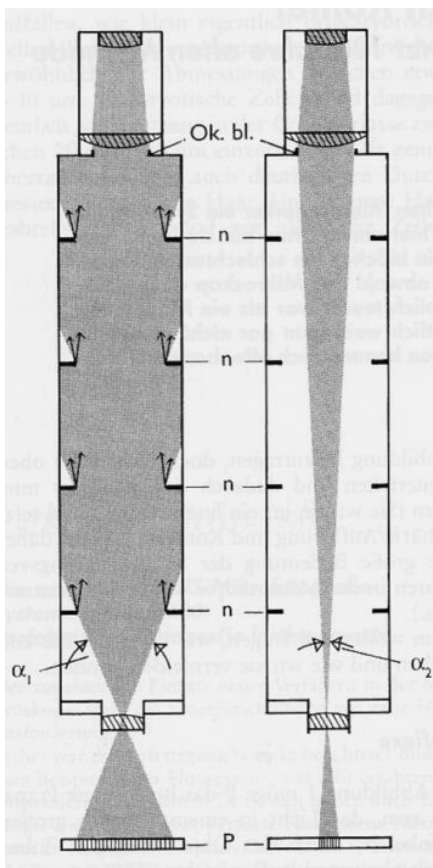
### 2.5.4 Reflexminderung – der Kampf gegen das Streulicht

In fotografischen Objektiven gibt es viele Tubusteile und Kanten an Fassungsändern an denen Licht reflektiert und als diffuses Streulicht seinen Weg in die Bildebene findet, wo es durch „Überstrahlung“ den Kontrast des Bildes herabsetzt. Ein gutes Objektiv enthält deshalb mehrere geschickt angebrachte Blenden, die das verhindern und das Streulicht vernichten, wie die nebenstehende Abbildung am Beispiel zweier Blenden zeigt.



(Abb. aus SOLF 1971.)

Das ist eine sehr wichtige Aufgabe, die den Konstrukteur oftmals daran hindert, schlanke und leichte Objektive zu entwerfen, denn wirkungsvolle Blenden verlangen stets einen größeren Tubusdurchmesser als für die Fassung der Linsen allein erforderlich wäre. Auch im Mikroskop entsteht an vielen Stellen seines kompliziert gebauten Tubus vagabundierendes Streulicht. Ein einfacher Tubus kompliziert gebaut? Ja, denn der Tubus unserer heutigen Mikroskope ist kein einfaches Rohr mehr, sondern ein binokularer Schrägtubus, bestückt mit Linsen und Prismen und ihren vielgestaltigen Fassungen, wobei manche Prismen sogar beweglich angeordnet sind. An diesen und weiteren Teilen können Reflexionen entstehen. Wir brauchen nur das Okular aus einem Tubusstutzen zu ziehen und in den Tubus zu schauen, dann können wir bei geöffneter Leuchtfeldblende mehr oder weniger stark leuchtende, meist farbige Ringe sehen, auch Prismenkanten, die aufleuchten und sich als leuchtende Halbmonde zeigen, sobald wir den Kopf etwas zur Seite bewegen und schräg in den Tubus blicken. Auch moderne Mehrfach-Antireflexbeschichtungen von Objektiv- und Okularlinsen können solche Reflexe und „Nebenpupillen“ nicht verhindern. Sie alle erzeugen Streulicht, das den dringend benötigten Kontrast im mikroskopischen Bild herabsetzt.



Nach MÖLLRING 1994.

Wodurch die Reflexe eigentlich entstehen, zeigt die linke Hälfte des Schemabildes. In der Präparatebene **P** ist ein viel größeres Objektfeld ausgeleuchtet als durch die Okularblende **Ok.bl.** hindurch paßt und das Auge des Beobachters erreicht. Das Licht strahlt in einem viel zu großen Winkel  $\alpha_1$  nach oben. Dabei entstehen an vielen Kanten Reflexe, z. B. an Linsen- und Prismenfassungen, die hier der Einfachheit halber als einfache Verengungen **n** in einem Tubus gezeigt sind.

In der rechten Bildhälfte sehen wir, wie das Streulicht wirkungsvoll verhindert werden kann. Im Präparat ist nur eine so kleine Fläche ausgeleuchtet, daß der Lichtkegel mit dem kleinen Winkel  $\alpha_2$  gerade durch die Luke der Okularblende paßt und kein Streulicht entsteht. Der Kontrast ist maximal.

Die vom Kondensator ausgeleuchtete Fläche in der Präparatebene muß nun so begrenzt werden, daß die Basis des Lichtkegels nicht größer ist als die Öffnung der Okularblende in der Zwischenbildebene.

In der Präparatebene kann keine körperliche Blende angebracht werden. Aber der Optiker findet eine andere, nicht minder wirksame Lösung, legt statt der gegenständlichen Blende ein Bild von ihr in die Präparatebene. Die Idee stammt von Professor August KÖHLER (1866-1948), wissenschaftlicher Mitarbeiter bei Carl Zeiss in Jena. Im Jahr 1893, als er auch seine Dissertation schrieb, veröffentlichte er das Prinzip seiner Beleuchtungsanordnung.



## 2.5.5 Die Köhlersche Beleuchtung

## 2.5.5.1 Die „vollständige Abbildung“ und der praktische Strahlengang nach KÖHLER

Mit dem Wissen über Blenden, Pupillen und Luken werden wir die genial ausgedachte Beleuchtungsanordnung nach Köhler und ihren Strahlengang auf Anhieb verstehen und seine Vorteile würdigen und nutzen können. Die folgende Darstellung zeigt, wie sie aus einer prinzipiell einfachen Anordnung hervorging.

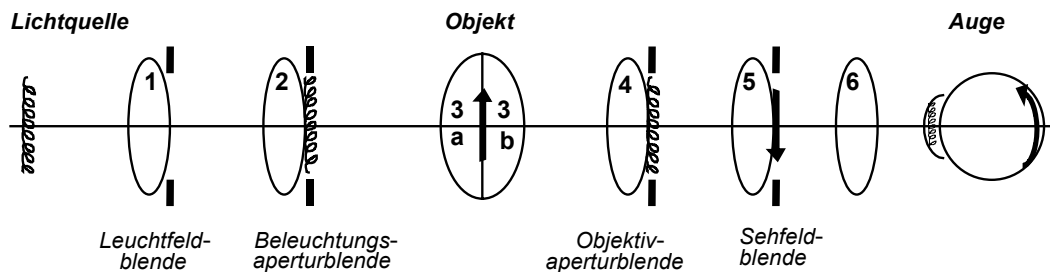


Abb. 1

- Die Lichtquelle wird von der Linse 1 in die Linse 2 abgebildet, und zwar in der Ebene der Blende.
- Linse 3 besteht aus zwei Plan-Konvexlinsen, zwischen deren Planflächen das Objekt (Pfeil) liegt. Linse 2 bildet das helle Leuchtfeld mitsamt der es umgebenden Leuchtfeldblende in die Linse 3 ab, und zwar in der Ebene des Objekts. Das Objekt wird also vom Licht des Leuchtfeldes durchstrahlt.
- Linse 3 bildet die Beleuchtungsaperturblende der Linse 2 mitsamt der dort abgebildeten Glühwendel in das Objektiv (Linse 4) ab.
- Linse 4 bildet das inmitten Linse 3 liegende Objekt in die Blendenebene der Linse 5 ab.
- Linse 5 bildet die Glühwendel (die Lichtquelle) aus der Blendenebene von Linse 4 in die Pupille des Auges ab. Die Stellung der Linse 6 ist so zu wählen, daß das Auge das Objekt im Unendlichen sieht. Die Augenpupille liegt am Ort eines Bildes der Lichtquelle.
- Linse 6 bildet das Objekt, das in der Ebene der Sehfeldblende von Linse 5 abgebildet ist, auf der Netzhaut des Auges ab.

In „vollständiger Abbildung“ sind die Linsen auf der optischen Achse also so angeordnet, daß jede die vorhergehende in die nächstfolgende abbildet. Die Öffnung jeder Linse bedingt somit die Beleuchtungsstärke der nächsten und wird in der übernächsten scharf abgebildet. Jede der Blenden, die sich unmittelbar an den Linsen befinden, ist daher Aperturblende (*Pupille*) für die nächste und Feldblende (*Luke*) für die übernächste Linse.

Diese „vollständige Abbildung“ hat trotz ihrer physikalischen Klarheit und Übersichtlichkeit den Nachteil, daß das Objekt inmitten einer Linse liegen muß. Das bereitet in der Praxis Schwierigkeiten. Deshalb weicht man vom Idealfall ab und schließt Kompromisse. Der bekannteste von ihnen ist der Strahlengang nach Köhler, der heute fast ausschließlich angewandt wird (siehe Abb. 2). Er geht aus der vollständigen Abbildung dadurch hervor, daß die Wirkung der Linse 3 je zur Hälfte den Linsen 2 und 4 zugeschlagen wird: sie wird aufgeteilt auf Kondensator (Linsen 2 + 3a) und Objektiv (Linsen 3b + 4). Dadurch wird man gezwungen, die den Linsen 2 und 4 zugeordneten Irisblenden aus den Linsenebenen herauszurücken, was jedoch erhebliche praktische Vorteile hat.

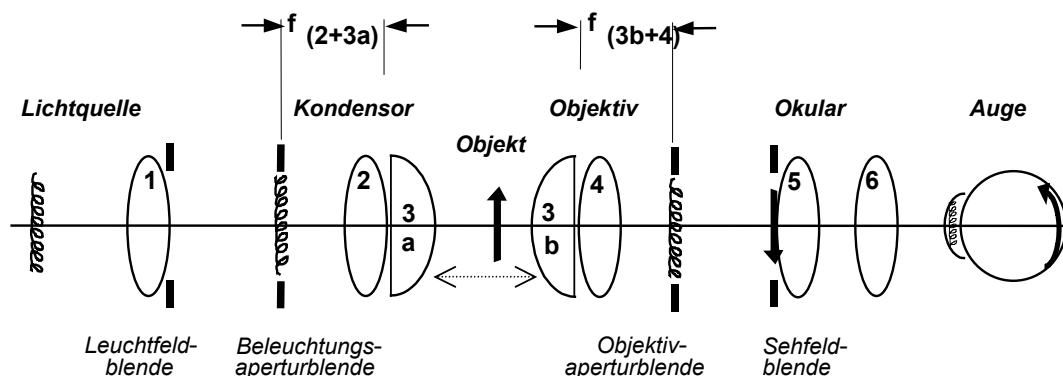


Abb. 2

Die Objektivaperturblende ist im Gegensatz zu den drei anderen Blenden nicht körperlich, sondern sie ist die Beleuchtungsaperturblende in der Brennebene des Kondensors, die vom Kondensor in die hintere Brennebene des Objektivs abgebildet wird. Durch diesen optischen Trick erübrigt es sich, eine winzige, schwierig und teuer herzustellende Irisblende in jedes einzelne Objektiv einzubauen. Auch ist das Bild der Blende "dünner" als körperliche, übereinander liegende Blendenlamellen, so daß die Irisblende beim Zuziehen nicht aus ihrer exakten Lage gedrückt werden kann, d. h. der Fehler der „mechanischen Blendendifferenz“ ist ausgeschlossen.

### 2.5.5.2 Der verflochtene Strahlengang nach dem Köhlerschen Prinzip

Die Anforderungen an eine gute Mikroskopbeleuchtung sind seit 1893 dieselben geblieben.

**Helles Licht**, um bei der Mikrofotografie kurze Belichtungszeiten zu ermöglichen. Die hohe Leuchtdichte der Glühwendel einer elektrischen Lampe soll voll ausgenutzt werden.

**Gleichmäßige Beleuchtung** in der Präparatebene; sie soll vollkommen homogen sein. Sofern eine ungleichmäßig strahlende Lichtquelle wie die Glühwendel einer elektrischen Glühlampe verwendet wird, soll die zerklüftete Wendelstruktur nicht in der Präparatebene sichtbar sein, weil sie das Bild des Präparats überlagern und schwer deutbar machen würde. (Das ist besonders bei Verwendung kontrastreich zeichnender Filme wichtig, die jeden kleinsten Helligkeitsunterschied im Bild sichtbar machen.)

**Keine Reflexe**. Die Beleuchtung soll kein kontrastminderndes Streulicht im Strahlengang erzeugen, welches das Bild flau und diffus macht.

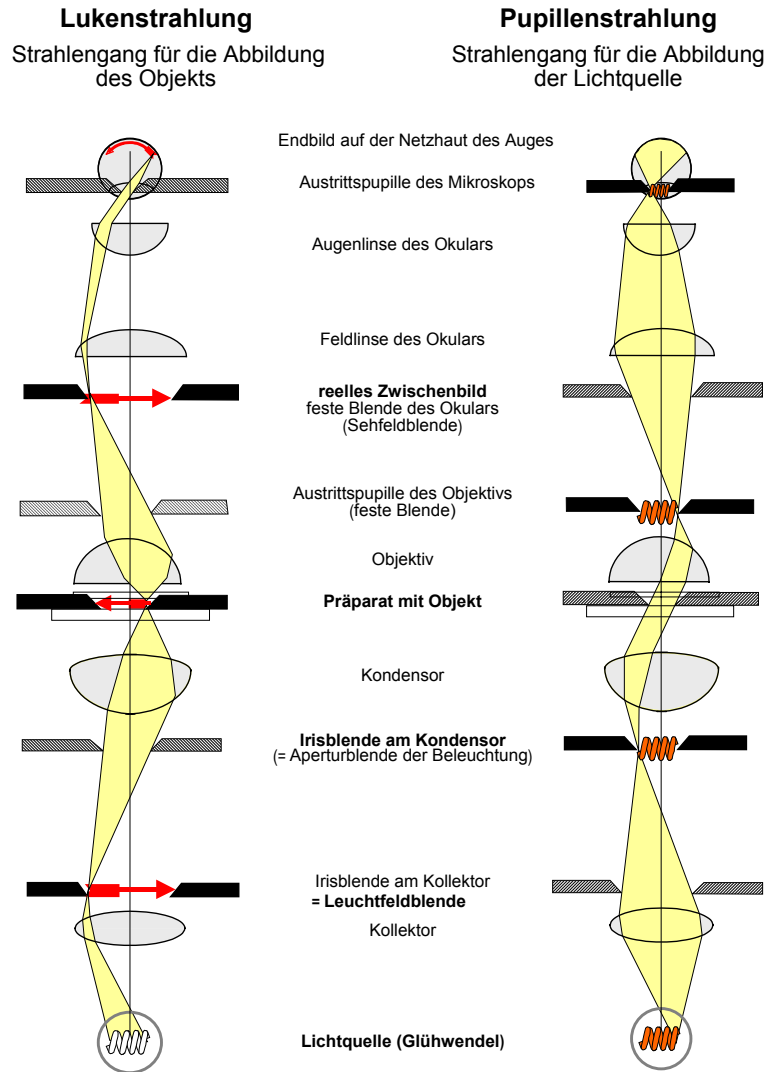
**Nur geringe Erwärmung** des Präparats – trotz großer Lichtfülle, damit gefärbte Präparate nicht ausbleichen und lebende Organismen nicht vorzeitig absterben.

Die Köhlersche Beleuchtungsanordnung erfüllt als einzige alle genannten Anforderungen. Sie ist für ein qualitativ hochwertiges Bild bei allen genaueren Arbeiten unentbehrlich und das entscheidende Merkmal aller besser ausgestatteten, auch für Forschungszwecke geeigneten Mikroskope. Für den Mikrofotografen ist sie das Nonplusultra.

Länger als 50 Jahre lang hat man immer wieder versucht, sie zu verbessern bzw. zu vereinfachen. Doch das erscheint prinzipiell nicht möglich. Sie besteht aus zwei innig miteinander verflochtenen Strahlengängen, der Lukenstrahlung und der Pupillenstrahlung. Nach den vorhergehenden Kapiteln über Luken und Pupillen werden wir keine Schwierigkeiten haben, das zu verstehen.

Die beiden auf der folgenden Seite abgebildeten und beschriebenen Strahlengänge sind zur besseren Übersicht in zwei getrennten Abbildungen für die Luken- und die Pupillenstrahlung dargestellt. In Wirklichkeit existieren sie gleichzeitig im selben Raum.

## Das Köhlersche Beleuchtungsprinzip

**Die Lukenstrahlung – der Abbildungsstrahlengang**

1. Der Lampenkollektor erzeugt ein helles, unscharfes, völlig diffuses Bild der Lichtquelle in der Leuchtfeldblende. Das Licht füllt sie ganz aus.
2. Diese helle Öffnung der Leuchtfeldblende und die sie begrenzenden Ränder der Blendenlamellen selbst werden vom Kondensor im Präparat abgebildet. Damit ist eine sehr wichtige Forderung schon erfüllt: Die verstellbare Leuchtfeld-Irisblende wird jeweils so weit geschlossen, daß in der Präparatenebene nur eine Fläche ausgeleuchtet ist, die das Objektiv auch aufnehmen kann.
3. Das vom Objektiv aufgenommene Bild besteht also aus dem lichtdurchströmten Objekt und der umgebenden schwarzen Leuchtfeldblende. Das Objektiv entwirft dieses Gesamtbild als reelles Zwischenbild in der Ebene der Sehfeldblende des Okulars.
4. Dort nimmt es dessen Feldlinse auf, seine Augenlinse vergrößert es und richtet das Lichtbündel (parallel) ins Unendliche, d. h. das Okular bildet das Zwischenbild im Unendlichen ab.
5. Das entspannt ins „Unendliche“ blickende Auge sieht das Bild, und die Augenlinse projiziert es auf die Netzhaut.

In allen vier Ebenen, Netzhaut, Zwischenbild, Präparat und Leuchtfeldblende ist das Bild gleichzeitig scharf, diese Ebenen sind zueinander konjugiert, d. h. sie liegen – optisch gesehen – am genau gleichen Ort. Auf der Netzhaut entsteht also gleichzeitig ein scharfes Bild des Präparats und der es umgebenden Leuchtfeldblende. Deshalb können wir beim Blick ins Okular die Leuchtfeldblende sehen und ihre Größe so einstellen, daß alle Bildteile, die nicht mehr durch die Öffnung der Sehfeldblende im Okular passen und in Tubus Streulicht verursachen, ausgeblendet werden.

**Die Pupillenstrahlung – der Beleuchtungsstrahlengang**

1. Die Lampenwendel wird in die Kondensorblende in der unteren Brennebene des Kondensors abgebildet.
2. Dieser projiziert ihr Bild – durch das Präparat hindurch – in die Austrittspupille des Objektivs.
3. Das Okular bildet dieses Glühwendelbild in die Augenlinse des Beobachters ab.
4. Die Augenlinse entwirft ein völlig diffuses unscharfes „Bild“ der Glühwendel auf der Netzhaut, leuchtet sie vollständig aus, wie das Licht eines Diaprojektors die Leinwand.

Die hell strahlende Glühwendel ist also gleichzeitig in drei Ebenen scharf: In der Aperturblende des Kondensors, der Austrittspupille des Objektivs und in der Austrittspupille des Mikroskops, die gleichzeitig die Eintrittspupille des Auges ist. Dennoch können wir die Glühwendel nicht scharf sehen, denn wir sehen ja die Bilder in den Luken scharf, die in den Pupillen folglich unscharf, diffus. Damit ist eine weitere wichtige Forderung erfüllt: Der Kondensor entwirft ein unscharfes Bild der Wendel in der Präparatebene, wir sehen dort eine diffus leuchtende, gleichmäßig helle Fläche.

Der schematische Lukenstrahlengang zeigt ein einziges Strahlenbündel, welches von nur einem einzigen Punkt der Leuchtfeldblende zu nur einem einzigen Punkt in der Objektebene verläuft. Aber jeder Punkt der Fläche der Leuchtfeldblende wird jeweils von der gesamten Glühwendel beleuchtet, und alle Punkte der Leuchtfeldblende zusammen, also die gesamte Fläche der Leuchtfeldblende, beleuchtet jeden einzelnen Punkt des Objekts. In jedem Punkt des Objekts konzentriert sich also die Helligkeit der gesamten Leuchtfeldblende.

Im Pupillenstrahlengang erkennen wir, daß die Glühwendel in der Brennebene des Kondensors liegt und deshalb von ihm mit einem *parallelen* Strahlenbündel im Unendlichen abgebildet wird. Vom Objekt aus gesehen liegt also die Lichtquelle im Unendlichen, was dem unendlich weiten Himmelslicht der alten Mikroskopiker mit Spiegelbeleuchtung nahe kommt. Eine Ungleichmäßigkeit der zerklüfteten Glühwendel macht sich deshalb in der Präparatebene am wenigsten bemerkbar. Der *gezeichnete* Strahlengang entspringt einem einzigen Punkt der Glühwendel. In Wirklichkeit sind es viele Millionen solcher Leuchtpunkte, deren jeder ein paralleles Strahlenbündel durch das Präparat schickt und die Netzhaut des Auges voll ausleuchtet. Wir empfinden deshalb große Helligkeit. Jeder einzelne der Millionen Lichtpunkte der Glühwendel füllt jeweils die gesamte Öffnung der Leuchtfeldblende aus: deshalb sie ist sehr hell und deshalb reicht eine kleine Niedervoltlampe von 15 Watt für die meisten Mikroskopierverfahren völlig aus.

#### Wir erkennen:

- Bei der Köhlerschen Beleuchtung ist nicht die eigentliche Lichtquelle, die Lampenglühwendel, für die **Ausleuchtung** des Präparats zuständig, sondern die hell und diffus strahlende Austrittspupille des Lampenkollektors wird zur wirksamen Lichtquelle. Vom Objekt in der Präparatebene aus gesehen, liegt dieses große Leuchtfeld in unendlicher Entfernung.
- Im *Lukenstrahlengang* beleuchtet die Gesamtheit aller Punkte der Lichtquelle jeden einzelnen Punkt des Objekts;
- Im *Pupillenstrahlengang* durchleuchtet jeder einzelne Punkt der Lichtquelle die gesamte Fläche des sichtbaren Objekts.
- So durchdringen sich die beiden Strahlengänge in der Präparatebene gegenseitig und erzeugen ein sehr helle und vollkommen gleichmäßige Ausleuchtung.
- Der Durchmesser der beleuchteten Präparatstelle einerseits und die Weite des Leuchtkegels, die den „Kontrast“ bestimmt, sind durch Leuchtfeld- und Aperturblende getrennt einstellbar. Von den durch die Leuchtfeldblende abgedeckten Präparatstellen können keine Reflexe ins Bild dringen.
- Der beste Platz für Filter aller Art ist ein Filterhalter unterhalb des Kondensors. Dort liegt ja eine Pupille, die im Präparat unscharf abgebildet wird, man sieht also nicht jedes Staubfleckchen auf dem Filter gleichzeitig mit dem Präparat scharf. Legt man das Filter auf den Lichtaustritt im Mikroskopfuß, so ist Staub auf dem Filter um so besser zu sehen, je näher es der Luke der Leuchtfeldblende liegt.
- Dem Präparat wird nicht mehr wärmendes Licht zugeführt als unbedingt nötig, weil wir die Leuchtfeldblende nur so weit öffnen, daß keine größere Fläche des Präparats ausgeleuchtet ist als das jeweilige Objektiv aufnehmen kann. Die Erwärmung lebender Organismen hält sich deshalb in Grenzen, sie leben länger, strahlungsempfindliche Präparate bleichen nicht so rasch aus.

#### 2.5.5.3 Die Bestandteile der Köhlerschen Beleuchtung

Man braucht eine Mikroskopierlampe mit Kollektor und Irisblende. Praktisch ist, wenn die Beleuchtungseinrichtung fest im Stativfuß eingebaut ist. Ist sie hingegen (meist hinten) am Mikroskop angeflanscht, dann muß die Glühlampe mit Stellschrauben justierbar sein. Eine Leuchte auf einem Stativ muß höhenverstellbar und neigbar befestigt sein. Vorteilhaft ist dann auch ein fokussierbarer Kollektor, der in Richtung der optischen Achse vor der Lampe verschiebbar ist. Auf diese Fokussierbarkeit kann man verzichten, wenn Leuchte und Stativ für ein bestimmtes Mikroskopmodell konstruiert und mit diesem mechanisch fest zu verbinden sind. Ist die Köhlersche Beleuchtung richtig ausgelegt, genügen in der Regel Niedervolt- oder Halogen-Niedervoltlampen mit kleiner, gedrängter Glühwendel von 6 – 12 Volt und 15 – 20 Watt.

Ferner gehört zur Köhlerschen Beleuchtung ein Kondensor, der mit einem Feintrieb in der Höhe und mit Stellschrauben horizontal verstellt werden kann. Ein aplanatisch-achromatisch korrigierter Kondensor ist

für den Mikrofotografen von großem Vorteil, andernfalls muß man bei der korrekten Einstellung Kompromisse machen.

**In der Regel sind bei der Köhlerschen Beleuchtung also einstellbar:**

- Kondensor längs und quer zur optischen Achse;
- Durchmesser der Kondensorblende (= Aperturblende) und der Leuchtfeldblende;
- Lichtquelle längs der optischen Achse.

In manchen Fällen (siehe oben) kommen hinzu:

- Kondensorblende quer zur optischen Achse (Revolver-Kondensor oder großer Abbescher Beleuchtungsapparat);
- Lichtquelle quer zur optischen Achse;
- Lampenkollektor längs zur optischen Achse.

Das richtige **Einstellen der Köhlerschen Beleuchtung** („köhlern“) ist in Kapitel 4.1.5 *Richtig „köhlern“* ausführlich beschrieben.

#### 2.5.5.4 Die Irisblenden des Mikroskops

*Frage*

Wozu hat ein Mikroskop zwei Irisblenden, welche Funktion haben die?

*Antwort*

Nach gründlichem Studium der vorangehenden Kapitel über die Köhlersche Beleuchtung ist die Beantwortung dieser Frage nicht schwer.

► Die wichtigste Blende, die **Kondensor- oder Aperturblende** befindet sich in der Nähe der unteren Brennebene des Kondensors, welche manchmal innen im Kondensor, manchmal unter ihm liegt.

Genau wie in einem Fotoobjektiv braucht man auch im Mikroskopobjektiv eine Irisblende, um durch ihr Schließen die **Schärfentiefe** und den **Kontrast** der Abbildung zu steigern. Mikroskopobjektive haben aber in der Regel keine eigenen Irisblenden, weil es teuer wäre, jedes Objektiv mit einem so winzigen und komplizierten Präzisionsteil auszurüsten. Das ist auch gar nicht notwendig, denn der feste Aufbau des Mikroskopstativs mit mehr oder weniger konstanten Entfernungen zwischen Kondensor, Objekt und Objektiv bietet eine einfachere Lösungsmöglichkeit. Der Kondensor wirkt wie ein Projektionsobjektiv und entwirft ein **Bild der Aperturblende** in der Austrittspupille des Mikroskopobjektivs. Dieses enthält also anstatt einer Blende aus körperlichen Blendelamellen nur das *Bild* einer Blende. Die Wirkung ist dieselbe.

Wenn wir das Okular aus dem Tubus ziehen und auf die Hinterlinse des Objektivs schauen, können wir sehen, wie sich der Durchmesser der Aperturblende verändert, wenn wir den Blendenhebel des Kondensors verstellen. Je weiter die Blende geschlossen wird, um so stärker machen sich physikalische Beugungserscheinungen bemerkbar. Das vom Objektiv entworfene Bild, das wir im Okular sehen, wird dabei immer unschärfer. Am besten ist die Auflösung des Objektivs bei ganz geöffneter Blende – dann aber leider mit dem geringsten Kontrast. Nur beide Faktoren gemeinsam, Auflösung und Kontrast, ergeben als Produkt ein optimales Bild. Die Blende um ein Fünftel bis ein Drittel zu schließen, ist meist ein guter Kompromiß. Von dieser allgemeinen Regel abgesehen, kommt es ganz auf das Objekt, auf die Feinheit seiner Strukturen an, und bis zu welchem Grade wir sie überhaupt sehen wollen, ob wir den Kompromiß mehr in Richtung Kontrast oder Auflösung schließen. Bei kräftig gefärbten Präparaten sollte man die Blende allerdings nur wenig schließen, weil die Farben hinreichenden Kontrast liefern.

► Die zweite Irisblende ist die **Leuchtfeldblende**. Sie befindet sich an der Lichtaustrittsöffnung des Lampenkollektors. Der Kondensor projiziert ihr Bild in die Präparatebene. Wenn wir die Leuchtfeldblende etwas schließen, sehen wir sie zusammen mit dem Präparat, wenn wir ins Okular schauen. Sehen wir ihre Ränder unscharf, so ändern wir die Kondensorhöhe etwas, damit sie scharf abgebildet werden. Das ist gleichzeitig die richtige Höheneinstellung für den Kondensor. Sie soll immer so weit geschlossen werden, daß ihr Rand gerade noch außerhalb des Gesichtsfelds liegt, dann nämlich verhindert sie bildverschlechternde Reflexe und unnötige Erwärmung des Präparats. Schließen wir sie weiter, wird sie also im Bild sichtbar. Ihre reflexvernichtende Wirkung können wir gut beobachten, indem wir das Okular aus dem Tubus ziehen und (eventuell mit Lesebrille) in den Tubus blicken. Öffnen wir nun die Leuchtfeldblende

ganz, so sehen wir an den Tubusrändern helle, oftmals bunte Lichtringe als Reflexe, die beim Schließen der Leuchtfeldblende verschwinden.

**Beide Blenden, Apertur- und Leuchtfeldblende, sowie die Kondensorhöhe stellt man nach jedem Objektivwechsel stets neu ein**, weil ihre Größen für jedes Objektiv anders sein müssen. Die Hand des geübten Mikroskopikers greift nach einem Objektivwechsel „automatisch“ zuerst zur Leuchtfeldblende, dann zum Aperturblendenhebel. Für den Mikrofotografen ist das sogar eine wichtige Voraussetzung für eine einwandfreie Aufnahme. Bei einer Fotojagd auf schnell bewegliche Wassertiere, kann es vorkommen, daß die Zeit für die Einstellung nicht ausreicht. Da kann es ausnahmsweise klüger sein, vom Prinzip abzuweichen, anstatt einen guten Schnappschuß zu verpassen.

#### Frage

Wie erklärt man, daß beim Schließen der Kondensor-Aperturblende der Kontrast im Bild zunimmt?

#### Antwort

Der Kontrast nimmt im Grunde überhaupt nicht zu, es sieht nur so aus.

Der Kondensor bildet die Aperturblende in der Austrittspupille des Mikroskopobjektivs ab. Es enthält also keine körperliche Blende, sondern nur ihr Bild, das der Kondensor dort hinein projiziert. Die Wirkung ist dieselbe und völlig identisch mit der in einem Fotoobjektiv: Beim Abblenden nimmt die Schärfentiefe im Bild zu. Warum sie das tut, kann man in einem guten Lehrbuch über Fotografie nachlesen.

Nun sind aber Fotografie und Mikroskopie in ihren Bildwirkungen doch nicht ganz dasselbe. Die Winzigkeit der Objekte, der Objektivlinsen, der Blendenöffnungen usw. wirkt sich stark darauf aus, wie uns die Schärfentiefe im Bild erscheint. Das Aussehen kann je nach Schärfentiefe recht unterschiedlich sein, auch wenn z. B. ein Unterschied zwischen 0,0050 und 0,0047 mm Schärfentiefe eher belanglos erscheint.

PETÉRFI (1933) verwendet vorsichtig den Ausdruck „Kontrastwahrnehmung“. MICHEL (1967) hingegen verneint geradezu eine Kontraststeigerung durch das Schließen der Kondensorblende. Hier seine Erklärung: *„Um ein transparentes Objekt besser sichtbar zu machen, zieht man häufig die Kondensorblende weiter zu, beleuchtet also mit kleiner Apertur. Das kann allerdings niemals den Kontrast des mikroskopischen Bildes im eigentlichen Sinn erhöhen. Damit läßt sich nur erreichen, daß sich in der Bildebene nur solche Einzelbilder überlagern, die nicht zu verschieden sind. Es wird also nur verhindert, daß durch die bei größerer Beleuchtungsapertur auftretende Überlagerung allzu verschiedenartiger Einzelbilder das Strukturbild verwischt und in seinen Kontrasten herabgesetzt wird. Gleichzeitig wird aber der Charakter des mikroskopischen Bildes als Beugungserscheinung durch das deutliche Hervortreten von konzentrischen Helligkeitsmaxima und -minima um nicht genau in der Einstellebene liegende Objekteinzelheiten stark betont. Die Beugungssäume wirken sehr störend, ja können bei unkritischer Deutung zu Fehlschlüssen führen.“*

Der Kontrast wird also durch das Schließen der Aperturblende nicht gesteigert, es sieht nur so aus. Bei geöffneter Aperturblende ist die Schärfentiefe im mikroskopischen Bild so gering, daß alle Objektdetails, die über oder unter dieser Einstellebene liegen, durch völlige Unschärfe weitgehend unsichtbar sind. Je weiter man die Blende schließt, um so mehr Objektebenen werden in den wachsenden Schärfentiefebereich einbezogen und damit sichtbar. Deren Struktureinzelheiten sind aber selten mit denen der eingestellten Ebene deckungsgleich, deshalb werden die Ränder breiter, dicker, fetter.

Wir können uns das am besten an einer gläsernen Erdkugel vorstellen, die wir von oberhalb des Nordpols mit einem Fernrohr betrachten: Liegt die eingestellte Schärfenebene genau am Äquator, ist der Kugelumfang am Äquator als dünner Kreis sichtbar. Blenden wir ab, so daß auch alle Ebenen zwischen dem südlichen und dem nördlichen Wendekreis noch innerhalb der Schärfentiefe liegen, wird der scheinbare Kreis dicker, weil die Kreisumfänge nördlich und südlich des Äquators kleiner sind, je weiter sie von ihm entfernt liegen. Das mikroskopische Bild ist aber nur zweidimensional, wir sehen die verschiedenen Umfangskreise alle nebeneinander bzw. ineinander in einer Ebene liegen, denn das Objekt ist ja durchsichtig, wir sehen alle Ebenen auf einmal. Sie wirken dort wie ein einziger, aber sehr dicker Ring. Dieses Modell ist ganz real, denn biologische Präparate sind ja durchsichtig, nicht selten sogar glasklar, z. B. manche Planktonorganismen mit kugeligem Gestalt. Im Grunde trifft das auf alle Objekte mit abgerundeten Kanten zu.

Werden also weitere Struktureinzelheiten aus anderen Ebenen ebenfalls sichtbar, verbreitern sich die Kanten der Strukturen durch die darunter und darüber liegenden, nicht völlig deckungsgleichen Kanten. Die Strukturen werden dicker, fetter, schwärzer und damit besser sichtbar. Zwar wird das Bild insgesamt durch Abblenden dunkler und der Helligkeitsunterschied zwischen den hellsten und den dunkelsten Tei-

len bleibt eigentlich gleich, doch reagiert unser Auge und auch der Film bei der Mikrofotografie auf die dunklen, fetten Strukturdetails stärker: der Kontrast nimmt scheinbar zu.

Die Auflösung wird dabei infolge von Beugungserscheinungen geringer, d. h. die Schärfe nimmt im gesamten Bild ab. Man hat deshalb immer nur die Wahl zwischen größerer Schärfentiefe mit höherem Kontrasteindruck, verbunden mit nachlassender Auflösung, oder hoher Auflösung mit geringem Kontrast; bei manchen Objekten, bei denen beides erforderlich wäre, hat man also die Wahl zwischen „Pest und Cholera“. Siehe auch 4.1.6 *Aperturblende richtig einstellen*.

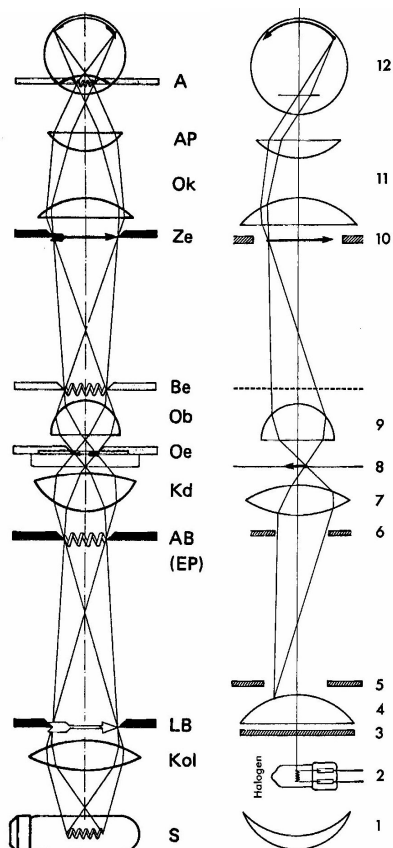
### 2.5.6 Die kritische oder Nelson-Beleuchtung

Bei Kursmikroskopen oder einfachen Labormikroskopen, z. B. für die ärztliche Praxis, ist die Köhlersche Beleuchtung nicht unbedingt erforderlich, weil die modernen Objektive auch einfacherer Bauart heute mit mehrfachen Antireflexschichten versehen sind, die das zwangsläufig ohne Köhlersche Beleuchtung entstehende Streulicht etwas abmildern.

Ein Mikroskop mit Köhlerscher Beleuchtung ist ohne weiteres erkennbar: Vor dem Lichtaustritt des Beleuchtungskollektors befindet sich eine einstellbare Irisblende. (Damit es ordentlich funktioniert, muß es allerdings noch einen mit Feintrieb höhenverstellbaren Kondensator und eine seitlich justierbare Lampe aufweisen oder der Kondensator muß horizontal justierbar sein.) Ein Mikroskop mit Nelson-Beleuchtung ist äußerlich nicht erkennbar. Denn wenn eine einstellbare Leuchtfeldblende fehlt, besagt das noch lange nicht, daß ohne weiteres die Nelson-Beleuchtung einstellbar ist.

Die Nelson-Beleuchtung, benannt nach dem englischen Mikroskopiker Edward Miles NELSON, ist wesentlich einfacher aufgebaut als die Köhlersche. Das Bild der Lichtquelle wird in die Objektebene projiziert. Dort erhält man einen ausreichenden Strahlenkegel, wenn der Kondensator möglichst hoch eingestellt ist und seine Aperturblende die richtige Größe hat. Das Resultat ist bereits zufriedenstellend, wenn eine gleichmäßig beleuchtete Mattscheibe oder die Oberfläche einer mattierten Glühbirne in die Präparatebene projiziert wird.

Die Nelson-Beleuchtung stellt keine so großen Anforderungen an die optische Qualität des Kondensators. Wenn alles gut justiert ist, kann man auf eine Feldblende verzichten. Das Sehfeld wird bei einwandfreien Konstruktionen völlig homogen ausgeleuchtet. Daß der Bildkontrast bei den heutigen Mikroskopen mit Nelson-Beleuchtung nicht nachsteht, ist weniger ihrem Prinzip als eher der hohen Kontrastübertragungsfunktion der heutigen mehrschichtig vergüteten Objektive und Okulare zu verdanken. Die Vorteile dieser einfachen Beleuchtungsart sind einmal die geringen Kosten, zum anderen, daß mit ihr auch ungeübte Mikroskopiker leicht zurecht kommen und bei einem Objektivwechsel nur den optimalen Kontrast mit der Aperturblende einzustellen brauchen.



Links: Die verflochtenen Strahlengänge der Köhlerschen Beleuchtung.

Rechts: Der einfache Strahlengang einer modifizierten Nelson-Beleuchtung.

Der Vergleich der beiden Strahlengänge verdeutlicht den wesentlich einfacheren Aufbau der Nelsonbeleuchtung. Leuchtfeldgröße und Apertur sind bei ihr nicht getrennt regelbar.

#### Abb. links: Köhlersche Beleuchtung

**S** Lichtquelle, **K** Kollektor, **LB** Leuchtfeldblende, **AB** Aperturblende,

**EP** Eintrittspupille, **Kd** Kondensator,

**Oe** Objektebene, **Ob** Objektiv,

**Be** Brennebene, **Ze** Zwischenbildebene, **Ok** Okular, **AP** Austrittspupille,

**A** Auge.

#### Abb. rechts: Newtonsche Beleuchtung

**1** Hohlspiegel, **2** Halogenlampe, **3** Mattscheibe, **4** Plankonkavlinse, **5**

Leuchtfeldblende, **6** Aperturblende, **7** Kondensator, **8** Objektebene, **9** Objektiv,

**10** Zwischenbild, **11** Okular, **12** Auge.

(Beide Abbildungen aus: Göke, G.: Nelson- und Köhler-Beleuchtung und davon abgeleitete Beleuchtungsverfahren. In: *Mikrokosmos* 91 (2002) 175-181.)

Die Nelson- oder kritische Beleuchtung gibt bei sehr schwachen bis schwachen Objektiven ein besser und gleichmäßiger ausgeleuchtetes Bild, bei der Köhlerschen muß man zu Zusatzlinsen etc. greifen, um das in den Griff zu bekommen. Ab Objektiv 10:1 bis 25:1 scheinen beide ebenbürtig zu sein, oder um es vorsichtiger auszudrücken, da fällt ein Nachteil der Nelson (noch) nicht stark auf.

Verwendet man jedoch höhere Aperturen ab etwa 0,50 (zum Beispiel ein Objektiv 25:1/ n. A. 0,55 oder gar 0,6) bemerkt man bereits einen Unterschied.

Mit steigender Apertur und Vergrößerung aber kann es keinen Zweifel mehr geben:



Bei Ölimmersionen jeder Art und Apertur, aber auch bei Trockenobjektiven über 0,65, also Fluoritsystemen oder gar Achromaten, aber auch bei Achromaten 50/60/80:1 mit Aperturen von 0,7 bis 0,95, ist die Köhlersche Beleuchtung eindeutig überlegen. Das Bild ist kontrastreicher, die Konturen erscheinen schärfer, feiner, die Objekte sind „luzider“, ihre „Innereien“ treten klarer hervor. Die *Nelson* wirkt da etwas diffuser bis unbefriedigend.

Die Vor- und Nachteile müssen sicherlich für jeden Anwendungsbereich abgewogen werden. Gut konstruierte Nelson-Beleuchtungen sind z. B. recht zweckmäßig für Kursmikroskope an den Universitäten, obwohl es eigentlich wünschenswert wäre, daß die angehenden Mediziner und Biologen die Einstellung der Köhlerschen Beleuchtung bereits während ihres Studiums gründlich einübten.

### 2.5.7 Der Kondensator

Der Kondensator ist ein sehr wichtiges, aber oft unterschätztes Teil des Mikroskops, und die Beobachtung zeigt, daß viele Mikroskopiker sich über seine Funktionen nicht im klaren sind, ja mit ihm regelrecht auf Kriegsfuß stehen. Doch wer den Kondensator nicht ehrt, ist des Apos nicht wert! Falscher Gebrauch des Kondensators mindert die Auflösung und damit die Qualität des Bildes entscheidend. Für höchste Auflösung der Mikroskopobjektive, d. h. für die erfolgreiche Anwendung von Objektiven mit hoher Apertur muß auch die Beleuchtungsapertur des Kondensators passen. Sie sollte – im Prinzip – nicht geringer sein als die des verwendeten Objektivs.

Die **Köhlersche Beleuchtung** erfordert einen Kondensator, der mit Zahn und Trieb höhenverstellbar und horizontal justierbar (zentrierbar) ist. Aus dieser Forderung wird manchmal der falsche Schluß abgeleitet, daß bei einem Mikroskop *ohne* Köhlersche Beleuchtung die Höhenverstellbarkeit des Kondensators überflüssig sei. Das trifft so nicht zu, sie ist auf jeden Fall wichtig. Einfachmikroskope haben oft keinen Kondensortrieb, sondern eine Schiebehülse, mit der man die Höhenverstellung ausführt, manchmal allerdings mehr schlecht als recht. Der Kondensator sollte bei einem ausbaufähigen Mikroskop immer auswechselbar und höhenverstellbar sein.

Oft ist an einem Kondensorträger (auf den der Höhentrieb wirkt) ein ausschwenkbarer Filterhalter angebracht. Wenn nicht, so sollte der Kondensator selbst damit ausgestattet sein. Es ist praktisch, Filter *hier* einzulegen, das ist ein optisch günstiger Ort. Legt man sie auf die Lichtaustrittsöffnung der Lampe, so ist bei vielen Geräten, bei denen die Leuchtfeldblende in der Nähe der Lichtaustrittsöffnung liegt, jedes Stäubchen auf dem Filter oder zwischen ihm und der Lichtaustrittsöffnung im Präparat sichtbar, weil diese Ebene bei guten Beleuchtungen von der Kondensatoroptik im Präparat abgebildet wird.

Der Kondensator muß eine Irisblende haben, die mit einem (möglichst weit vorragenden) Hebel einstellbar ist. Bastler sollten einen zu kurz geratenen Hebel, nach dem man ständig fummeln muß, verlängern.

#### *Frage*

Es heißt, der Kondensator soll immer mindestens die gleiche Apertur haben wie das verwendete Objektiv. Mein stärkstes Objektiv hat die Apertur 1,25, der Kondensator, den ich mir zulegen will, 1,20. Reicht das oder muß ich einen mit 1,4 nehmen?

#### *Antwort*

An die Apertur der Kondensoren werden irrigerweise oft übertriebene Anforderungen gestellt. Es kommt höchst selten vor, daß die Beleuchtungsapertur tatsächlich ebenso hoch sein muß wie die Apertur des Beobachtungsobjektivs. Meist liegt sie beträchtlich darunter. Es genügt fast immer, wenn der benutzte Kondensator eine Höchstapertur von 0,9 hat. Außerdem wird oft „vergessen“, daß Kondensatoraperturen über 1,0 nur wirksam werden, wenn die Vorderfläche der Kondensatorfrontlinse durch eine Immersionsflüssigkeit mit der Unterseite des Objektträgers verbunden ist.

Kurt MICHEL (1967) betont: „Die einwandfreie und strenge Durchführung des Köhlerschen Prinzips ist nur möglich, wenn der Kondensator ausreichend korrigiert ist. Er muß mindestens aplanatisch sein, d. h. er muß die Sinusbedingung erfüllen und sphärisch korrigiert sein. Unter Umständen muß man sogar eine Korrektur der chromatischen Aberration fordern, nämlich dann, wenn viel mit weißem Licht gearbeitet wird [im Hellfeld] und Farbaufnahmen gemacht werden sollen. Die strengen Forderungen muß der Kondensator erfüllen, wenn besonderer Wert darauf gelegt wird, im Interesse der Kontraste das ausgeleuchtete Gesichtsfeld mit Hilfe der Leuchtfeldblende auf das äußerste zu beschränken. Hält man es für zulässig, die Leuchtfeldblende weiter zu öffnen, dann werden die Forderungen an den Korrektionszustand des Kondensators sehr schnell geringer. Man kann dann durchaus auch mit unkorrigierten Kondensatoren arbeiten, wobei man unter Umständen ein geringes Nachlassen der Kontraste im Bild in Kauf nehmen muß.“

Jedes Quentchen zusätzlichen Kontrasts kann man gut bei höheren Vergrößerungen brauchen, wenn sich die Mängel einer unzureichenden Kondensorkorrektur deutlich auswirken. Dann ist ein *achromatisch-aplanatisch* korrigierter Kondensator von besonderem Nutzen.

Wenn man keine höheren Vergrößerungen als 400- bis 600fach realisiert (mit Objektiven bis 40:1, n. A. max. 0,65), genügt sogar ein einfacher Kondensator mit n. A. 0,6, wenn der Hersteller einen solchen überhaupt anbietet. Der ist billig. 0,9 reicht in der Praxis auch für eine Ölimmersion 100:1, n. A. 1,25. Kondensoren mit n. A. 1,3 oder gar 1,4 sind meist achromatisch-aplanatisch korrigiert und teilweise sehr teuer; zu empfehlen sind sie für hochkorrigierte Fluoritobjektive oder Apochromate, weil man deren teuer bezahlte Qualität sonst nicht nutzen kann. Für die Köhlersche Beleuchtung sind sie ideal, aber nicht zwingend erforderlich. Für anspruchsvolle Farbfotografie ist ein achromatischer Kondensator ebenfalls sehr empfehlenswert. Andere Kondensoren zwingen zu einigen Kompromissen. Ein teurer achromatisch korrigierter Kondensator läßt sich nur mit einer Köhlerschen Beleuchtung sinnvoll nutzen.

Hochwertig korrigierte Kondensoren sollten *stets* immernur verwendet werden, auch bei Verwendung von stärkeren Trockenobjektiven, weil die gute Korrektur sonst gestört wird und nicht wirken kann. Ein nur aplanatisch, aber nicht auch achromatisch korrigierter Kondensator hat folgende Nachteile:

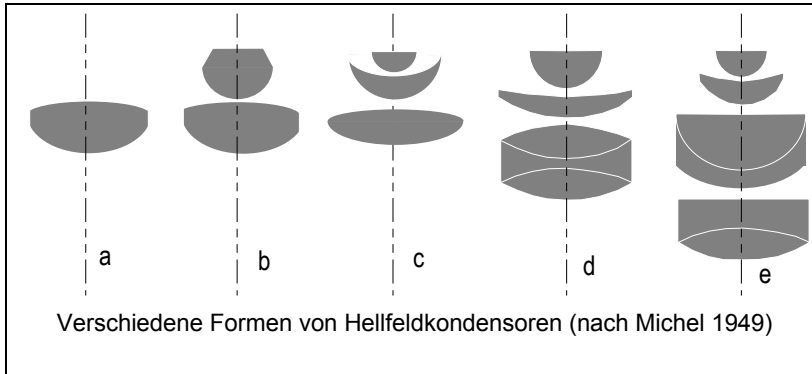
- Die Leuchtfeldblende, d. h. ihr Rand wird in der Präparateebene nicht scharf abgebildet, je stärker die Vergrößerung, um so unschärfer.
- Das Bild der Leuchtfeldblende weist an den Rändern Farbsäume auf, je einfacher die Korrektur des Kondensators und je höher die Vergrößerung, um so breiter. Beim Verstellen der Kondensatorhöhe schlagen sie von blau nach rot um oder umgekehrt.

Damit sie nicht im Bild zu sehen sind und bzw. damit sie keine Farbverschiebungen und Farbstiche im Foto verursachen, was man beim Blick ins Okular oft gar nicht bemerkt, muß man die Leuchtfeldblende je nach Breite der Farbsäume erheblich weiter öffnen als es den Köhlerschen Regeln entspricht. Diese fordern, daß die Leuchtfeldblende möglichst *wenig* über den Rand des Sehfeldes hinaus geöffnet wird, weil sonst Tubus-Innenreflexe und andere Überstrahlungen auftreten, die den Kontrast ungünstig herabsetzen können. Andererseits mögen viele unerklärliche Farbstiche auf Fotografien ihre Ursache darin haben, daß die Leuchtfeldblende bei einem farblich nicht korrigierten Kondensator *zu knapp* eingestellt wurde oder daß seine Höheneinstellung nicht stimmt.

Einfache Kondensoren werden vornehmlich für Kursmikroskope eingesetzt oder für unkritische Routine-mikroskopie in Labors und Arztpraxen. Da sind sie durchaus angebracht und reichen meist aus. Nach BORNHARDTS (1994) Beobachtungen erreichen einfache Kondensoren auch bei möglichst korrekter Einstellung der Köhlerschen Beleuchtung die angegebenen Aperturen nicht; bei Abweichung von der optimalen Höheneinstellung des Kondensators wird die Objektivpupille ungleichmäßig ausgeleuchtet, es bildet sich z. B. eine ringförmige Dunkelzone, und bei nicht präziser Zentrierung ist die Pupille halbmondförmig ausgeleuchtet.

### Kondensortypen

Die Unterschiede im Aufbau sind beträchtlich. Achromatische Kondensoren mit Apertur höher als 0,63 sind meist so gebaut, daß man die Frontlinse bei Verwendung von Objektiven mit geringer Vergrößerung (2,5 bis 10:1) umständlich abschrauben muß. Dazu muß der Kondensator bis zur seiner untersten Stellung abgesenkt werden, weil man die Finger anders nicht um die Frontlinsenfassung bekommt. Ist das Loch im Präparatetisch länglich und breit genug, kann man oft die Frontlinse mit Daumen und Zeigefinger von oben durch das Tischloch hindurch besser greifen als von unten. Gewöhnlich werden zwei Zusatzfrontlinsen zu einem achromatischen Kondensator angeboten, so daß sich drei verschiedene Maximalaperturen ergeben: Ohne Zusatzfrontlinse  $A = 0,32$ ; mit Zusatzfrontlinse „1“  $A = 0,63$ ; mit Zusatzfrontlinse „2“  $A = 1,3$  oder  $1,4$ . Da die achromatischen Kondensoren und ihre Zusatzfrontlinsen recht teuer sind, verzichten viele Käufer bei der Anschaffung auf die Zusatzfrontlinse „1“ und verwenden die Zusatzfrontlinse 2 auch für Objektive ab einer Apertur von etwa 0,4. Das führt dazu, daß man die Kondensatorblende fast bis zum Anschlag zuziehen muß, um bis zur Objektivapertur zu schließen. Besser, weil für die Blendenlamellen schonender, ist es in solchen Fällen, mit der Zusatzfrontlinse 1 zu arbeiten. Bequem ist die Arbeit mit einem zwei- oder dreilinsigen Kondensator, wenn die Frontlinse mit einem Hebel ausklapp- oder ausschwenkbar ist.



- a** einlinsiger Kondensor Apertur = bis 0,6  
**b** zweilinsiger Kondensor  $A = 0,9$  oder  $1,2$   
**c** dreilinsiger Kondensor  $A = 1,3$   
**d** achromatisch-aplanatischer Kondensor  $A = 1,0$   
**e** achromatisch-aplanatischer Kondensor  $A = 1,4$

Auch wenn wegen konstruktiver Unzulänglichkeiten manches Instrumentes und seiner Beleuchtungseinrichtung die Einstellung der Köhlerschen Beleuchtung mit Kompromissen behaftet ist, so bringt die Einhaltung ihrer Regeln doch einen deutlichen Gewinn an Brillanz des Bildes. Das Nonplusultra bietet ein *aplanatisch-achromatisch* korrigierter Kondensor. Er bildet die Leuchtfeldblendenränder so scharf und ohne jegliche Farbsäume ab, daß man sie exakt einstellen kann, indem man sie gerade eben hinter dem Rand des Gesichtsfeldes verschwinden läßt. Diese optische Leistung muß bezahlt werden, denn der optische und konstruktive Aufwand ist bei achromatischen Kondensoren doch erheblich, wie die obigen Linsenschnitt-Darstellungen zeigen. Auch wenn man einen farbkorrigierten Kondensor nicht richtig fokussiert, in der Höhe falsch einstellt, treten die Farbsäume auf. Es genügen bereits Abweichungen von Millimeterbruchteilen in der Höheneinstellung.

Es trifft übrigens nicht zu, daß sich der Aufwand eines achromatischen Kondensors nur bei den besser farbkorrigierten Objektiven, also Fluoritsystemen und Apochromaten lohnt. Bei der Mikrofotografie liefern auch die modernen, einfachen Achromate mit einem farbkorrigierten Kondensor ein besseres Bild, besonders auf Farbfilm.

Häufig sind achromatisch-aplanatische Kondensoren in einem Revolverkondensor kombiniert mit Kondensoren für Phasenkontrast (Ph) und Dunkelfeld oder Ph und Differential-Interferenzkontrast nach NOMARSKI (DIK). Manche DIK-Kondensoren haben kein eigenes System für Hellfeld, weil man ein gutes Hellfeld auch dann erhält, wenn das Wollastonprisma oberhalb des Objektivs aus dem Strahlengang herausgezogen wird, dasjenige im Kondensor aber im Strahlengang bleibt. Revolver-Ph-Kondensoren sind oft neben zwei bis drei Ph-Ringen, Hell- und Dunkelfeld auch noch mit „freien Durchgängen“ ausgestattet, das sind Revolverstellungen bei denen sich kein optisches Element im Strahlengang befindet. Dort kann man unter Umständen selbst irgendwelche Filterelemente o. ä. unterbringen. So ein Revolverkondensor hat Justierschrauben, -hebel oder -rädchen für die genaue Zentrierung der Phasenringe von Kondensor und Objektiv. Man achte auch dann bei Hellfeld-, DIK- oder Dunkelfeldeinstellung darauf, daß die Aperturblende mit den erwähnten Justierschrauben ganz genau mittig ausgerichtet ist. (Okular aus dem Tubus ziehen, Objektivhinterlinse beobachten und mit den Höhen- und Seitenjustierschrauben genau zentrieren.) Bei Dejustierung erhält man schiefe Beleuchtung oder eine ungleichmäßige Ausleuchtung, deren Ursache man zunächst vergeblich in der Beleuchtungseinrichtung oder der Kondensorzentrierung sucht.

### Kondensor ölen!

Kondensoren mit Apertur ab 1,0 sind Immersionskondensoren. Sie müssen immigiert werden, es muß sich Immersionöl zwischen der Kondensorfrontlinse und dem Objektträger befinden, anderenfalls erreicht man auch mit ihnen keine höhere Apertur als etwa 0,95. Eigentlich müßte man auch dann den Kondensor immigieren, wenn man ein *Trockenobjektiv* verwendet, weil er das Immersionöl mit in die Berechnung einbezogen ist und die gute Farbkorrektion nur dann voll wirksam ist. (Aber nicht das Trockenobjektiv immigieren!) Auf jeden Fall aber muß der Kondensor immigiert werden, wenn man ein Immersionsobjektiv benützt. „(- wenn nicht mit Öl, dann wenigstens mit Wasser)“ gibt Möllring 1980 an. Aber eine Warnung: Auch wenn auf dem Mikroskopiertisch im allgemeinen Ordnung herrscht, kann man versehentlich statt des destillierten Wassers normales Leitungswasser auf die Kondensor- oder Objektivfrontlinse bringen. Wer schon einmal versucht hat, eingetrocknete Kalkflecken von einem Objektträger zu entfernen, wird diese Prozedur weder einem Objektiv noch seiner Kondensorlinse zumuten wollen. Über den Umgang mit Immersionöl und -objektiv siehe Kapitel 4.1.9 in Teil 4.

### Zusammenfassung

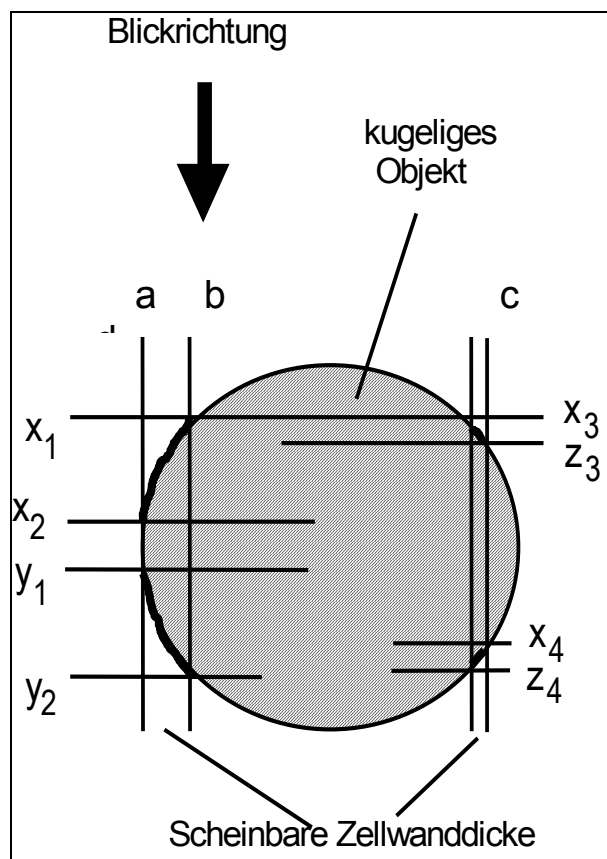
Wann brauchen wir einen Kondensor hoher Apertur, d. h. über 0,9 bis 1,4 ? Wenn wir allerfeinste Details bei höchster Auflösung sehen und fotografieren wollen. Das kommt in der wissenschaftlichen Forschung eher vor als in Amateurkreisen. Ich selbst habe noch keine Apertur über 1,0 wirklich gebraucht. Aber das sind alles theoretische Erwägungen. Denn wenn man sich wegen der besseren Farbkorrektion einen *achromatisch*-aplanatischen Kondensor zulegen möchte, bekommt man sowieso keinen mit geringerer Apertur als 1,3. Die hohe Apertur ist bei hochwertigen Kondensoren quasi eine Dreingabe.

Bei der Anschaffung eines Satzkondensors vergesse man nicht die Zusatzfrontlinse mit der Apertur 0,63 bei der Anschaffung. Man braucht diese Apertur öfter als 1,4 oder 0,32.

### 2.5.8 Die Fiktion des höheren Bildkontrasts

Aus der Fotografie ist uns die **Schärfentiefe** ein Begriff (manchmal auch semantisch falsch Tiefenschärfe genannt). Es ist der Bereich im Gegenstandsraum, der auf einem zweidimensionalen Foto scharf abgebildet ist. Die Schärfentiefe gibt an, wie tief der scharf dargestellte Bereich in den Gegenstandsraum hineinreicht. Bei weit geöffneter Objektivblende, z. B. 2,0, reicht die Schärfentiefe bei einem 50-mm-Objektiv und Entfernungseinstellung auf 5 Meter von 4,47 bis 5,68 Meter; bei Blende 11 von 3,00 bis 14,80 Meter.

Die Aperturblende des Mikroskopkondensors wirkt auf dieselbe Weise. Mit ihr regeln wir die Schärfentiefe. Doch läßt sich nicht bestreiten, daß wir durch Abblenden oftmals die Konturen eines Objektes deutlicher sehen können. In der Mikroskopie-Literatur wird das im allgemeinen so erklärt, daß das Schließen der Aperturblende den Bildkontrast steigert. Was also passiert eigentlich beim Abblenden ?



Wir betrachten die Abbildung. Dargestellt ist ein kugeliges Objekt von der Seite. Schließt man die Blende so weit, daß sich eine große Schärfentiefe ergibt, nämlich von der Objektebene x1 bis y2, so sieht man bei Betrachtung des kugeligen Objektes von oben alle in der Abbildung dicker gezeichneten Zellwandflächen zwischen a und b als ein einziges dickes Gebilde. Die nach unten gekrümmte Kugelschale zwischen x1 und x2 liegt *scheinbar* als dicke Struktur von der Breite a-b in *einer* Ebene. Ist das Objekt transparent, klar durchsichtig, „hyalin“, so wird dieses Strukturbild noch verstärkt durch die darunter liegende Kugelschale zwischen y1 und y2 und selbstverständlich auch durch alle anderen Objektstrukturen, die sich in der Bildraumsäule zwischen x1 und y2 befinden.

Blendet man nur *geringfügig* ab, so daß die Schärfentiefe gerade von x3 bis z3 reicht, so ist die Kugeloberfläche zwischen c und d von oben gesehen wesentlich schmaler. Ihr Bild wird auch nicht „verstärkt“ durch die untere Kugeloberfläche (x4 – z4) und andere Strukturen zwischen den beiden Kugeloberflächen, weil alle Strukturen unterhalb z3 außerhalb des Schärfentiefebereichs liegen und unsichtbar bleiben.

**Trotzdem kann der Kontrast in beiden Fällen gleich stark sein.**

Nach MICHEL (1967) ist er definiert als Verhältnis des Leuchtdichte-Unterschiedes zwischen einer betrachteten Objektstruktur und ihrem Umfeld zu der höheren Leuchtdichte der beiden:

$$K = \frac{E_{\max} - E_{\min}}{E_{\min}}$$

Schließen wir die Aperturblende, so ändert sich an diesem Verhältnis zunächst nichts, denn Objekt und Umfeld werden beide gleichermaßen dunkler. Auch wenn beim Abdunkeln des gesamten Bildfeldes ein helles Objekt viel deutlicher sichtbar wird, bleibt der Kontrast gleich. Das Bild wird nämlich beim Abblenden dunkler und täuscht eine zusätzliche Kontraststeigerung nur vor. In den Vergleichsabbildungen der Lehrbücher ist das so gut wie nie erkennbar, weil die Fotografien unter dem Vergrößerungsgerät durch die Wahl der Gradation des Fotopapiers oder durch seine anschließende Entwicklung so beeinflusst werden, daß die Vergleichsaufnahmen denselben Kontrastumfang mit derselben Hintergrundhelligkeit zeigen. Das ist eine fotografische Grundregel, damit jedes Bild den „vollen Tonumfang“ erhält.

Bei einem Objekt von erheblicher Tiefenausdehnung wie in unserer Grafik sehen wir bei stärkerer Abblendung ein Gemenge: Obere Fläche der oberen Zellwand-(Kugel-)Krümmung, ihre Unterseite, Ober- und Unterseite der unteren Zellwand, eventuell jede Menge Strukturelemente dazwischen, eventuell noch solche, die sich zwar zwischen  $a$  und  $b$  bzw. zwischen  $x_1$  bis  $y_2$  befinden, aber nicht zur Kugelschale gehören, und zudem noch Unschärfekreise und -ringe, die durch die Lichtbeugung entstehen. Durch die Überlagerung der Details vieler Schärfenebenen im Bild sind feine Details nicht mehr erkennbar oder ihrer Schärfenebene zuzuordnen. Es ist deshalb prinzipiell besser, die Blende nur so weit zu schließen, daß die Details nicht zu Gunsten größerer Schärfentiefe verloren gehen.

Dieses Argument trifft selbstverständlich nicht auf ganz dünne Objekte zu, wie dünne Schnitte oder flache Bruchstücke von Diatomeenschalen. Bei ihnen bewirkt wiederum die geschlossene Aperturblende, daß selbst feinste Linien durch Beugungseffekte verstärkt, verbreitert und *dadurch* deutlicher sichtbar werden – allerdings dann weniger objektgetreu.

Das Schließen der Aperturblende läßt also die Objektdetails dicker, fetter, breiter und dunkler aussehen. Dadurch sind sie besser, d. h. leichter sichtbar. Die gleichzeitige Abdunklung des gesamten Bildes bewirkt außerdem, daß unser Auge den Hell/Dunkel-Kontrast stärker empfindet. PÉTERFI (1933) verwendet dafür vorsichtig, aber korrekt den Ausdruck *Kontrastwahrnehmung*, MICHEL (1967) hingegen verneint geradezu eine Kontraststeigerung durch das Schließen der Kondensorblende. Hier seine Erklärung: Um ein „transparentes“ Objekt besser sichtbar zu machen, zieht man häufig die Kondensorblende weiter zu, beleuchtet also mit kleiner Apertur. Das kann allerdings niemals den Kontrast des mikroskopischen Bildes im eigentlichen Sinn erhöhen. Damit läßt sich nur erreichen, daß sich in der Bildebene nur solche Einzelbilder überlagern, die nicht zu verschieden sind. Es wird also nur verhindert, daß durch die bei größerer Beleuchtungsapertur auftretende Überlagerung allzu verschiedenartiger Einzelbilder das Strukturbild verwischt und in seinen Kontrasten herabgesetzt wird. Gleichzeitig wird aber der Charakter des mikroskopischen Bildes als Beugungserscheinung durch das deutliche Hervortreten von konzentrischen Helligkeitsmaxima und -minima um nicht genau in der Einstellebene liegende Objekteinheiten stark betont. Die Beugungssäume wirken sehr störend, ja können bei unkritischer Deutung zu Fehlschlüssen führen.“ (Tatsächlich kennt ja die Geschichte der wissenschaftlichen Mikroskopie jahrzehntelange Fehden um die Deutung von Feinstrukturen, z. B. in der Diatomeenkunde, die sich später als optische Artefakte herausstellten, hervorgerufen durch zu starke Abblendung des Kondensors.)

Ausgenommen in der streng wissenschaftlichen Literatur, wird sich heutzutage niemand mehr dem allgemein verwendeten Aussage „Kontraststeigerung durch Schließen der Aperturblende“ entziehen können. Weltweit ist diese Erklärung in allen Sprachen „mikroskopischer Konsens“. Doch Mikrofibel-Leser wissen es besser und kennen die „wahren Hintergründe“.

## 2.5.9 Technische Ausführungen der Mikroskopbeleuchtung

### Einbau- oder separate Leuchte

Die Beleuchtungseinrichtung ist ein sehr wichtiges Element eines guten Mikroskops. Sie kann praktisch im Stativfuß integriert oder durch eine separat aufgestellte Leuchte und einen Spiegel realisiert sein. Im letzten Fall ist es zweckmäßig, die Lampe zusammen mit dem Mikroskop auf einem gemeinsamen Grundbrett zu befestigen, damit es nicht jedesmal im Mikroskopokular dunkel wird, wenn man versehentlich die Lampe oder ihr Kabel berührt und dadurch die Lampe um nur wenige Millimeter verschiebt.

### Der Beleuchtungsspiegel

Ein ansetzbarer Beleuchtungsspiegel ist dann von Vorteil, wenn das Mikroskop auf **Exkursionen** mitgenommen werden soll. Er ist jedoch heutzutage nur als vorübergehender Notbehelf zu betrachten. Immerhin ermöglicht er aber, bei einem Instrument eine separate Leuchte aufzustellen und auf diese Weise mit einer entsprechenden Leuchte die Köhlersche Beleuchtung zu realisieren. Voraussetzung ist, daß die Leuchte mit einer Leuchtfeld-Irisblende ausgestattet, die Glühlampe zentrierbar, ihr Kollektor fokussierbar, der Kondensator in der Höhe mit Zahn und Trieb verstellbar ist und eine Apertur-Irisblende hat. Auch stärkere Leuchten, die eventuell für lichtscluckende Beleuchtungsarten wie Dunkelfeld, Phasenkontrast, Polarisation, Differential-Interferenzkontrast und Fluoreszenzbeleuchtung benötigt werden, lassen sich durch eine separate Leuchte und Umlenkspiegel auf einfache Weise realisieren.

### Auswechselbare Lampengehäuse

Es ist von Vorteil, wenn auswechselbare, verschieden starke Beleuchtungseinrichtungen (Lampengehäuse und Kollektoren) angeboten werden. Bei lichtscluckenden Beleuchtungsarten braucht man starke Lampen.

Zu einem **ausbaufähigen Forschungs- oder System-Mikroskop** gehört immer auch die Möglichkeit, ein zusätzliches Lampengehäuse „anzuflanschen“ oder das vorhandene gegen ein anderes auszutauschen. Für lichtscluckende Beleuchtungsverfahren bei hohen Vergrößerungen wie Interferenzkontrast oder Fluoreszenzbeleuchtung ist das wichtig.

### Zweckmäßige Lampentypen

Nicht selten liest man in der mikroskopischen Literatur, daß für die ideale Beleuchtung ein „Punktlicht“ gefordert sei, also eine möglichst kleine Leuchtfäche von großer Helligkeit. Das ist geradezu falsch, das Gegenteil ist richtig. Das Mißverständnis rührt wohl daher, daß in den zwanziger und dreißiger Jahren sogenannte Osram-Punktlichtlampen (Wolframbogenlampen) verwendet wurden, weil damals keine geeigneteren auf dem Markt waren. Sie wurden dann aber bald durch Niedervoltlampen mit gedrängter Glühwendel ersetzt, deren Leuchtfäche etwa zwischen 1,6 x 1,8 und 4,0 x 3,7 mm liegt. In Wirklichkeit kann die Leuchtfäche nicht groß genug sein, was allerdings mit möglichst hoher Leuchtdichte meist im Widerspruch steht. Alle Glühlampen sind deshalb Kompromißlösungen. Niedervoltlampen von 6 Volt und 15 Watt genügen für viele Aufgaben. Sie wurden in den beiden letzten Jahrzehnten weitgehend durch Niedervolt-Halogenlampen 6 bis 12 Volt und 10 bis 30 Watt ersetzt. Eine Niedervolt-Halogenlampe von 20 bis 30 Watt ist sehr vorteilhaft. 15-Watt-**Niedervoltlampen** sind etwas veraltet, zumal wenn sie mit einem speziell konstruierten Metallkragen („vorzentriert“) ausgestattet sind. Es sind aus der Mode gekommene Spezialanfertigungen, die nur noch in geringen Stückzahlen hergestellt werden und deshalb relativ teuer sind. Trotzdem ist das kein Knockout-Argument gegen den Gebrauchtkauf eines entsprechenden Mikroskops. Eine solche Niedervoltlampe ist relativ robust und langlebig, die durchschnittlichen jährlichen Kosten sind deshalb gering.

Niedervolt-**Halogenlampen** haben den großen Vorteil, daß sich im Gegensatz zu den normalen Niedervoltlampen die Aschepartikel des Glühfadens nicht auf den Innenwänden des Glaskolbens niederschlagen und ihn mit der Zeit verdunkeln. Die Lichtausbeute bleibt bei Halogenlampen also über ihre gesamte Lebensdauer konstant, und auch die Farbtemperatur ändert sich nicht, was die Mikrofotografie ohne Blitzlicht erleichtert.

Bevor man sich zur Anwendung einer Leuchte mit Quecksilberdampf- oder Xenon-Höchstdrucklampen u. ä. entschließt, studiere man sorgfältig die Anwendungshinweise der Hersteller. Auch kann eine eingehende Kostenkalkulation nicht schaden. Die explosionsgeschützten Lampengehäuse und die Netzgeräte sind teuer und eine Ersatzlampe kann mehr kosten als das komplette Mikroskop eines Hobbymikroskopikers.

Wird ein Mikroskop mit **Netzleuchte** (230 V) angeboten, ist Vorsicht geboten. Im allgemeinen ist ein solches Gerät weder später mit einer Niedervolt-(Halogen)Beleuchtung (Voraussetzung für die Köhlersche Beleuchtung) noch anderweitig ausrüstbar. Netzleuchten (220-230 V) sind eher Kennzeichen minimal ausgestatteter Mikroskope. Mit einer Netzleuchte läßt sich ein qualitativ hochwertiges Bild nicht erzielen.

Augenblicklich bahnt sich eine neue Beleuchtungstechnik in der Mikroskopie an, nämlich mit neutralweißen **Leuchtdioden**. Man kann damit auch eine Köhlersche Beleuchtung realisieren. Die derzeitigen Anordnungen machen aber noch den Eindruck von Behelfsbeleuchtungen, und nicht alle damit im Zusammenhang stehenden Probleme sind gelöst, wenn auch manchmal die Beschreibungen euphorisch klingen. Der Mikroskopkäufer sollte sich vergewissern, was beim bevorzugten Hersteller in dieser Hinsicht geplant ist.

Gelegentlich werden noch **Kohlebogenlampen** angeboten. Dank ihrer hohen Leuchtdichte, der günstigen Lichtzusammensetzung und der kreisförmig und homogen strahlenden Leuchtfläche sind sie auch heute noch eine ideale, in manchen Fällen unentbehrliche Lichtquelle, die durch keine andere ersetzbar ist. Bei ihnen entsteht zwischen zwei im rechten Winkel zu einander angeordneten, als Elektroden dienenden Kohlenstäben ein Lichtbogen. Diese Lampen sind wahre Ungetüme und im Betrieb nicht unproblematisch. Die Elektrodenabstände müssen ständig überwacht und nachgeregelt werden, und bei schlechter Einstellung bzw. Wartung entsteht leicht das giftige Gas Kohlenmonoxid in nicht unerheblicher, gesundheitsschädlicher Menge. Wegen der erheblichen Hitze, die sie abstrahlen, werden die mit ihnen beleuchteten Präparate ohne besondere Schutzmaßnahmen binnen kürzester Zeit zerstört.

### **Blitzlicht**

Wer lebende Wasserorganismen fotografieren will, wird beim heutigen Stand der Technik um eine Mikroblitz-Einrichtung nicht herumkommen. Eine gute Idee ist, sich zunächst mit der Konstruktion und Unterbringung eines Mikroblitzes vertraut zu machen und zu prüfen, ob die Konstruktion des Lampenkollektors des ins Auge gefaßten Mikroskops den An- oder Einbau eines Mikroblitzes im Stativfuß zuläßt - und wenn nicht, wo und wie der Mikroblitz denn sonst angebracht werden kann. In dieser Hinsicht ist die „Baustelfreundlichkeit“ der verschiedenen Mikroskopmodelle sehr unterschiedlich. Aber auf die ist man angewiesen, denn es werden von den Mikroskopherstellern zur Zeit (wieder einmal) keine Mikroblitzeinrichtungen angeboten.

Wer sich eine Mikroblitzeinrichtung selbst bauen möchte, lese in der MVM-Homepage unbedingt den Aufsatz *Der Mikroblitz*, dort findet man technische Hinweise, lebensrettende Warnungen und auch eine seit vielen Jahren bewährte Bezugsquelle für den Fall, daß man es vorzieht, eine professionelle Einrichtung nicht komplett selbst zu bauen.

## 2.6 Die Methoden und Einrichtungen zur Kontraststeigerung

### 2.6.1 Sinn und Zweck der Kontraststeigerung

Damit ein Mikroskop dem Auge kleine Details erkennbar machen kann, müssen zwei Voraussetzungen erfüllt sein.

1. Die Einzelheiten müssen durch die optischen Hilfsmittel *aufgelöst* werden, d. h. sie müssen im Bild klar voneinander getrennt erscheinen. Diese Voraussetzung kann durch die Wahl eines Objektivs mit entsprechend hoher Apertur erfüllt werden.
2. Das Auge muß die aufgelösten Einzelheiten *deutlich erkennen* können. Dazu ist es notwendig,
  - a) daß das vom Gerät erzeugte Bild möglichst gut definiert ist,
  - b) daß das Gerät die Einzelheiten, auf die es ankommt, dem Auge ausreichend vergrößert darbietet,
  - c) daß diese Einzelheiten sich mit ausreichendem Kontrast aus ihrer Umgebung herausheben.

Definitionsvermögen und Vergrößerung sind im wesentlichen Sache des Mikroskopherstellers. Für kontrastreiche Abbildung muß im allgemeinen der Benutzer durch sinnvolle Anwendung des Instruments und durch geeignete Präparation der Objekte sorgen.

Manche Präparate wie Bakterien oder lebende Zellkulturen absorbieren kaum Licht. Die Folge sind äußerst geringe Unterschiede in der Intensitätsverteilung des Lichtes im Bild, deshalb sind sie auch im gut justierten Mikroskop im Hellfeld kaum oder gar nicht zu sehen. Das menschliche Auge benötigt aber - bei hellem Bildhintergrund - örtliche Intensitätsschwankungen von mindestens 10 bis 20 %, um Objekte zu erkennen. Diese „Modulation“ der Lichtintensität wird von vielen mikroskopischen Objekten im Hellfeld bei weitem nicht erreicht. Deshalb färbt man sie, damit ihre Details besser sichtbar sind. Wenn das nicht möglich oder unzweckmäßig ist, greift man zu optischen Kontrastierungsmethoden: Dunkelfeld, Rheinbergbeleuchtung, Phasenkontrast, Interferenzkontrast, Differential-Interferenzkontrast (DIK, DIC - nach Nomarski), Polarisation, Fluoreszenz.

Beim Durchtritt durch transparente, im Hellfeld kaum sichtbare Objekte, wird nur die Geschwindigkeit der Lichtwellen beeinflusst. Es kommt zu einer Phasenverschiebung gegenüber den Lichtwellen, die das Objekt nicht durchdringen. Phasenverschiebungen können aber weder von unserem Auge wahrgenommen noch auf einer fotografischen Schicht abgebildet werden.

Für Wasserorganismen eignen sich sehr gut die Kontraststeigerungsverfahren Dunkelfeld, schiefe Beleuchtung (auch Schräglicht o. ä. genannt) oder DIK (Differential-Interferenzkontrast nach Nomarski). Für die beiden ersten Verfahren bastelt man sich selbst preiswerte Behelfseinrichtungen. DIK ist sehr teuer und wird nur von wenigen Top-Herstellern angeboten: Zeiss, Leica, Olympus, Nikon, PZO.

**Eine einfache Methode**, den Kontrast in gewissen Grenzen zu steigern ist die **Defokussierung**. Das geschieht meist unbewußt, indem der Mikroskopiker sein Objekt leicht *unscharf* einstellt. Denn bei Präparaten ohne Absorptionskontraste ist im Bild am wenigsten zu erkennen, wenn sehr genau auf die Objektebene eingestellt wird. Doch wenn man etwas am Feintrieb dreht, entstehen merkliche Helligkeitsunterschiede, also größere Kontraste. Vergrößert man den Abstand Objekt-Objektiv wird ein Objekt mit höherer Brechzahl als die Umgebung heller als diese abgebildet, verringert man ihn, dunkler. Die Ursache sind kleine Phasenänderungen zwischen Hauptbild und den verschiedenen Nebenbildern, die durch das Defokussieren erzeugt werden. Der Mikroskopiker macht das meist „automatisch“, indem er nicht auf maximale Schärfe, sondern auf maximalen Kontrast einstellt. Diese Methode ist bei sehr kleinen Objekten, wie z. B. Bakterien, bei denen man auch mit anderen Methoden keine genaueren Einzelheiten erkennen kann, nicht einmal die schlechteste, auch wenn sie kein klar definiertes Bild und kein reproduzierbares Ergebnis liefern kann. Doch auch einige der in den folgenden Kapiteln beschriebenen Methoden können das nur in beschränktem Maße.



### 2.6.2 Schiefe Beleuchtung

Die schiefe oder schräge Hellfeldbeleuchtung gehört dem Prinzip nach zu den sogenannten Schlieren- und Schneidenverfahren. Im mikroskopisch-technischen und im wissenschaftlichen Schrifttum wird sie selten erwähnt, in der Regel nur im Hinblick darauf, daß man mit ihr unter theoretisch günstigsten Bedingungen bei geeigneten Objekten die Auflösung „verdoppeln“ kann, aber einseitig. Wenn sie als Mittel der Kontraststeigerung erwähnt ist, so meist nur, um davor zu warnen, weil die Ergebnisse nicht reproduzierbar sind.

Hier eine Definition ihrer Wirkung: MICHEL, Kurt: *Die Mikrophotographie*. 3. Aufl. (Band 10 von: Die wissenschaftliche und angewandte Photographie. Hrsg. von Kurt Michel; weitergeführt von Jos. Stüper. Springer Verlag, Wien 1967, Seite 110 ff. Über die schräge Hellfeldbeleuchtung schreibt Michel:

*„... sie stellt das mikroskopische Analogon des Schlieren- oder Schneidenverfahrens bei der makroskopischen Abbildung dar. Hierbei wird das Hauptbild der Lichtquelle infolge der entsprechend schräg einfallenden Beleuchtungswelle an den Rand der Objektivöffnung gerückt. Infolgedessen durchsetzt die von ihm in den Bildraum weitergehende Welle die Bildebene schräg. Mag auch das Objektbild noch so klein sein, so trifft doch die schräg ankommende Welle in seiner der Seite der Lichtquelle zugewandten Hälfte mit anderer Phase ein als in der abgewandten. Man kann sich die Sache so vorstellen, daß auf der einen Seite eine extrafokale Einstellung über, auf der anderen eine solche unter die streng richtige Einstellenebene stattfindet. Infolgedessen erscheint das Objekt auf der einen Seite hell, auf der anderen dunkel. Da der Kontrast hierbei wegen der größeren Leuchtdichtegegensätze merklich höhere Werte als bei der extrafokalen Einstellung bei gerader Beleuchtung annimmt, wird ihr gegenüber das Bild auch wesentlich deutlicher sichtbar, zumal die exakte Scharfeinstellung beibehalten werden kann. Die Methode der schrägen Beleuchtung verbindet also die Vorteile der scharfen Einstellung mit der kontraststeigernden Wirkung der Defokussierung. Die mit ihr erhaltenen Bilder imponieren besonders dem Laien oft durch ihre ‚Plastik‘.“*

*„Man darf sich jedoch dadurch nicht täuschen lassen. Die Lichtverteilung im Bild des Objekts, [wie im Beispiel des einzelnen Bakterienleibes] hat nicht unbedingt etwas mit der Form des Objekts zu tun. Auch ein Stäbchen von quadratischem oder rechteckigem Querschnitt würde im Bild genau so wiedergegeben wie hier die Bakterien, von denen wohl vorausgesetzt werden kann, daß sie im allgemeinen tatsächlich einen dem Eindruck im Bild entsprechenden runden Querschnitt aufweisen.“*

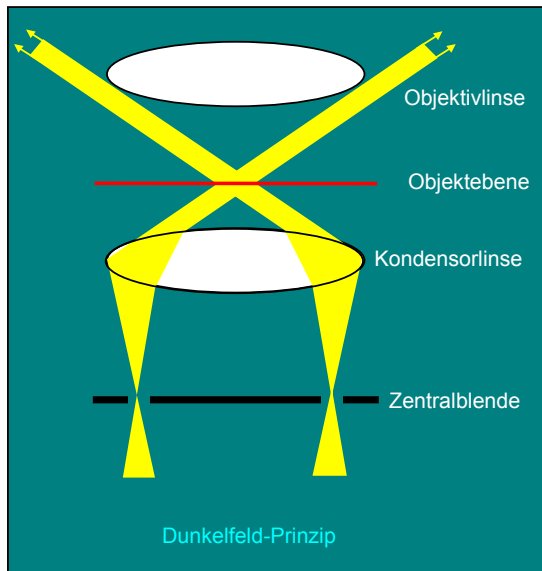
*Das irreführende Moment bei dieser Abbildungsart ist die Tatsache, daß jede Objekteinzelheit, in der das durchgehende Licht gegenüber seiner Umgebung eine größere optische Weglänge zurückzulegen hat, als aus dieser ‚plastisch‘ herausragende Einzelheit wiedergegeben wird, gleichgültig ob die größere optische Weglänge tatsächlich bei gleicher Brechzahl durch eine größere Dicke bedingt ist oder bei gleicher oder sogar geringerer Dicke nur durch ihre höhere Brechzahl. Es wird also stets gewissermaßen die optische Dicke, nicht aber die mechanische Dicke dargestellt. Wenn auch im ersten Fall die Deutung als Erhöhung nach dem Eindruck des Bildes zutrifft, so führt sie im zweiten zu völlig falschen Vorstellungen. Da man vielfach kein weiteres Kriterium hat, nach dem sich entscheiden läßt, was richtig ist, sollte man mit Aussagen auf Grund von Bildern, die mit der Methode der schrägen Beleuchtung gewonnen sind, ganz besonders vorsichtig sein.“*

Besonders schön ist die Wirkung der schiefen Beleuchtung bei den „glasklaren“ Planktonwesen, deren Körperteile und innere Einzelheiten durch die reliefähnliche Wirkung nicht nur schön hervorgehoben, sondern oftmals überhaupt erst deutlich sichtbar werden.

**Wie man sich kleine Hilfsmittel für die schiefe Beleuchtung selbst bastelt,** steht im Kapitel 4.5.2.

### 2.6.3 Dunkelfeld

Ein Dunkelfeld entsteht, wenn der mittlere Teil des Hellfeld-Lichtkegels durch eine Zentralblende ausgesperrt wird, so daß es als ein Hohlzylinder durch den Kondensator dringt. Die Kondensatorlinse macht daraus einen dünnwandigen Hohlkegel, dessen Lichtstrahlen an der Objektivlinse vorbeigehen. Wenn kein Objekt im Präparat ist, sieht man deshalb nur Dunkelheit im Okular, sonst nichts.



Befindet sich aber ein Objekt in der Präparatebene, so streift das Licht des Hohlkegels die seitlichen oder oberen Kanten Präparats, die dadurch hell aufleuchten. Durchsichtige Objekte werden auch schräg durchleuchtet.

Dieses Streiflicht wird am Objekt und vor allem an den Objektkanten in alle möglichen Richtungen reflektiert. Ein Teil davon fällt auch als Streulicht ins Objektiv. Je nach Gestalt des Objekts können wir oftmals seine gesamte Oberfläche gut sehen, fast wie bei einer sehr schrägen Auflichtbeleuchtung. (In der Fotografie ist diese Art Beleuchtung als „Gegenlicht“ bekannt und beliebt. In der Kinetik verwendet man sie zusätzlich zu einer Frontalbeleuchtung als schräge Effektbeleuchtung von hinten, wobei das Objekt selbst als „Zentralblende“ fungiert.)

Dunkelfeldbeleuchtung läßt sich technisch auf unterschiedliche Weise realisieren. Die Mikroskophersteller liefern bequem anzuwendende Dunkelfeldkondensoren verschiedenster Bauart.

Für die Verwendung von Objektiven bis 25:1 kann man sich auch ohne großes Bastelgeschick passende Dunkelfeldblenden selbst herstellen. Sie können an verschiedenen Stellen am Kondensator angebracht werden. Meist wird, weil es am einfachsten ist, eine Zentralblende in den schwenkbaren Filterhalter unterhalb des Kondensators gelegt.

Zwei interessante Broschüren von G. Göke, Hagen:

- Das Mikroskop. Hagener Mikro-Heft der Mikroskopischen Arbeitsgemeinschaft Hagen e. V., HM 21, Mai 2001; Göke, G.: Dunkelfeld-Mikroskopie. Teil 1. HM 22, Juni 2001. Teil 2. Es sind ausführliche Aufsätze v. 8 bzw. 7 Seiten.

- Eingriffe in den Strahlengang des Mikroskops. Hellfeld, Dunkelfeld, Phasenkontrast, Reliefkontrast – mit einem Kondensator. Broschüre. 10 Seiten, ohne Jahresangabe.

Aus Heft HM 21 noch einige Hinweise für Bastler:

„Folgende Besonderheiten müssen beim Gebrauch des selbstgebauten dioptrischen Dunkelfeldkondensors beachtet werden:

A. Der mit einer Zentralblende ausgerüstete Hellfeldkondensator soll eine numerische Apertur von 1,2 bis 1,4 haben, wenn Objektive bis 40:1/0,65 verwendet werden. Er kann bei schwächeren Objektiv trocken benutzt werden. Sonst ist es besser, seine Frontlinse mit Wasser oder Immersionsöl luftblasenfrei zu immernieren. Durch Heben und Senken sowie seitliches Verschieben muß er so eingestellt werden, daß sein Leuchtfeld richtig abgebildet wird. [Anmerkung: Auf keinen Fall darf man Kondensoren immernieren, die eine Apertur von 0,9 oder darunter haben. Das kann ihnen schaden, weil es Trockenkondensoren sind.]

B. Die Zentralblende muß mindestens einen Durchmesser haben, der einer Beleuchtungsapertur von der Größe der Objektivapertur entspricht. Zur Vermeidung von Überstrahlungen bzw. eines Grenzdunkelfeldes macht man die meistens etwas größer.

Faustregel: Eine Zentralblende mit dem Durchmesser von 18 bis 19 mm im Filterträger des Hellfeldkondensators mit einer Apertur von 1,2 bis 1,4 reicht in der Regel für ein Dunkelfeld mit den Objektiven 10/0,22 bis 40/0,65 aus, doch sollte man zur Erzielung eines tiefschwarzen Untergrundes das Objektiv 40/0,65 bzw. 40/0,75 mit einer Iris- oder Trichterblende ausrüsten. Am besten stellt man sich mehrere Zentral-

blenden mit unterschiedlichem Durchmesser aus schwarzer Pappe her und klebt diese auf runde Glasscheiben. Kondensoren mit einer Beleuchtungsapertur von 1,4 liefern besonders gute Resultate, weil die Lichtstrahlen wegen ihres schiefen Einfalls am Deckglas total reflektiert werden. Wichtig: Die Zentralblende muß in der Nähe der Apertur-Irisblende des Kondensors angeordnet werden, (z. B. im Filterträger), nicht auf der Lichtaustrittsöffnung des Stativfußes, wo man normalerweise die Lichtfilter und Mattscheiben einsetzt.“

Für die anspruchsvolle Mikroskopie und Mikrofotografie im Dunkelfeld sollten Objektträger mit möglichst geringen Abweichungen vom Normwert 1,1 mm Dicke verwendet werden. Beim Einsatz von Dunkelfeldkondensoren mit geringer Schnittweite, z. B. von Kardioidekondensoren, läßt sich bei Objektträgern mit Dicken über 1,1 mm das Dunkelfeld nicht mehr einstellen. 1,2 mm ist schon zu dick. In den Listen der Labormaterialianbieter werden jedoch häufig Objektträger mit einer Dicke von 0,9 bis 1,2 mm angeboten.

Mitunter ist die erforderliche Objektträgerdicke auf dem Dunkelfeldkondensator oder in seiner Bedienungsanleitung angegeben.

Für die Fotografie im Dunkelfeld müssen Objektträger und Deckgläser peinlich sauber sein und sollten keine Luftbläschen oder Fremdkörper im Glas enthalten.

#### 2.6.4 Rheinbergbeleuchtung



Baustelle

## 2.6.5 Phasenkontrast

### 2.6.5.1 Fragen und Antworten zum Phasenkontrast

#### *Frage*

Ich möchte ein Mikroskop zu Hobbyzwecken kaufen. Sollte ich als Erstausrüstung Phasenkontrastobjektive wählen?

#### *Antwort*

Nein.

#### *Frage*

Ich habe gelesen, mit Phasenkontrastbeleuchtung könne man ungefärbte Objekte besser sehen. Kann ich, anstatt Schnitte zu färben, die Strukturen im Phasenkontrast sichtbar machen? Ist das nicht einfacher als färben?

#### *Antwort*

Nein. Einfacher ist es schon, aber so funktioniert das nicht. Nur bei wenigen Objekten kann man diejenigen Strukturen im Phasenkontrast besser sehen, die man mit Färbetechniken deutlich machen würde. Für botanische oder zoologische Schnittpräparate eignet sich Phasenkontrastbeleuchtung, die eine große Rolle in der Medizin spielt, nur in besonderen Fällen. Viele Mikroskopiker haben nie gelernt, ein Hellfeldbild sauber „nach Vorschrift“ einzustellen oder haben falsche Vorstellungen von den Strukturen, die sie im Mikroskop sehen können. Sie weichen deshalb oft auf Phasenkontrast aus, weil man damit wenigstens „etwas“ sieht. Die erfolgreiche Anwendung von Ph setzt aber voraus, daß man sein Objekt vom Hellfeldbild her, auch bei schiefer Beleuchtung oder Dunkelfeld gut kennt und daß man die Hellfeldeinstellung einwandfrei beherrscht. Ist das nicht der Fall, wird auch der Phasenkontrast nicht den rechten Gewinn bringen.

Seine besondere Stärke zeigt das Phasenkontrastverfahren bei der Beobachtung lebender Objekte, die man meist sowieso nicht anfärben würde.

Eine Voraussetzung für die wirksame Anwendung des Phasenkontrasts sind sehr dünne Objekte.

#### *Frage*

Stimmt es, daß Phasenkontrastobjektive im Hellfeld ebenso gut zu verwenden sind?

#### *Antwort*

Nein. Nicht ebenso gut. Auch wenn es in Amateur-Ratgebern oft heißt „mit kaum merklichen Qualitätseinbußen auch im Hellfeld brauchbar“, so sollte man das sinnvoll interpretieren.

Das Bild ist nur bei schwächer vergrößernden Objektiven (6 bis 20:1) einigermaßen zufriedenstellend. Der Phasenring aus einer Mischung von Metall und Kohle auf einer Linsenoberfläche im Objektiv oder auf einer Glasplatte darin blendet einen Anteil des vom Kondensator kommenden Hellfeldlichtes aus, was zu einer Minderung der numerischen Apertur führt. Das macht sich bei schwachen Objektiven nicht so deutlich bemerkbar wie bei starken, weil schwache Objektive im Verhältnis zu den mit ihnen angestrebten Vergrößerungen sehr hohe Aperturen haben. Bei Objektiven ab Eigenvergrößerung 25:1 wird der Aperturverlust schon deutlicher. Das Bild ist nicht so brillant, nicht so farbrein und nicht so scharf, also schlechter als mit normalen Hellfeldobjektiven, besonders bei den Achromaten, die keine hohen Aperturen haben.

Überhaupt ist bezeichnend, daß die renommierten Mikroskophersteller auf solche Werbesprüche wie „Phasenkontrastobjektive mit kaum merklichen Qualitätseinbußen auch im Hellfeld brauchbar“ meist verzichten, vor allem in ihren Katalogen und technisch ausgerichteten Publikationen. Carl Zeiss drückte das einmal so aus: *„Bei Hellfelduntersuchungen mit Phasenkontrastobjektiven ist damit zu rechnen, daß – je nach Korrekturstyp – eine mehr oder weniger merkliche, in den meisten Fällen aber kaum störende Kontrasteinbuße auftritt, am wenigsten stark bei den NEOFLUAREN Ph und Planapochromaten Ph. Zu Dunkelfelduntersuchungen sind Phasenkontrast-Objektive im allgemeinen nicht zu empfehlen.“*

In Prospekten über den klinischen Einsatz des Phasenkontrastmikroskops findet man die „Verwendbarkeit“ noch am ehesten angedeutet – mit Zurückhaltung. Bei Routineuntersuchungen in der Medizin kommt es nämlich auf ein qualitativ hochwertiges Bild in vielen Fällen gar nicht so an, z. B. beim Auszählen von Blutaussstrichen und ähnlichem. Da ist die Kontrasteinbuße eben „kaum störend“. Doch beim Mikro-Amateur, dem Schärfe, Farbsättigung und Kontrast, also Qualität und die Schönheit des mikroskopischen Bildes, ähnlich dem Fotoamateur, meist ein wichtiges Motiv für sein Hobby sind, wird keine rechte

Freude bei der Verwendung von Ph-Objektiven im Hellfeld aufkommen. Nun ist aber unstrittig, daß manche Mikroskopiker damit trotzdem durchaus zufrieden sind, ebenso, daß andere es nicht sind.

Qualitativ hochkorrigierte Objektive zu wählen, das sind Fluoritsysteme oder gar Achromate, die eine wesentlich höhere num. Apertur haben, so daß die Aperturminderung durch den Phasenring sich nicht so gravierend auswirkt, scheidet oft am Preis. Da kann manches Objektiv allein das Vielfache eines Mikroskops samt achromatischen Objektiven kosten. Andererseits wäre das für die bei Amateuren beliebten Wasserorganismen auch unpraktisch, weil die normalen Achromate robuster und wegen ihres meist längeren Arbeitsabstandes leichter in der Handhabung sind. Hochaperturige Objektive reagieren nämlich auf geringste Abweichungen von der vorgeschriebenen Deckglasdicke (= 0,17 mm) mit flauen und unscharfen Bildern. (Wenn man gelegentlich mit dem Bild des normalen 40:1, n. A. 0,65 nicht zufrieden ist, kontrolliert man am besten erst einmal, ob nicht das Deckglas zu dick ist (seltener zu dünn). Das kommt gerade bei Wasserorganismen immer wieder einmal vor, weil die Wassersäule über dem Objekt, zwischen Objekt und Deckglasunterkante, mit zur Deckglasdicke gerechnet werden muß. In den seltensten Fällen liegen die Organismen direkt an der Unterseite des Deckglases an.)

#### *Frage*

Phasenkontrastobjektive sind ja bekanntermaßen mit einem Phasenring ausgestattet. Wie stark stört dieser Ring nun in der normalen Hellfeld-Mikroskopie? Wie stark stört dieser Ring im Interferenzkontrast? ... Persönlich habe ich da sehr unterschiedliche Erfahrungen gemacht. Bei den Objektiven eines Herstellers beispielsweise liefert das Phasenkontrast-Objektiv 40fach ein recht gutes Bild im Hellfeld, dafür ist das Bild im Phasenkontrast relativ flau. Bei einem anderen Hersteller nun ist das Bild im Phasenkontrast sehr gut, das Ergebnis im Hellfeld allerdings nur eingeschränkt zu gebrauchen. Für den Interferenzkontrast fehlen mir zwar derartige Vergleiche, aber auch da müßten die Phasenkontrastobjektive eine etwas schlechtere Leistung bringen. Haben Sie zu dieser Problematik Erfahrung?

#### *Antwort von G. Göke*

Die Phasenringe im Objektiv bestehen aus einer phasenverschiebenden und einer lichtabsorbierenden Schicht. Sie decken einen Teil der freien Objektivöffnung ab und haben deshalb einen mehr oder weniger großen Einfluß auf die Bildqualität im Hellfeld. Die Größe dieses Einflusses ist davon abhängig, wie breit der Ring und wie groß die Lichtabsorption ist. Die Breite des Ringes ist von Fabrikat zu Fabrikat verschieden. Die lichtabsorbierende Schicht kann aus aufgedampftem Metall, Ruß oder Goldstaub bestehen. Beim negativen Ph kann die Lichtabsorption des Ringes 70 bis 90 % betragen. Es gibt Objektive mit sehr schmalen Phasenringplatten (strenges Zernike-Verfahren). Ihr Einfluß auf die Apertur ist gering. Es gibt aber auch recht breite Ringe (nicht-strenges Verfahren). Wenn diese gleichzeitig eine stark lichtabsorbierende Schicht besitzen, ist der Einfluß auf Apertur und Bildqualität größer. Je breiter der Ring und je stärker seine Lichtabsorption ist, um so größer ist dieser Einfluß. Beim Ph selbst wird die Aperturverringerng und damit der Einfluß auf die Auflösung durch die Kontrastanhebung kompensiert, die beim Hellfeld aber nicht gegeben ist. Also nimmt die Auflösung etwas ab. Bei Farbaufnahmen hat die lichtdämpfende Schicht aus Ruß oder Gold auch einen Einfluß auf die Farbwiedergabe. Im allgemeinen ist es aber so, daß man aus Kostengründen die Phasenobjektive auch für Hellfeld verwendet und nur den Ph-Kondensator auf seine Leerstelle umschaltet. Die etwas geringere Leistung wird dann in Kauf genommen, bzw. von vielen Mikroskopikern in Abhängigkeit vom Untersuchungsobjekt gar nicht wahrgenommen. Beim Interferenzkontrast ist es ähnlich, aber etwas komplizierter. Hier sollte man Hellfeld-Objektive verwenden. Anmerkung: Man kann die Ringblenden des Ph-Kondensators in Kombination mit Hellfeld-Objektiven benutzen. Das Auflösungsvermögen der Objektive wird etwas größer, als nach den klassischen Formen zu erwarten wäre (Superresolution).

#### *Frage*

Brauche ich zur Beobachtung von „Plankton“ bzw. Wasserorganismen Phasenkontrastobjektive? Phasenkontrastobjektive verstärken doch den Kontrast, so daß die kontrastschwachen Lebewesen des Wassers erst damit so richtig sichtbar werden?

#### *Antwort*

Nein. Es gibt durchaus Organismen, deren Details ohne Phako fast unsichtbar sind. Aber die wird man nur mit einiger Erfahrung überhaupt entdecken und bestimmen können, also wenn man schon hinreichend Erfahrung mit der Mikroskopie im normalen Hellfeld gewonnen hat. Die allermeisten Mikroorganismen des Wassers sind aber keineswegs so kontrastlos, daß man sie nicht im normalen Hellfeld recht gut sehen und auch fotografieren könnte. Mit Kontraststeigerung durch Dunkelfeld oder schiefer Beleuchtung kann der Amateur meist mehr anfangen. Sie sind durch Bastelarbeiten billig und einfach herzustellen und anzuwenden.

Siehe auch 5.6 *Wasserorganismen fangen und untersuchen*.

Speziell für Hobbymikroskopiker lohnen sich Phako-Objektive in den ersten zwei, drei Jahren kaum. Zunächst muß man lernen, die Wasserorganismen zu beobachten, ihr Aussehen und ihr Verhalten genau kennenzulernen, sie zu bestimmen. Keine leichte Aufgabe angesichts der Vielzahl unterschiedlicher und doch oft ähnlicher Gattungen und Arten. Alle Bestimmungswerke enthalten Handzeichnungen, die auf Beobachtungen im normalen Hellfeld beruhen. Im Phasenkontrast kann man nämlich Organismen so gut wie nie bestimmen, weil es keine Bestimmungsliteratur gibt, in der Phako-Abbildungen gezeigt werden. Das hat seine Gründe:

Erstens kann man Phasenkontrast nur mit einer guten Köhlerschen Beleuchtung zufriedenstellend realisieren, womit diese Methode für schnelle Bestimmungen auf Exkursionen, wo der Beleuchtungsspiegel praktisch ist, ausscheidet. Manche Organismen muß man nämlich vor Ort identifizieren, sie sind so empfindlich und hinfällig, daß sie sich bereits wenige Minuten nach dem Fang teilweise oder ganz zersetzen. Dann sind sie nicht mehr bestimmbar. Sie können also nicht transportiert werden. Aber genau sie sind die zarten, kleinen, fast unsichtbaren Wesen, für die Phako noch am ehesten infrage käme.

Zweitens hat das Phasenkontrastbild eine störende Eigenschaft: die hellen Haloringe um jedes Objektteil, die sich gegenseitig überlagern und zu einem verwirrenden Bild führen, besonders bei durchscheinenden oder glasklaren (hyalinen) Organismen. Das kann nur interpretieren, wer hinreichend Erfahrung mit dem ganz normalen Hellfeld gemacht hat. Hinzukommt, daß das Phako-Verfahren für ganz dünne Schnittpräparate in Biologie und Medizin entwickelt wurde, z. B. Ausstriche von Blut, Spucke, Urinproben, Bakterien oder dünne histologische Schnitte. Da zeigt es seine Stärken. Bei dickeren Präparaten erhält man - wie schon erwähnt - recht verwirrende Strukturen durch die Lichterscheinungen der Haloringe und durch andere Effekte. Besonders gilt das bei der Mikroskopie von Wasserorganismen, denn die sind ja keineswegs dünn und flach, sondern im allgemeinen vollgefressen, ihre Gestalt ist eher kugelig-rund.

Es gibt eine ganze Anzahl von Ausnahmen, also Organismen, die man ohne Phako wirklich nur schlecht erkennen und beobachten kann. In der Mikrobiologie: lebende, wachsende Pilzhyphen in speziellen Präparaten, bestimmte Bakterien und Zellkulturen. Auch die Amöbenforscher verwenden Phako nicht ungern - aber nur für spezielle physiologische Untersuchungen.

Für Wasserorganismen eignen sich indessen sehr gut die Kontraststeigerungsverfahren Dunkelfeld, schiefe Beleuchtung (auch Schräglucht o. ä. genannt) oder DIK (Differential-Interferenzkontrast nach Nomarski). Die beiden ersten Verfahren sind preiswert vom Bastler zu realisieren, DIK ist sehr teuer und wird nur von wenigen Top-Herstellern angeboten: Zeiss, Leica, Nikon, Olympus, PZO.

Immer wieder einmal werden von der Industrie Phasenkontrasteinrichtungen vorgestellt, die sich auch für etwas dickere Objekte eignen sollen. Doch war ihnen bisher noch kein durchschlagender Erfolg beschieden, bzw. man hört regelmäßig nach kurzer Zeit nichts mehr davon, wohl weil kein echter Bedarf danach besteht.

#### **Noch ein Phako-Tipp für Planktonfreunde**

Wer Planktonorganismen im Phasenkontrast farbig fotografieren möchte und noch in der Wahl seines Mikroskops frei ist, könnte folgende Überlegung anstellen. Die Art des Materials der Licht absorbierenden Schicht einer Phasenringplatte im Objektiv beeinflusst recht deutlich die **Farbwiedergabe des Untergrunds** im Bild. Manche Hersteller verwenden Stearinruß bzw. Kryolith für die phasendrehende Schicht. Da Ruß für längere Lichtwellen besser durchlässig ist als für kurze, erscheint der Bilduntergrund in einer von manchem als angenehm bezeichneten braunen Farbe. Andere Hersteller, Zeiss z. B., verwenden Metallschichten, bei denen der Bilduntergrund blaugrau ist. Wer als Hobbyfotograf anderen Menschen farbige Phako-Bilder von Wasserorganismen zeigen will, sollte überlegen, ob der graublaue oder blaugraue Untergrund nicht doch einen stärkeren Eindruck von Wasser vermittelt als ein mitunter schmutzig-brauner, der an eine Moorbrühe erinnert.

#### **2.6.5.2 Was ist Phasenkontrast?**

Eine Beleuchtungsmethode, um Phasenobjekte sichtbar zu machen.

Aufbauend auf der „Theorie der Bildentstehung im Mikroskop“ von Ernst ABBE (1869) hat der holländische Physiker Frits ZERNIKE 1932 bis 1934 das Phasenkontrastverfahren zuerst als Verbesserung des Schneiden- oder Schlierenverfahrens von FOUCAULT (1859) und TÖPLER 1884) für die exakte Prüfung der Oberflächenbeschaffenheit von astronomischen Spiegeln entwickelt. Die Übertragung des Verfahrens auf die mikroskopische Abbildung nahm er erst in zweiter Linie vor und trat dann sein Patent an die Carl-Zeiss-Stiftung ab. Anfang der 40er Jahre kamen die ersten Ph-Einrichtungen von Zeiss auf den Markt. Der Biologe Kurt MICHEL, Konstrukteur der erfolgreichen Mikroskopbaureihe Standard bei Zeiss Winkel in

Göttingen, verschiedener Kameramikroskope und des berühmten Axiomat, später Technischer Leiter des Mikroskopbereichs bei Carl Zeiss Oberkochen, konnte 1943 erstmalig mit diesem Verfahren die Zellteilung beobachten und auf einem Film dokumentieren: „Die Reifeteilungen (Meiose) bei der Spermatogenese der Schnarrheuschrecke (*Psophus stridulus* L.)“. Der Film erregte großes Aufsehen in der wissenschaftlichen Welt und machte das Phasenkontrastverfahren schlagartig bekannt. Zur biologischen Forschung kam der Einsatz in der medizinischen Routinediagnostik. Die mit dem Phasenkontrast gewonnenen Erkenntnisse waren von so weitreichender Bedeutung, daß ZERNIKE 1953 mit dem **Nobelpreis für Physik** ausgezeichnet wurde.

Gefärbte Präparate im Hellfeldmikroskop absorbieren die einfallenden Lichtstrahlen, d. h. sie verringern die Amplitude der Lichtwellen mehr oder weniger stark. Diese Amplitudenunterschiede werden von unserem Auge als Helligkeitsunterschiede wahrgenommen. Ein solches Objekt bezeichnet man auch als **Amplitudenobjekt**.

Ungefärbte Präparate dagegen absorbieren die Lichtwellen kaum, und es kommt daher auch nicht zu Helligkeitsunterschieden. Beim Durchtritt durch transparente Objekte wird nur die Geschwindigkeit der Lichtwellen beeinflusst. Es kommt zu einer **Phasenverschiebung** gegenüber den Lichtwellen, die das Objekt nicht durchdringen. Phasenverschiebungen können aber weder vom Auge wahrgenommen noch auf einer fotografischen Schicht abgebildet werden. Ein solches Objekt nennt man **Phasenobjekt**.

Die winzigen Unterschiede der Phasenverschiebung macht der Phasenkontrast mit optischen Mitteln sichtbar, er verwandelt sie in Intensitätsunterschiede. Der optische Effekt, der dabei genutzt wird, besteht in einer Phasenverschiebung im Lichtstrahl. Die Lichtwellen werden bei ihrem Weg durch Zellkerne, Zytoplasma oder Wasser um kleine Beträge verschoben, weil diese Medien geringfügig verschiedene Brechungsindizes haben. Ist der Brechungsindex eines Mediums höher, so wird die Lichtgeschwindigkeit in ihm kleiner. Die Folge ist, daß eine Lichtwelle, die einen Zellkern z. B. passiert hat, mit Verspätung den Lichtwellen hinterher eilt, die nur das Wasser durchqueren mußten. **Den Betrag dieser Verspätung nennt man Phasenverschiebung.** Die Wellen sind vor dem Eintritt in das Präparat noch „in Phase“, nach dem Passieren der verschiedenen Medien aber nicht mehr. Der Betrag der Phasenverschiebung hinter dem Präparat hängt davon ab, welche Medien (Brechungsindizes) die Lichtwellen auf ihrem Weg zu durchqueren hatten und wie lang die Wegstrecken in diesem Medium waren.

Die Phasenkontrastmethode übersetzt mit optischen Tricks die Phasenverschiebungen in **Grauwerte**, die unser Auge sehen kann.

### 2.6.5.3 Wozu Phasenkontrast, für welche Objekte?

Das Phako-Verfahren setzt eigentlich eine sehr kleine Aperturblende und infolgedessen ein so kleines Phasenplättchen voraus, daß die Beeinflussung des am Objekt gebeugten Lichts durch das Phasenplättchen zu vernachlässigen ist. Bei größeren Objekten, das sind im Grunde alle, die größer als „sehr klein“ sind, ist diese Voraussetzung nicht erfüllbar, deshalb erscheinen im Bild Strukturen, die im Objekt nicht vorhanden sind. Wer ein Objekt nicht durch Beobachtung im Hellfeld genau kennt, kann deshalb sein Phasenkontrastbild nicht richtig deuten, nicht entscheiden, welche Objektdetails echt und welche durch den Phako künstlich hervorgerufen sind.

Die Haloerscheinungen rund um die Objektdetails sind recht erträglich bei sehr kleinen Objekten, wie Bakterien, Pilzhyphen und -sporen, Mikroalgen, winzigen, farblosen Flagellaten, kleinen Amöben. Verwirrend aber sind sich überschneidende Halos von nahe beieinander liegenden Objektdetails und von solchen, die in unterschiedlichen Fokusebenen liegen. Um die Wirkung der hellen Höfe in der Praxis zu vermindern, empfiehlt es sich, in den Präparaten die Objekte nur in einer einzigen Schicht und mit möglichst großen Zwischenräumen aufzutragen, also z. B. sehr dünne Ausstriche zu machen.

Präparate, in denen Objekte in mehreren Schichten übereinander liegen (Zellen in dickeren Schnitten z. B.), bieten grundsätzlich überhaupt nicht mehr die Voraussetzung für die Anwendung des Phako-Verfahrens, da genau definierte, auf die Wirkung einer bestimmten Objekteinzelheit zurückgehende Phasenbeziehungen beim Austritt der Lichtwellen aus dem Präparat bei ihnen nicht mehr vorliegen. Solche Präparate sind deshalb der Beobachtung mit Phako nicht zugänglich.

**Hauptanwendungsgebiet des Phako ist die Untersuchung lebender mikroskopischer Objekte:**

Bakterien- und Pilzkulturen (Hefezellen sind wegen ihrer Linsenwirkung und des dadurch ausgeprägten Haloeffektes keine geeigneten Objekte. Aber mit Gelatinegelen als Einschlußmittel wird der Halo unterdrückt.)



In der **Medizin**: Zellulärpathologie und pathologische Histologie zur Frühdiagnose; Krebs- und diverse Blutkrankheiten; Morphologie des Blutes, Thrombozytenzählung in der Zählkammer; Hämatologie, Organpunktate und -gewebe, parasitische Protozoen, Pilze, Bakterien, Körperflüssigkeiten und Ausscheidungen, Sekrete, Exkrete und Exsudate. Ungefärbte fixierte histologische Schnitte; Gynäkologie und Urologie: Funktionszustand von Zellen, Trichomonaden, Spermien, Bakterien, Pilze, tierische Parasiten; Schleimhautepithelien, Nachweis von Protozoen in der Gastroenterologie.

In der **Technik und Mineralogie**: Glas, Fasern, Textilforschung, Chemie, Kristalle, Brechzahlbestimmung bei kleinen Objekten in der Mineralogie.

ZERNIKE hatte den Phako ursprünglich nur für Präparate mit sehr kleinen Phasendifferenzen gedacht.

#### 2.6.5.4 Prinzip und technische Ausführung

Das Phasenkontrastprinzip wird in der Mikrofibel nicht beschrieben. Dafür ist die angeführte Literatur geeigneter. Siehe MICHEL 1967 und GERLACH 1976; EHRINGHAUS/TRAPP 1958; MICHEL 1959; MICHEL in: HANSEN, ROMINGER, MICHEL, o. J.; FRANÇON 1967.

Jedes moderne Hellfeldmikroskop kann, soweit es eine Köhlersche Beleuchtung hat, zu einem Phasenkontrastmikroskop ausgebaut werden. Benötigt werden spezielle Phasenkontrastobjektive und ein Phasenkontrastkondensator.

Die Ph-Objektive besitzen eine fest eingebaute Phasenplatte, die aus praktischen Gründen ringförmig gestaltet ist. Solche Objektive sind auf der Fassung gekennzeichnet, z. B. mit Ph, Phaco o. ä. und meist zusätzlich mit einer Ziffer. Im Kondensator wird anstelle der Aperturblende eine Ringblende eingeschaltet, welche dieselbe Ziffer trägt wie das Objektiv. Die Ringblende des Kondensators wird nun, am besten mit einem kleinen Fernrohr, **Hilfsmikroskop** genannt, das anstelle des Okulars in den Tubus gesteckt wird, mit der Ringblende des Objektivs genau zur Deckung gebracht. Die Zentrierschrauben dafür sitzen am Ph-Kondensator.

In einem Phasenkontrastmikroskop werden wie bei der Hellfeldbeleuchtung Lichtstrahlen an dem Präparat abgelenkt. Sie sind gegenüber den nicht abgelenkten Phasenverschoben und wesentlich dunkler. Die ringförmige Phasenplatte in der hinteren Brennebene des Objektivs hat zwei Aufgaben:

1. Die Helligkeiten von abgelenktem und nicht abgelenktem Licht müssen angeglichen werden. Das wird dadurch erreicht, daß die direkt hindurchgehenden Lichtstrahlen in ihrer Intensität abgeschwächt werden. Das ist der Grund, warum ein Ph-Bild im Untergrund immer dunkler ist als ein Bild im Hellfeld.
2. Die von der Mehrzahl der biologischen Objekte hervorgerufene Phasenverschiebung von  $\frac{1}{4}$  Wellenlänge wird so verschoben, daß die Phasenverzögerung  $\frac{1}{2}$  Wellenlänge beträgt. Damit fallen bei der Interferenz der Lichtwellen Wellenberg auf Wellental, und es erfolgt eine Auslöschung. Ein vorher nicht sichtbares Phasenobjekt erscheint im Zwischenbild jetzt dunkel auf einem helleren Untergrund.

#### 2.6.5.4 Modeerscheinung im Amateurbereich

Nach seiner Einführung 1943 setzte sich das Phasenkontrastverfahren infolge der Kriegs- und Nachkriegszeit nur langsam durch, eroberte sich aber nach und nach alle geeigneten mikroskopischen Gebiete. Mitte der sechziger Jahre war der Siegeszug im wesentlichen abgeschlossen. Nur wenige Amateure konnten sich in jener Zeit Phako leisten, es wurde deshalb auch zum Statussymbol für finanziell besser gestellte Liebhabermikroskopiker. Man muß nur einmal in den entsprechenden Jahrgängen von „des Mikroskopikers liebster Zeitschrift“, des MIKROKOSMOS blättern: Beinahe alles und jedes wurde mit Phako fotografiert, auch völlig ungeeignete Präparate. Der damalige Herausgeber des Mikrokosmos, Dr. Dieter KRAUTER, versuchte feinfühlig und dezent gegenzusteuern, aber es nutzte nicht viel, Phako war einfach „in“. Erst als auch das noch teurere Verfahren *Differential-Interferenzkontrast* nach NOMARSKI hier und da in den Amateurbereich Eingang fand, gewann man auch ein differenziertes Verhältnis zum Phasenkontrast.

Man mißverstehe die folgenden Zeilen nicht. Hier schreibt kein „Phakogegner“ – im Gegenteil. Aber es muß einmal gesagt werden. Es gibt zwei Mikroskopikertypen. Die einen haben mit Ausdauer und Sorgfalt gelernt, das „gewöhnliche“ Hellfeldbild sauber einzustellen und es in Ruhe, intensiv und lange zu betrachten. Manchmal schieben sie einfach einen Finger oder den Rand des Filterhalters in den Strahlengang, um eine behelfsmäßige schiefe Beleuchtung zu erzeugen. Mit dieser althergebrachten Methode sehen sie Dinge, die „Hektiker“ auch mit Phako oder Differential-Interferenzkontrast nicht sehen. Der Hektiker

ist der zweite Typ: Ein kurzer Blick auf das schlecht ausgeleuchtete und falsch eingestellte Hellfeldbild genügt ihm schon, um – noch bevor seine Augen an die Helligkeit des Bildes adaptiert sind – zu urteilen, daß da ja gar nichts zu sehen ist. Hellfeldkondensator ab, Phakokondensator dran usw. Rasch ein bißchen zentrieren: lauter verwaschene Halokreise. Da nimmt man doch besser den DIK. Phakokondensator ab, ...

Nur wer – in Ruhe, mit Sorgfalt und Ausdauer – wirklich alles gesehen hat, was man im Hellfeldbild und bei schiefer Beleuchtung überhaupt sehen kann, dem wird das Phakobild einen echten, zusätzlichen Nutzen bringen.

## 2.6.6 Polarisisation

### 2.6.6.1 Die physikalischen Grundlagen



Baustelle

### 2.6.6.2 Polarisationsfilter und ihre Anfertigung

für einfache Untersuchungen im polarisiertem Licht.

(Artikel von Walter NEUBERT, Kirchheim, zuerst erschienen in: „ $\mu$ “, Mitteilungen der Mikrobiologischen Vereinigung München e. V., Heft Sept. 1996; überarbeitet. Den Teil über die Anfertigung von Polfiltern findet man im Kapitel 4.5.2.2)

Natürliches Licht ist nicht polarisiert, denn es stammt von Atomen, die völlig ungeordnet in alle möglichen Richtungen im Raum schwingen. Es gibt verschiedene Möglichkeiten, um polarisiertes Licht zu erzeugen. Anordnungen dazu heißen Polarisatoren. Zum Nachweis der Polarisisation dienen Analysatoren. Beide sind in ihrer Wirkungsweise identisch. Der Polarisator läßt vom natürlichen Licht nur eine Komponente mit bestimmter Schwingungsrichtung durch.

#### Polarisation durch Reflexion

Trifft ein Lichtstrahl unter einem bestimmten Winkel, dem Polarisationswinkel, auf die Grenzfläche zweier Medien (z. B. Luft/Glas), dann ist der reflektierte Teil vollkommen linear polarisiert. Man nennt diesen Winkel den BREWSTERSchen Winkel. Er beträgt für Glas  $57^\circ$ . Diesen Effekt nützt man in der Fotografie zum vollständigen Unterdrücken von störenden Reflexen an Glasscheiben. Dazu braucht man ein Polarisationsfilter, das vor das Objektiv der Kamera geschraubt wird. Nun muß man dafür sorgen, daß der Einfallswinkel der störenden Reflexion dem Polarisationswinkel entspricht. Beim Drehen des Polarisationsfilters verschwindet in einer bestimmten Stellung des Filters die Reflexion. Es ist beeindruckend, wie klar dann z. B. hinter einer Schaufensterscheibe die Auslagen erscheinen.

#### Polarisation durch Doppelbrechung

Als Doppelbrechung bezeichnet man die Eigenschaft bestimmter Stoffe, z. B. Kristalle, einen auftretenden Lichtstrahl in einen ordentlichen und einen außerordentlichen Strahl aufzuspalten. Beide schwingen mit unterschiedlichen Phasengeschwindigkeiten in verschiedenen Richtungen und sind senkrecht zueinander polarisiert.

Eindrucksvoll zeigt ein Kalkspatkristall die Doppelbrechung. Die Schrift unter dem Kristall erscheint in zwei Bildern aufgespalten, und die Richtung der Aufspaltung ändert sich, wenn man den Kristall dreht. Betrachtet man den Kristall durch ein Polarisationsfilter, so läßt sich bei Drehung des Filters jeweils eines der Doppelbilder auslöschen. Dreht man das Filter dann um  $90^\circ$ , dann verschwindet auch das andere Doppelbild. Das beweist, daß die beiden Strahlen  $90^\circ$  zueinander polarisiert sind.

Stoffe, in denen die Phasengeschwindigkeit von der Ausbreitungsrichtung abhängt, nennt man anisotrop. Bei doppelbrechenden Stoffen ist die Anisotropie auch noch von der Schwingungsrichtung abhängig.

Während der ordentliche Strahl dem bekannten Brechungsgesetz genügt, wird der außerordentliche anders gebrochen, z. B. auch schon bei einem Einfallswinkel von  $0^\circ$ . Man erhält polarisiertes Licht, wenn man nur einen der beiden Strahlen verwendet. Bei einem Nicolschen Prisma wird der ordentliche Strahl durch Totalreflexion an einer Kittfläche aus dem Strahlengang entfernt (Abb. 1).

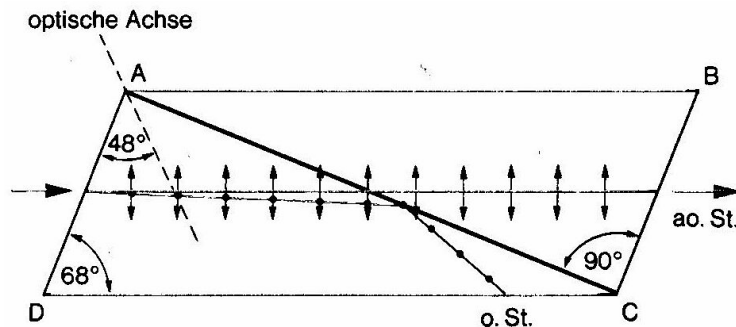


Abbildung 1

Die Abbildung zeigt ein Nicolsches Prisma, eine Vorrichtung zur Erzeugung und zum Nachweis linear polarisierten Lichts. Es besteht aus einer Kombination zweier geeignet geschliffener Prismen des opt. einachsigen Kalkspats. Ein Kalkspatrhomboeder mit dem Hauptschnitt  $ABCD$ , dessen natürlichen Winkel von  $72^\circ$  bei  $B$  und  $D$  durch Abschleifen auf  $68^\circ$  verkleinert wurden, wird längs der durch  $AC$  gehenden Diagonalebene geschnitten und in der ursprünglichen Lage durch Kanadabalsam wieder aneinander gekittet.

Ein das Prisma durchsetzender Lichtstrahl wird beim Auftreffen auf die Endfläche durch Doppelbrechung in einen ordentlichen und einen außerordentlichen Strahl zerlegt. Da die Brechzahl des Bindemittels ( $n = 1,55$ ) zwischen den Brechzahlen des Kalkspats für den ordentlichen und den außerordentlichen Strahl liegt, stellt die Kanadabalsamschicht für den ord. Strahl (o. St.) ein opt. dünneres Medium dar; dieser Strahl wird total reflektiert und an der geschwärzten Seitenschicht absorbiert. Der außerordentliche Strahl (ao. St.) hingegen verläßt das Prisma fast ohne Ablenkung; er ist linear polarisiert und schwingt parallel zum Hauptschnitt. Vollständige Polarisation erhält man nur, wenn das einfallende konvergente Licht einen Öffnungswinkel kleiner als  $29^\circ$  hat.

Viele Kristalle wie Kalkspat, Quarz, Glimmer, Turmalin und andere sind doppelbrechend. Nicht wenige durchsichtige Stoffe wie Glas oder Kunstharze werden doppelbrechend, wenn unter Einwirkung innerer oder äußerer Kräfte Materialspannungen auftreten. Einige isotrope Stoffe werden unter dem Einfluß eines elektrischen Feldes doppelbrechend (Kerr-Effekt).

#### Polarisation durch Dichroismus

Bei anderen Polarisatoren wiederum wird einer der beiden Strahlen in dem Material absorbiert. Dieser Effekt wird als Dichroismus bezeichnet. So absorbiert z.B. Turmalin von 1 mm Dicke den ordentlichen Strahl fast vollständig.

Polarisatoren größerer Durchlaßfläche und geringerer Dicke werden als Polarisationsfolien bezeichnet und sind in der Mikroskopie heute fast ausschließlich anstelle Nicolscher Prismen in Gebrauch. Es sind Kunststoffolien, in die parallel zueinander nadelförmige Herapathit-Kristallnadeln (schwefelsaures Jodchinin) eingebettet sind, die einen starken Dichroismus zeigen.

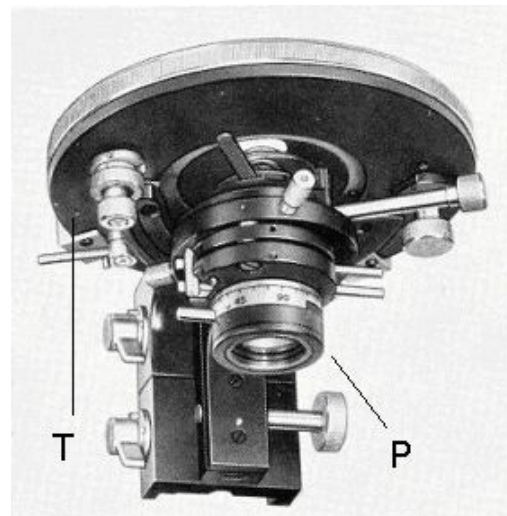
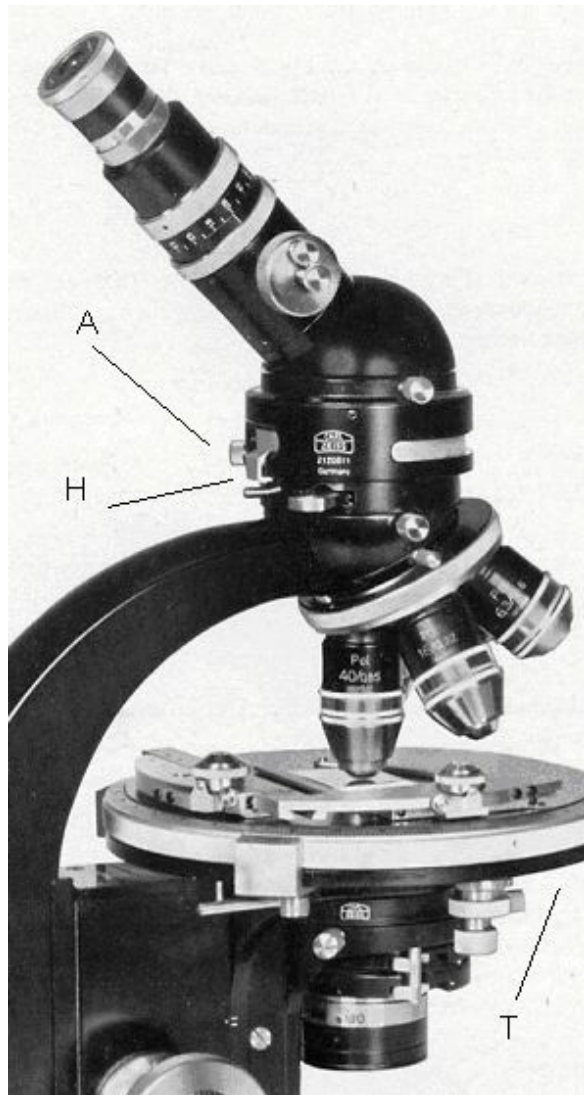
Es gibt auch Polarisationsfolien, bei denen die Riesenmoleküle durch starke Streckung ausgerichtet wurden und die damit eine starke Spannungsdoppelbrechung aufweisen.

#### Spannungsdoppelbrechung

Viele durchsichtige isotrope Stoffe werden durch elastische Verformung (Druck, Zug, Biegung, Torsion) doppelbrechend. Befinden sie sich zwischen zwei gekreuzten Polarisationsfiltern, so hellt sich das Gesichtsfeld an den Stellen auf, an denen die Brechzahl durch Deformation verändert ist. Die Spannungsdoppelbrechung wird nutzbringend bei der Konstruktion komplizierter Bauteile eingesetzt. Man fertigt maßstabgetreue Modelle an und bringt sie in den Strahlengang zwischen gekreuzten Polfiltern. Bei entsprechender Belastung entstehen belastungsabhängig Aufhellungen und Linien bzw. Gebiete gleicher Helligkeit (Isochromaten). In der Spannungsoptik lassen sich somit Analysen an Modellen aus Kunstharz durchführen, die für die Konstruktion und Dimensionierung der Bauteile sehr nützlich sind.

### Das Polarisationsmikroskop

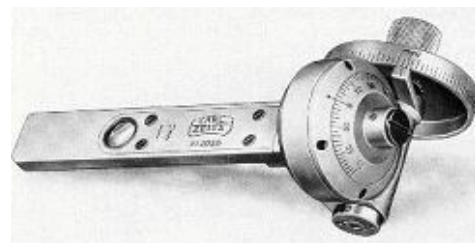
Die Abbildungen 2 bis 5 zeigen Details eines solchen Gerätes.



Kondensor mit Polarisator



Zwei drehbare Kompensatoren



**A** Analysator, drehbar; **H** Einschub für Hilfsobjekte, nimmt Lambda- oder Lambda-Viertel-Platten auf.  
**P** Polarisator; **T** drehbarer Objektisch;

(Abb. aus: Carl Zeiss: Geräte für die Polarisations-Mikroskopie. Oberkochen 1960.)

### 2.6.7 Differential-Interferenzkontrast nach Nomarski



Baustelle

### 2.6.8 Fluoreszenz

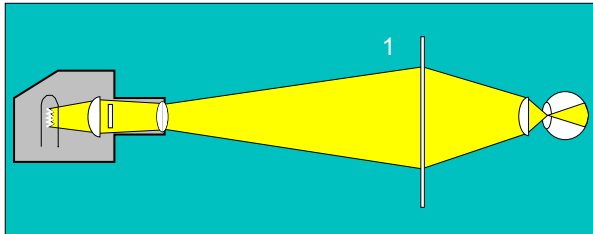


Baustelle

### 3 Die Grundlagen der mikroskopischen Abbildung

#### 3.1 Wie funktioniert eigentlich ein Mikroskop?

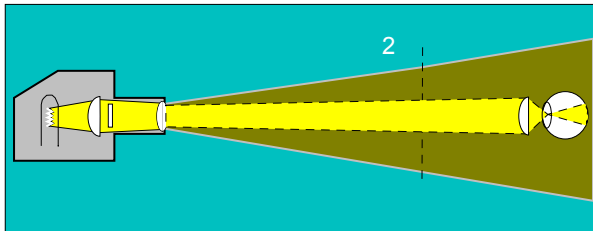
Wir wollen uns die Funktionsweise eines Durchlichtmikroskops mit normaler Hellfeldbeleuchtung auf einfache Weise anhand eines Diaprojektors erklären. Die meisten werden einem solchen Projektor beim Austausch einer durchgebrannten Projektionslampe schon einmal unter die Haube gesehen haben.



Wir finden: Eine Leuchtwendel in der Glühlampe. Eine Kondensatorlinse; sie bildet die Glühlampe im Objektiv des Projektors ab. Dabei durchstrahlt sie das hinter ihr stehende Diapositiv. Das Objektiv bildet das Dia auf der Leinwand ab.

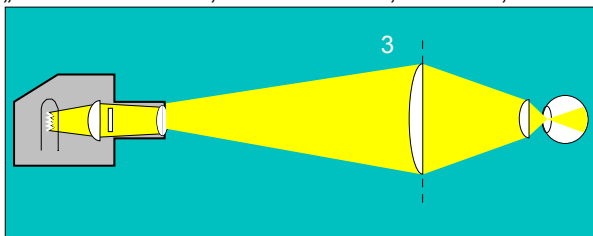
Aber wir sitzen ausnahmsweise nicht vor der Leinwand, sondern hinter ihr und schauen auf ihre Rückseite (1).

Wir haben nämlich eine durchscheinende Wand genommen, eine Mattscheibe, notfalls ein dünnes Pergamentpapier, so daß wir das (seitenverkehrte) Bild von hinten sehen können.

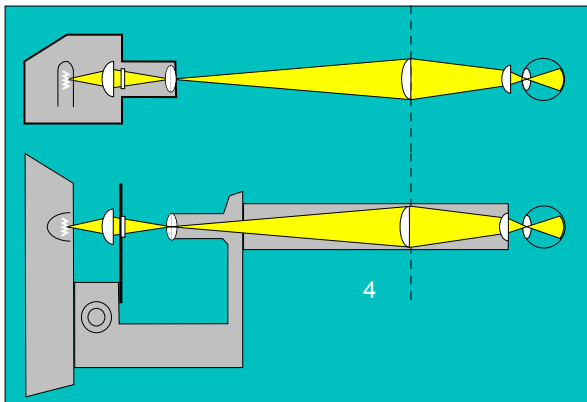


Dann vergrößern wir es noch, indem wir eine Lupe zwischen die Projektionswand und unser Auge halten. Nun sehen wir nicht nur das Bild, sondern auch die Struktur des Papiers so stark vergrößert, daß sie das Bild stört. Deshalb machen wir etwas ganz Verwegenes: Wir nehmen die Projektionsfläche einfach weg (2).

Doch das Bild bleibt da! Wir können es nach wie vor an der gleichen Stelle durch unsere Lupe sehen. Es ist ein Luftbild, so genannt, weil es nicht auf einem Schirm, sondern sozusagen frei schwebend in der Luft gesehen wird. Allerdings sehen wir es nur in Richtung auf das helle Projektionsobjektiv, daneben wird es dunkel sein, weil die Lichtstrahlen dort an der Lupe vorbeigehen. Sie sind für die Abbildung in der „Leinwandebene“, der Bildebene, verloren, das Bild ist deshalb reichlich zart und nicht hell genug.



Wiederum schafft eine Linse Abhilfe. Eine Lupe, die wir direkt auf eine Zeitungsseite legen, vergrößert die Schrift nicht. Ebenso können wir eine Linse in die Bildebene legen (3), sie hellt die Randpartien des Bildfeldes auf, weil sie auch die Strahlen, welche die Randpartien durchsetzen, ins Auge lenkt. So eine Feldlinse wirkt noch besser als eine Mattscheibe, außerdem hat sie keine Struktur, kein störendes Korn wie die Mattscheibe oder das Pergamentpapier.



Nun verkleinern wir die ganze Anordnung und packen alles in ein einziges Gerät (4), sowohl die erste Vergrößerungsstufe, das Objektiv nämlich, und die zweite, welche das vom Objektiv in der Bildebene entworfene Bild nachvergrößert:

Von dem von unten durch Lampe und Kondensator durchleuchteten Präparat erzeugt das Mikroskopobjektiv zunächst ein vergrößertes Luftbild im Tubus, Zwischenbild genannt.

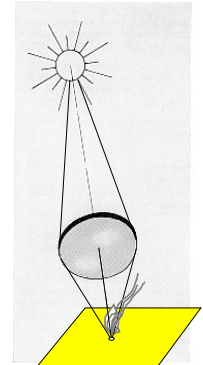
Anschließend wird dieses durch eine Lupe, das Okular, vergrößert betrachtet. Die Feldlinse ist die untere Linse des Okulars, die obere, die Augenlinse, dient als Lupe.

## 3.2 Die Abbildung durch Linsen

### 3.2.1 Die Brennweite und der Bildwinkel

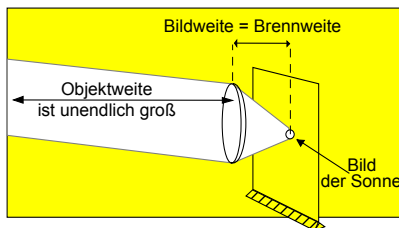
Erinnerung aus Kindertagen: Das Brennglas, eine Sammellinse, wirft einen kleinen, hellen Punkt auf ein Blatt Papier, feiner Rauch kräuselt auf, bald züngeln die Flammen.

Deshalb heißt die Stelle, an der eine Sammellinse das scharfe Bild eines „unendlich“ fernen Gegenstandes entwirft, Brennpunkt. Aber es ist gar kein Punkt, sondern eine Fläche, es ist das Bild der Sonne! Wann und wo immer wir es mit Linsen zu tun haben: sie sammeln oder kondensieren nichts, brennen nicht, sondern bilden ab, machen ein Bild! Die Entfernung dieses Bildes eines unendlich fernen Gegenstandes von der Linsenmitte heißt Brennweite. (Was die Linsenmitte anbelangt, ist das etwas ungenau, genügt uns hier aber.) Je dicker die Linse in der Mitte im Vergleich zu ihrem Rand ist, um so stärker ist ihre Brechkraft, desto stärker bricht sie die durch sie hindurchgehenden Lichtstrahlen zur Mitte hin, desto kürzer ist ihre Brennweite. Eine dünnere Linse hat eine längere Brennweite.

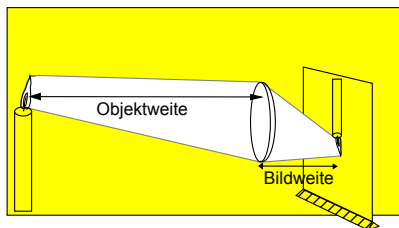


### 3.2.2 Die Objekt- und die Bildweite

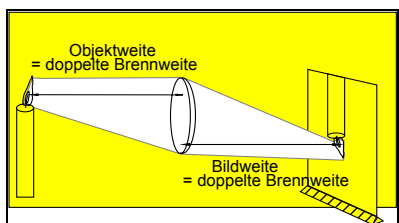
Als Objekt-, Ding- oder **Gegenstandsweite** bezeichnet man den Abstand des abzubildenden Objekts oder Gegenstands zur Linsenmitte, als **Bildweite** den Abstand von dort zur Bildebene, einem Auffangschirm oder Film in der Kamera. Ein scharfes Bild in der Bildebene bzw. auf einem Film entsteht, wenn Objekt- und Bildweite in einer bestimmten Beziehung zueinander stehen. Aus dem Physikunterricht kennen die meisten folgende Versuche.



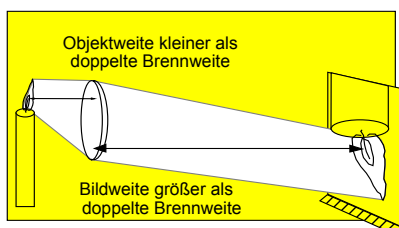
Das „Brennglas“ lehrt uns: Scharf abgebildet wird ein „unendlich“ ferner Gegenstand, wenn bei dieser größtmöglichen Objektweite (unendlich) die Bildweite kleinstmöglich, nämlich so groß wie die Brennweite ist. In diesem Fall wird der unendlich ferne Gegenstand verkleinert abgebildet.



Ist die Bildweite länger als die Brennweite, aber kürzer als die doppelte Brennweite, so ist die Objektweite länger als die doppelte Brennweite, und der Gegenstand wird verkleinert abgebildet (Landschaft, Personen).



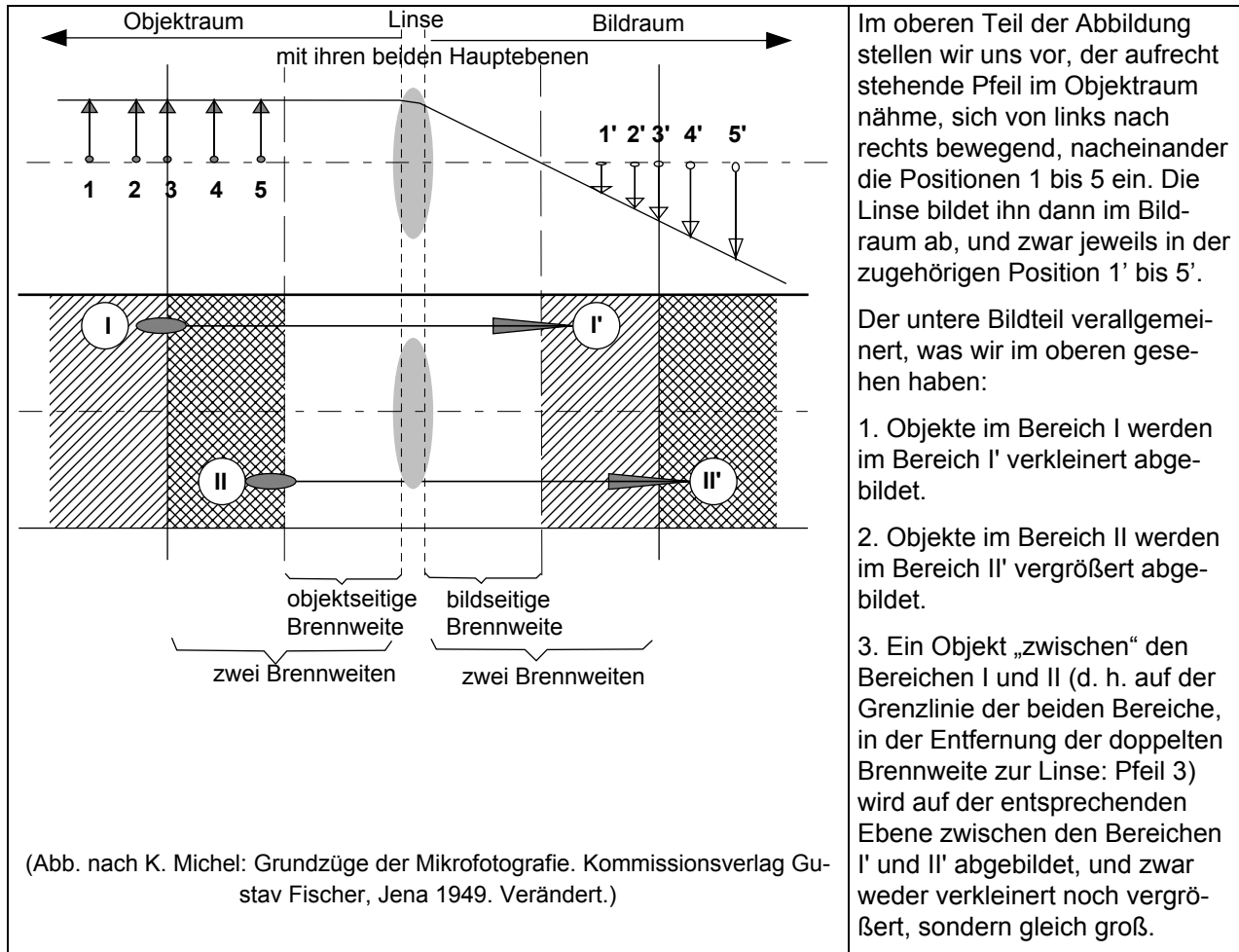
Bei der Abbildung in natürlicher Größe (Maßstab 1:1) sind Objekt- und Bildweite gleich groß, und zwar ist jede gleich der doppelten Brennweite.



Ist die Bildweite länger als die doppelte Brennweite, so ist die Objektweite kürzer als die doppelte Brennweite, und die Abbildung ist vergrößert.

Diese Erkenntnisse sind für die Praxis z. B. des Makrofotografen so wichtig, daß wir sie noch in systematischer Form darstellen.





Im oberen Teil der Abbildung stellen wir uns vor, der aufrecht stehende Pfeil im Objektraum nähme, sich von links nach rechts bewegend, nacheinander die Positionen 1 bis 5 ein. Die Linse bildet ihn dann im Bildraum ab, und zwar jeweils in der zugehörigen Position 1' bis 5'.

Der untere Bildteil verallgemeinert, was wir im oberen gesehen haben:

1. Objekte im Bereich I werden im Bereich I' verkleinert abgebildet.
2. Objekte im Bereich II werden im Bereich II' vergrößert abgebildet.
3. Ein Objekt „zwischen“ den Bereichen I und II (d. h. auf der Grenzlinie der beiden Bereiche, in der Entfernung der doppelten Brennweite zur Linse: Pfeil 3) wird auf der entsprechenden Ebene zwischen den Bereichen I' und II' abgebildet, und zwar weder verkleinert noch vergrößert, sondern gleich groß.

4. Das entstehende Bild ist immer auffangbar (reell) und umgekehrt.

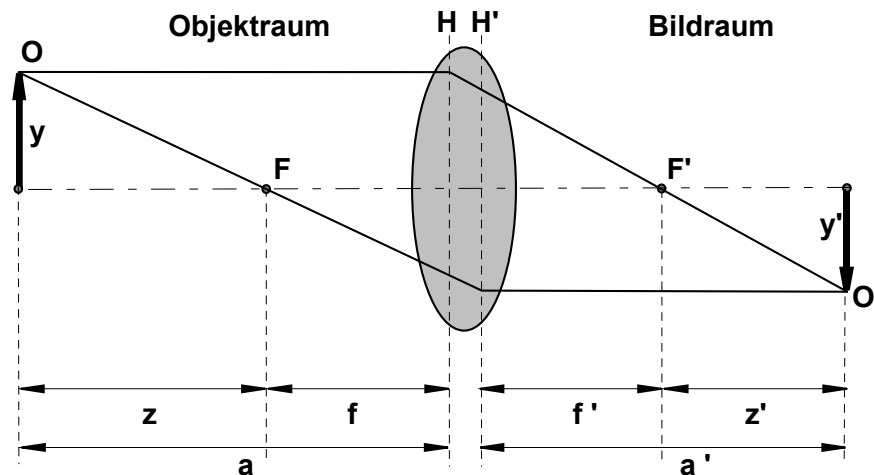
Je näher wir dem Objekt mit dem Objektiv rücken, desto weiter müssen wir das Objektiv von der Filmebene entfernen, d. h. die Bildweite verlängern, um ein scharfes Bild zu erhalten.

Je länger die Bildweite, desto größer das Bild des Objektes auf dem Film.

Ist die Objektweite gleich der Brennweite, so ist die Bildweite unendlich groß; das ist annähernd bei der Filmprojektion in einem großen Kinosaal der Fall. Bei noch kleinerer Objektweite entsteht kein reelles (auffangbares) Bild; es ist virtuell, d. h. nur dem Auge wahrnehmbar (Lupe).

## 3.2.3 Bildkonstruktion und Abbildungsgleichungen

**Die Abbildung mit endlicher Bildweite**  
**eines reellen Objekts durch eine Sammellinse oder ein fotografisches Objektiv**



F	Objektbrennpunkt; objektseitiger Brennpunkt; vorderer Brennpunkt
F'	Bildbrennpunkt; bildseitiger Brennpunkt; hinterer Brennpunkt
H	Objekthauptebene
H'	Bildhauptebene
O	Objektseitiger (Dingseitiger) Objektpunkt
O'	Bildseitiger Objektpunkt
y	Objektgröße
y'	Bildgröße
f	Objektbrennweite; objektseitige Brennweite; vordere Brennweite
f'	Bildbrennweite; bildseitige Brennweite; hintere Brennweite
z	objektseitige Brennweite FO
z'	bildseitige Brennweite F'O'
a	Objektweite; Gegenstandsweite; Dingweite
a'	Bildweite

**Die Abbildungsgleichungen**

$$M = y' : y = a' : a = f : z = z' : f'$$

(M Abbildungsmaßstab)

### Die Berechnung des Abbildungsmaßstabs

Häufig muß bei der Mikrofotografie mit dem einfachen Mikroskop (Lupen- oder Makrofotografie) der Abbildungsmaßstab  $M$  ermittelt werden.

$$M = \frac{z'}{f'}$$

Die Strecke  $z'$  (Abstand Bild  $O'$  bis bildseitiger Brennpunkt  $F'$ ; das ist die optische Kameralänge) ist jedoch schwer zu ermitteln, ebenso die mechanische Kameralänge  $a'$  ( $z'+f'$ ), weil die Lage der bildseitigen Hauptebene  $H'$  und damit auch die Lage des Bildbrennpunktes  $F'$  im allgemeinen nicht bekannt ist. Jedoch kann der Abbildungsmaßstab nach der folgenden Formel relativ leicht berechnet werden.

$$\overline{OO'} = f' \frac{(M+1)^2}{M} = f' \left( M + \frac{1}{M} + 2 \right)$$

Noch besser ist es, nach dieser Formel eine Tabelle für das verwendete Objektiv anzulegen, in der für die wichtigsten, d. h. häufig vorkommenden Objekt-Bild-Abstände  $\overline{OO'}$ , die man besonders leicht und zuverlässig messen kann, der jeweilige Abbildungsmaßstab abgelesen werden kann.

### Weitere abgeleitete Gleichungen

$$M = \frac{a' - f'}{f'}$$

$$a' = f'(M + 1)$$

$$\overline{OO'}: a' = \frac{M+1}{M}$$

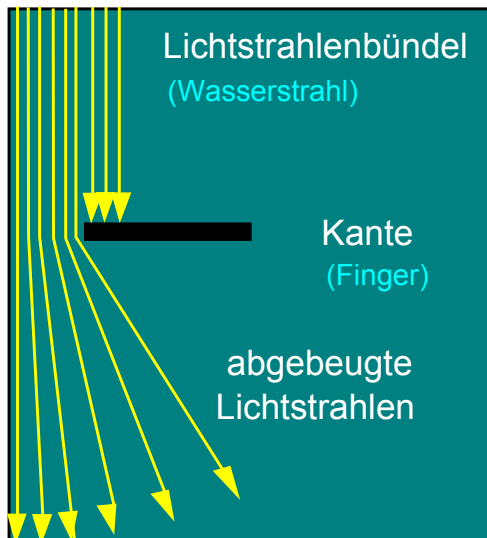
$$\overline{OO'} = a' \frac{M+1}{M}$$

$$a' = \overline{OO'} \frac{M}{M+1}$$

### 3.3 Von der Wellennatur des Lichts

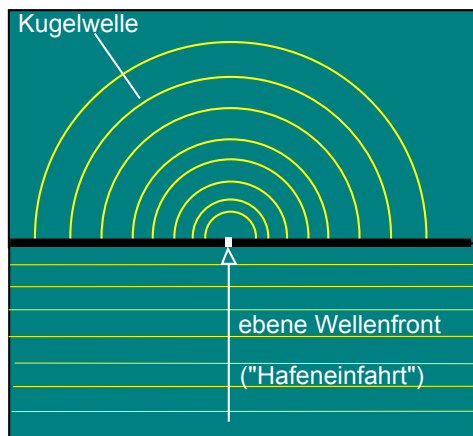
#### 3.3.1 Die Beugung

Jeder hat schon einen Stein ins Wasser geworfen, in einen Teich oder einen ruhigen See, weiß wie sich die Wellen auf der Wasseroberfläche von der Auftreffstelle konzentrisch ausbreiten und mit größerem Abstand allmählich schwächer werden. Auch „Licht“ ist ein Schwingungsvorgang, der sich durch Wellen ausbreitet. Von einem Lichtpunkt im Raum breiten sich die Lichtwellen nicht nur in einer Ebene, sondern nach allen Richtungen aus, impulsartig, wie die Schalen einer Kugeloberfläche. Ein anschauliches Beispiel finden wir in der Küchenzwiebel mit ihren einzelnen Schalen und Schichten. Die Kugelwellen pulsieren ungestört, bis sie auf ein Hindernis stoßen. Die Zeichnungen, die das veranschaulichen, sind nur zweidimensional, wir müssen deshalb unsere Vorstellungskraft bemühen.

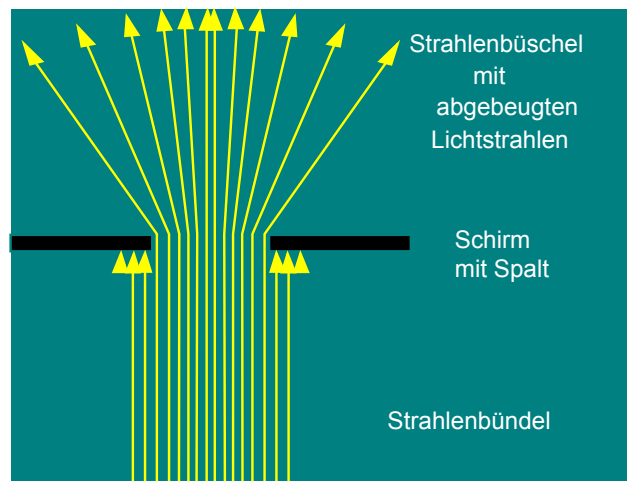


So werden Lichtstrahlen abgelenkt, wenn sie durch einen engen Spalt oder ein kleines Loch hindurch gehen. (Hier drehen wir das Bild um, wie es in der optischen Darstellung üblich ist.) Wir sehen, daß Lichtbeugung etwas ganz anderes ist als die Lichtbrechung durch Linsen.

Im Strahlengang eines Mikroskops und im mikroskopischen Objekt gibt es viele „Kanten“, an denen Lichtstrahlen gebeugt werden. Die Ränder der Aperturblende beispielsweise. Aber auch winzige Details des Objekts bilden solche Kanten, Spalte oder Löcher.



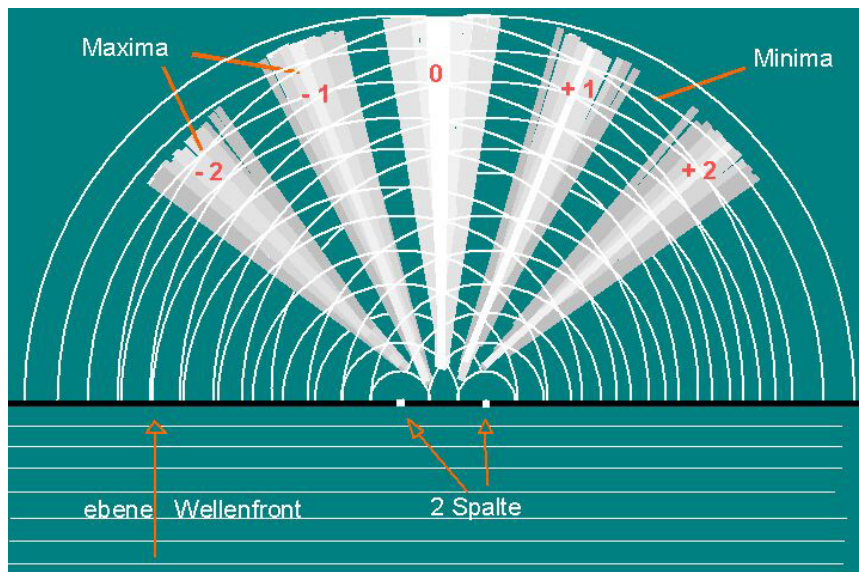
Zunächst wieder ein kleines Experiment mit Wasser. Wir drehen den Wasserhahn über dem Waschbecken auf und lassen das Wasser in einem ruhigen, stetigen Strahl fließen. Wenn wir ihn vorsichtig mit einem Finger von der Seite her berühren, wird er unterhalb des Fingers in Richtung auf die Finger-Seite abgelenkt. Auf ähnliche Weise werden auch Lichtwellen an einer Kante abgelenkt.



Lichtwellen, die von einem „unendlich“ weit entfernten Lichtpunkt als Kugelfläche ausgehen, erreichen uns als Ausschnitt aus einer Wellenfront, die wir mit ausreichender Genauigkeit als eben annehmen können. Ihre Krümmung ist jedenfalls so gering, daß sie nicht mehr meßbar ist. Trifft eine solche ebene Wellenfront auf ein Hindernis, einen Schirm z. B., in dem sich ein enger Spalt befindet, so pflanzt sich jenseits des Schirms, nach Durchgang durch den Spalt, nicht etwa wieder eine ebene Wellenfront fort, sondern eine Kugelwelle mit dem Spalt als Mittelpunkt.

Genau so verhält sich auch eine Wasserwelle, die eine Hafeneinfahrt passiert.

An der Hafeneinfahrt wird die heranrollende Welle (Wellenfront) unterbrochen, und eine neue entsteht. Die Amplitude (Intensität) nimmt dabei ab, so daß die Schiffe im Hafenbecken nur sanft dümpeln und nicht an die Kaimauer schlagen.



Läßt man das Licht nicht nur durch einen, sondern durch eine Reihe solcher Spalte, ein Gitter, hindurchtreten, so wirkt jeder Spalt im Gitter als Erregungszentrum, von dem eine eigene Kugelwelle jenseits des Schirms ausgeht. Da sie sich weiter ausbreiten, treffen sie aufeinander und interferieren, d. h. sie überlagern sich gegenseitig.

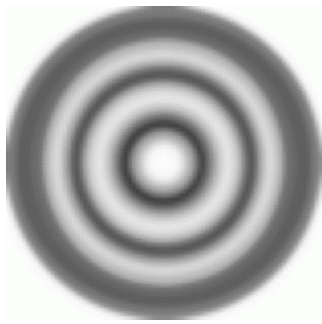
Wir kennen das von unserem kleinen Teich, wenn wir zwei gleich große Steine gleichzeitig ins Wasser werfen.

Treffen dann zwei „Wellenberge“ zusammen, so addieren sie ihre Energien zu einem noch höheren Wellenberg. Da die Helligkeit des Lichts von der Höhe des Wellenberges, der Schwingungsweite (Amplitude) abhängt, entsteht hier eine Zone verstärkter Helligkeit, ein Maximum. Treffen Wellenberg und Wellental zusammen, so heben sie sich gegenseitig auf, es entsteht eine Dunkelzone, ein Minimum. Diese Interferenzerscheinungen können nur dann auftreten, wenn das Licht, aus dem die überlagernden Wellenzüge bestehen, kohärent, zur gleichen Zeit vom gleichen Punkt ausgegangen ist.

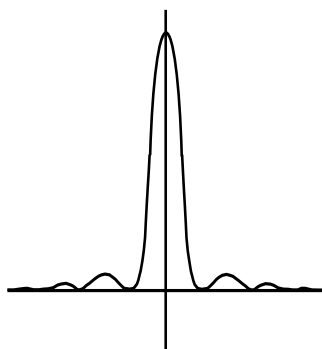
Die beiden Spalte im Schirm rufen bei dem hindurchtretenden Licht Beugungsmaxima hervor, und zwar jeweils das Hauptmaximum und die Nebenmaxima erster und zweiter Ordnung. Da das Licht, das unser Gitter trifft, kohärent sein soll, können also **Maxima** und **Minima** auftreten. Weil ihre Entstehungsursache die Beugung des Lichts an den Spalten ist, heißen die Maxima Beugungsmaxima.

Die Beugung ist um so stärker, je schmaler ein Spalt oder je kleiner eine Öffnung ist, durch welche die Lichtstrahlen hindurchgehen, also je winziger die Kanten mikroskopischer Objekte sind, an denen Lichtwellen gebeugt werden. Die Maxima tragen besondere Bezeichnungen. Das mittlere Maximum, das sich in der Richtung der ankommenden Front weiter fortpflanzt, bezeichnet man als „0“ bzw. als „nulltes“ oder Hauptmaximum, die nächsten, die Nebenmaxima, nach rechts als +1, +2 usw., die nach links als -1, -2 usw. oder als Maximum erster, zweiter ... n-ter Ordnung. Für die Minima ist kein besonderer Ausdruck üblich, weil sie uns als energielose Zonen nicht interessieren.

HUYGENS (1629 – 1695) hat diese Vorgänge als erster beschrieben, deshalb werden sie als Huygenssche Beugung bezeichnet, nach dem physikalischen Huygensschen Beugungsgesetz oder Prinzip. Es lautet vereinfacht und kurzgefaßt: Wenn eine ebene Wellenfront kohärenten Lichts ein regelmäßiges enges Gitter trifft, dessen Abmessungen nicht kleiner sein dürfen als die Lichtwellenlänge, so wirkt jeder Spalt im Gitter als Erregungszentrum für eine neue Kugelwelle. Diese Kugelwellen interferieren miteinander.



Das mikroskopische Bild, das vom Objektiv entworfene Zwischenbild, das wir durch das Okular vergrößert sehen, ist das Ergebnis eines solchen Interferenzvorgangs. Das einfachste Objekt ist Licht, das durch ein winziges Loch in einem dunklen Schirm dringt. Wir sehen es nicht als scharf umrandete kleine Scheibe, sondern als verschwommenen Fleck, der von Beugungsringen umgeben ist. Es sind abwechselnd dunkle und helle Ringe. Die hellen nehmen an Helligkeit von innen nach außen ab und werden schmaler, die dunklen werden breiter. Nach seinem Entdecker, dem Mathematiker und Astronomen Sir George Bidell AIRY (1801-1892), werden diese Gebilde Airy-Scheibchen genannt. Es sind Unschärfe- oder Zerstreuungskreise. Die Ringe sind die Maxima und Minima in der Aufsicht. Auch bei der Abbildung durch optische Linseninstrumente entstehen solche Scheibchen durch Beugung an Linsenfassungen und Blendenrändern.



Bei nicht ausreichend gut korrigierten Objektiven und Okularen bzw. Projektiven verwandeln sich die Beugungsscheibchen in extrafokale Zerstreuungskreise, die nicht genau in der eingestellten Schärfenebene liegen und erheblich größer als normal sein können. Dadurch entstehen die bekannten Randunschärfen, wie z. B. verstärkte Bildfeldwölbung.

Die Kurve unter dem abgebildeten Scheibchen stellt die Helligkeitsintensität der Maxima und Minima dar. Wegen der geringen Intensität der äußeren Ringe können wir das zentrale Scheibchen, das „Nullte Maximum“, allein als das Bild des Punktes auffassen. Im mikroskopischen, vom Objektiv entworfene Zwischenbild, beträgt der Halbmesser des zentralen Scheibchens, d. h. die Strecke von seinem Mittelpunkt bis zum Rand des ersten dunklen Rings:

$$r = \frac{1,22 \cdot \lambda}{2n \cdot \sin \sigma}$$

$\lambda$  (**Lambda**) ist die Wellenlänge des verwendeten Lichts, wir setzen hier 550 Nanometer für das gelbgrüne Licht ein, für das unser Auge am empfindlichsten ist.  $n$  ist die Brechzahl des Mediums vor der Linse, im Falle von Luft ist sie 1.  $\sigma$  (**Sigma**) ist der halbe Öffnungswinkel des Objektivs.

Nun ist aber  $n \cdot \sin \sigma$  die numerische Apertur des Objektivs. Somit können wir auch schreiben:

$$r = \frac{1,22 \cdot \lambda}{2A}$$

Der Faktor 2 im Nenner rührt daher, daß es im Nenner eigentlich heißen müßte:

$n \cdot A$  des Objektivs +  $n \cdot A$  des Kondensors.

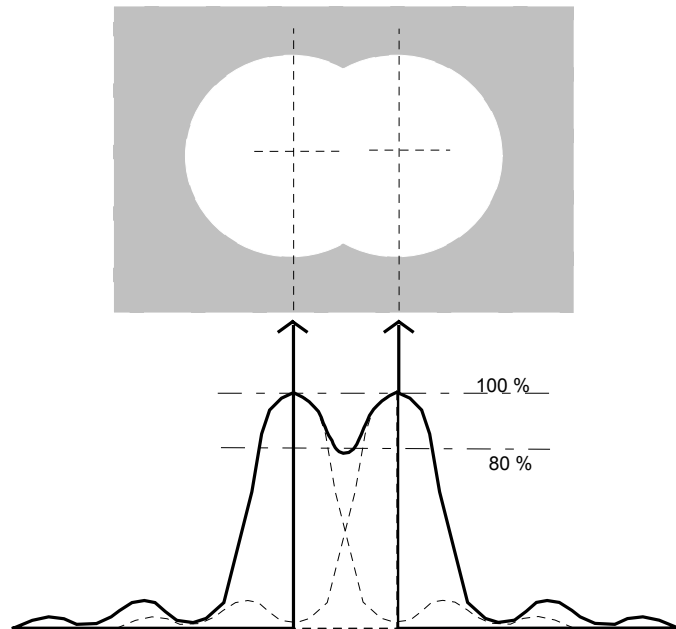
Bei der vereinfachten Formel wird angenommen, daß Beleuchtung und Kondensorapertur nach den Köhlerschen Regeln so eingestellt sind, daß die volle Apertur des Objektivs wirksam sein kann. In diesem Fall sind die Aperturen von Objektiv und Kondensor gleich.

Der Radius des zentralen Maximums eines Beugungsscheibchens im Bild ist also allein eine Funktion der Wellenlänge des benutzten Lichts und des bildseitigen Öffnungswinkels Sigma. Er ist um so größer, je größer die Wellenlänge oder je enger der Öffnungswinkel ist. Ebenso wie das physikalische Bild eines Punktes ist natürlich auch jedes Bild eines flächenhaften oder körperlichen Objekts eine Interferenzerscheinung. Man braucht sich nur vorzustellen, daß das Objekt aus einer großen Zahl einzelner Punkte zusammengesetzt ist, dann muß sich das Bild aus der gleichen Zahl von Beugungsscheibchen als Bilder aller Punkte – wie ein Mosaik – zusammensetzen.

### 3.3.2 Die Auflösung

Die Erfahrung lehrt, daß zwei dicht beieinander liegende kleine Lichtflecke, wie sie die zentralen Maxima von Beugungsscheiben ja darstellen, auch dann noch als zwei getrennte Punkte wahrgenommen werden

können, wenn sie sich bis zu einem gewissen Grad überdecken. Am häufigsten wird angenommen, daß man beide Maxima noch ohne Mühe unterscheiden kann, wenn ihr Abstand gerade die Größe des Radius des Hauptmaximums erreicht, sie sich also zur Hälfte überdecken. Die Beleuchtungsstärke in der Einsenkung zwischen den beiden Maxima beträgt dann etwa 80 % von der Maximal-Beleuchtungsstärke im Zentrum des Hauptmaximums.



Als Grenzfall der Auflösung erhalten wir damit den Abstand, der sich nach der obigen Formel ergibt. Feinere Strukturen kann ein Mikroskopobjektiv nicht auflösen. Das ist ohne weiteres erklärlich. Die Beugung ist ja um so stärker, je kleiner die Kanten und Öffnungen sind, d. h. je kleiner die Struktur, desto größer sind die Zerstreungsscheibchen bzw. -kreise und damit die Unschärfe.

#### Frage

Wie klein darf der Abstand zwischen zwei Objekten sein, damit ein Mikroskop sie noch auflösen kann? Ich habe dabei zwei Formeln kennen gelernt, nämlich:

$$d = \lambda / n \cdot \sin \sigma \quad \text{und}$$

$$d = 0,61 \cdot \lambda / n \cdot \sin \sigma \quad \text{bzw.}$$

$$d = \lambda / \text{num. Apertur.}$$

Hat jemand eine Idee, was der teilweise auftauchende Vorfaktor zu bedeuten hat?

#### Antwort

Soweit mir bekannt verwenden nur BEYER, H. et al. in: Handbuch der Mikroskopie. 2. Aufl. (VEB Verlag Technik, Berlin 1977) den Faktor 0,61. Auf Seite 47 ist auch die Herleitung angegeben, die aber selbst für einen informierten Laien schwer verständlich ist. Fast alle anderen Autoren nehmen den verdoppelten Faktor 1,22. Den wiederum erklärt MICHEL 1964 auf Seite 95 f.

$1,22 \times \lambda / 2 \times \sin \sigma$  (bzw.  $/ 2 A$ ) ist der Radius des Hauptmaximums bei kreisförmig begrenzter Öffnung. Das erste Minimum, d. h. die erste Dunkelzone des Airy-Scheibchens liegt in der Entfernung 1,22 mal  $\lambda$  von der Mitte des Hauptmaximums, die zweite in  $2,23 \lambda$ , die dritte in  $3,24 \lambda$ , die vierte in  $4,24 \lambda$ .

Der Grund, den Radius und nicht den Durchmesser von  $2,44 \lambda$  einzusetzen, ist die empirisch begründete Annahme, daß zwei Objekte (Lichtpunkte) auch dann noch als getrennte Objekte zu erkennen sind, wenn sie sich zur Hälfte überdecken. Die Mittelpunkte der beiden Airyschen Scheibchen dürfen also im Abstand ihres Radius liegen. Man nennt diese Definition das Rayleigh-(Auflösungs)kriterium, benannt nach dem britischen Physiker und Nobelpreisträger Lord RAYLEIGH (= Sir William STRUTT, 1842-1919). Sie lautet etwas korrekter: Zwei Punkte sind auch dann noch sicher zu trennen, wenn das Hauptmaximum des einen Objektes höchstens so nahe liegt, daß es auf dem ersten Nebenmaximum des anderen liegt.

Die Formel von BEYER et al. mit 0,61 kommt so zustande, daß hier der Faktor 2 (aus:  $2 \times$  Apertur) im Nenner auf  $1 \times$  Apertur herausgekürzt wurde, wodurch sich der „Airy-Radius“-Faktor im Zähler von 1,22 auf 0,61 halbiert.

Nach sorgfältigem Studium der Literatur habe ich den Eindruck, daß diese Formel von manchen Autoren unverstanden abgeschrieben wird, weil sie sie niemals erklären. Die Huygensschen Versuche und Überlegungen gehen von einer zweiseitig begrenzten Kugelwelle aus, wie sie durch einen engen Spalt (Gitter) hindurchtritt. Das ist aber bei optischen Geräten nicht der Fall, dort haben wir es mit kreisförmigen Blenden zu tun. MICHEL (1964, S. 95) erklärt das: Die Beugungsfigur selbst ist rotationssymmetrisch, sie wird zum Beugungsscheibchen. Die Lichtverteilung in ihm ähnelt der bei der zweiseitig begrenzten Kugelwelle, wobei es lediglich quantitative Unterschiede gibt. Die seitlichen Maxima sind nämlich noch erheblich lichtschwächer als das zentrale Maximum, das sie ringförmig umgeben. Dagegen ist der Abstand des ersten absoluten Minimums von der Achse etwas größer. Doch sind die Abstände der weiteren Minima vom ersten praktisch gleich.

Deshalb beträgt der Durchmesser des Airy-Scheibchens beim Durchgang durch eine kreisförmige Blende nicht 2 mal  $l$  wie beim Durchgang durch einen Gitterspalt, sondern  $2,44 \times \lambda$ . Für die Betrachtung im Zusammenhang mit einem Mikroskop ist also die Formel mit dem Faktor 1,22 (Radius) die richtige.

Wegen der Wirkung von Bild-, Justage- und Fokussierfehlern sowie Beugungsunschärfen wird das formelgemäße Auflösungsvermögen in der Praxis nicht erreicht. Man rechnet deshalb mit etwas größeren Beugungsscheibchen und einer geringeren Auflösung. Im allgemeinen rechnet man mit einem um den Faktor 1,12 vergrößerten Beugungsscheibchen.

### 3.3.3 Die Bedeutung der Nebenmaxima

Ein mikroskopisches Objekt, das vom Licht durchstrahlt wird, können wir als Muster einer Vielzahl kleinster Pünktchen und Strukturen auffassen, an deren Kanten die vom Kondensator her einfallenden Lichtstrahlen gebeugt werden. Denn jedes Präparat im Abbildungsstrahlengang, sei es grob oder fein strukturiert, beugt das Licht. Durch Interferenzen entsteht dabei eine Art Mosaikbild, das sich aus zahllosen einzelnen Airy-Scheibchen zusammensetzt. Auf diese Weise kommt in der Zwischenbildebene das Bild des Objekts zustande. Ohne das Hauptmaximum, das Maximum „nullter Ordnung“, kann kein Bild des Objekts entstehen. Wir sehen dann ein Dunkelfeld! Doch auch die Nebenmaxima sind wichtig. Gelangen sie nicht ins Objektiv, sei es, daß wir sie ausblenden, sei es, daß die Apertur des Objektivs zu gering ist, so kommt es nicht zu Interferenzen der Nebenmaxima mit dem Hauptmaximum, und die in den Interferenzen verschlüsselte Information über die Struktur des Objekts fehlt dem Bild.

Mit dem Abbeschen Diffraktionsapparat können wir eine Reihe von Versuchen anstellen, mit denen wir mal diese, mal jene Nebenmaxima ausblenden, so daß einmal die senkrechten, dann wieder die waagerechten, ein andermal schräge Linien im Bild fehlen, usw.

Ist das Nebenmaximum erster Ordnung vorhanden, so ist das Bild um so originalgetreuer, je mehr weitere Nebenmaxima am Bildaufbau mitgewirkt haben. Fehlen alle Nebenmaxima, so ist die Struktur des Objekts nicht mehr erkennbar, das Bild erscheint eigenartig strukturlos. Je nach den Umständen entstehen sogar optische Strukturen im Bild, die in Wirklichkeit gar nicht im Objekt vorhanden sind.

Je höher die Ordnung der Nebenmaxima, desto höher die korrespondierenden Frequenzen und um so kleiner die Objektteile, die dargestellt werden können. Löscht man zum Beispiel aus dem Beugungsbild durch optische Tricks die Nebenmaxima der höchsten Ordnung heraus, so werden die höchstfrequenten, also kleinsten Objektdetails nicht mehr dargestellt.

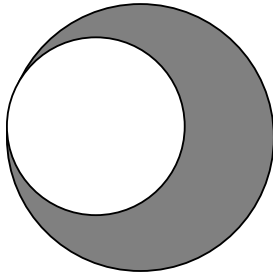
Je feiner und kleiner die durchstrahlten Strukturen sind, die wir betrachten wollen, um so mehr und desto stärker abgebeugte Nebenmaxima müssen noch ins Objektiv gelangen. Nun ist verständlich, daß die Objektivapertur um so größer sein muß, also einen um so größeren Lichtstrom aufnehmen muß, je kleiner die Details sind, die wir sehen wollen.

Je weiter wir die Aperturblende schließen, desto mehr Nebenmaxima, die für die Darstellung der Feinstruktur entscheidend sind, blenden wir aus, so daß die feinsten Strukturen unsichtbar bleiben. Vergrößern wir dann ein solches Zwischenbild über das Maß hinaus, welches ausreicht, die feinsten darin enthaltenen Strukturen sichtbar zu machen, z. B. durch ein stärkeres Okular oder eine fotografische Vergrößerung, so erhalten wir als zusätzliche Vergrößerung eine **leere Vergrößerung**. Dadurch werden keine zusätzlichen Details im Bild sichtbar, sondern es werden nur diejenigen vergrößert dargestellt, die auch vorher schon sichtbar waren. Dabei werden auch die Übergänge zwischen scharf und deutlich abgebilde-



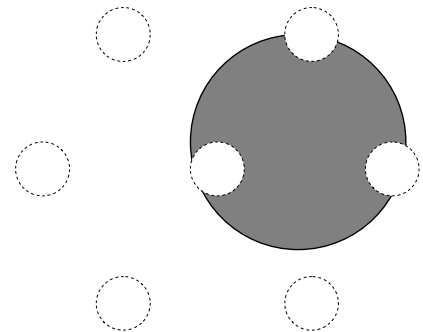
ten und den unscharfen Details sowie die „leeren Stellen“ vergrößert, so daß das Bild insgesamt weniger scharf wirkt und an Kontrast verliert.

### 3.3.4 Höhere Auflösung bei schiefer Beleuchtung



Wenn wir die Aperturblende des Kondensors nur wenig schließen, so daß das Bild nur einen geringen Kontrast erhält, und dann die Blende aus der optischen Achse bewegen, dann fällt das Licht von unten schräg auf das Präparat. Bei manchen Kondensoren, z. B. dem „großen Abbe“, funktioniert das mit einem seitlich wirkenden Zahntrieb. Der Winkel, unter dem die am Präparat gebeugten Lichtstrahlen austreten und in die Frontlinse des Objektivs gelangen, verschiebt sich zur Seite hin.

Wir schließen die Blende stark und betrachten das primäre Beugungsbild, indem wir – bei herausgenommenem Okular – von oben in den Tubus blicken. Wir sehen, daß das Bild des Hauptmaximums, entsprechend der Bewegung der Kondensorblende, sich nach links verschoben hat. Liegt ein Präparat im Strahlengang, wandern die Nebenmaxima ebenfalls mit. Rechts und oben kommen zwei von ihnen ins Bild. Im Zwischenbild entstehen nun diejenigen Strukturen des Präparats, die von den entsprechenden Nebenmaxima gebildet werden. Sie waren vorher nicht sichtbar, das Auflösungsvermögen ist also dort höher. Allerdings sind nun alle diejenigen Strukturen nicht mehr sichtbar, die von den zur anderen Seite entschwundenen Nebenmaxima gebildet wurden.



Das Auflösungsvermögen wird also nur „einseitig“ gesteigert. Theoretisch kann es auf diese Weise verdoppelt werden. Das gelingt aber mit einer einfachen Dezentrierung der Blende nicht, sondern am besten mit einem seitlich verschiebbaren Spiegel, damit die Lichtstrahlen bereits von der Lichtquelle her schräg einfallen. Es sind also mechanische Basteleien notwendig. Das mag der Grund sein, weshalb diese Art der Steigerung der Auflösung in der Regel nur von „Spezialisten“ praktiziert wurde, z. B. von Diatomeenforschern.

Neben der Steigerung der Auflösung, schätzen Praktiker häufig die ausgeprägte **Kontrastwirkung** durch die schiefe Beleuchtung, die einer Licht- und Schattenwirkung nicht unähnlich ist. Siehe dazu Kapitel 2.6.2 Schiefe Beleuchtung.

### 3.4 Das Auge und sein Auflösungsvermögen

„Das Auge ist ja als Organ eines lebenden Wesens nicht bloß ein optisches Gerät. Es entspricht trotz seiner uns dauernd erkennbar werdenden außerordentlichen Leistungsfähigkeit in keinem Punkte den Anforderungen, die der Konstrukteur an ein optisches Gerät stellen würde. Sein Abbildungssystem ist weder sphärisch noch chromatisch korrigiert. Dazu kommen Störungen durch Verspannungen und Unsymmetrien. ...“ (Michel 1964).

Doch mag das Auge selbst noch so unvollkommen sein, so ist es im Verein mit dem dahinter liegenden Gehirn das leistungsfähigste Bildverarbeitungssystem, das wir kennen. Keine technisch realisierbare oder denkbare Lösung könnte es mit ihm an Schnelligkeit und Auflösungsvermögen aufnehmen.

Der Lichtempfänger unseres Auges ist die Netzhaut. Sie besteht aus dicht gepackten Sehelementen (Stäbchen und Zapfen) von ca.  $5\ \mu\text{m}$  Durchmesser, die auch etwa  $5\ \mu\text{m}$  Abstand von einander haben. Fallen die Bildpunkte von zwei Lichtpunkten auf 2 benachbarte Sehelemente, so werden sie nicht als zwei getrennte Lichtpunkte erkannt, nicht aufgelöst. Fällt dagegen der zweite Lichtpunkt auch auf ein übernächstes Sehelement (Abstand  $10\ \mu\text{m}$ ), so erkennen wir zwei einzelne Lichtpunkte, sie werden aufgelöst.

Die geometrischen Daten des Auges bestimmen also seine physiologische Grenzauflösung, die durch den Grenzwinkel gegeben ist. Er beträgt etwa  $1'$  (Bogenminute,  $1/60^\circ$ ). Für die Praxis rechnet man aber besser mit  $2'$  bis  $4'$ .

Ein Zahlenbeispiel: Bei Annahme eines Grenzwinkels von  $2'$  können wir zwei Punkte aus einem Abstand von  $1,72\ \text{m}$  „auflösen“, wenn sie  $1\ \text{mm}$  groß sind.

## 4 Die Anwendung des Mikroskops

### 4.1 Das Mikroskop richtig einstellen

#### 4.1.1 Die Hand an die Schraube!

Es gibt ein untrügliches Merkmal für mikroskopische Anfänger oder „schlechte Mikroskopiker“: Sie sehen ins Okular, ohne daß die Finger den Knopf der Feinfokussierung bewegen, ja die Hand ganz hartgesotter Anfänger befindet sich noch nicht einmal in dessen Nähe! Bei einem erfahrenen Mikroskopiker ist das Rädchen der Feineinstellung so gut wie immer in Bewegung. Auf diese Weise durchwandert man das Präparat in der Tiefe und gewinnt eine Vorstellung von der räumlichen Struktur des Objekts. Wie sonst will man feststellen, ob die gewünschte Einstellebene richtig getroffen und die betrachteten Details auch wirklich scharf sind, wenn man das mit dem Triebknopf nicht ständig kontrolliert?

Darauf angesprochen, lautet die typische Antwort eines Anfängers: „Ach, das ist nicht nötig, ich sehe alles scharf, das Mikroskop ist gut eingestellt und meine Augen sind (noch) ganz in Ordnung.“ Auch „beratungsresistente“ Anfänger ändern ihr Verhalten meist schnell, wenn man ihnen sagt, daß sie ohne die „Hand an der Schraube“ sofort als Anfänger erkannt werden.

#### 4.1.2 Augenabstand richtig einstellen

Wenn der Augenabstand bei einem Binokulartubus nicht richtig eingestellt ist, bekommt der Mikroskopiker häufig Kopfschmerzen. („Echten Mikroskopikern“ passiert das selbstverständlich nicht.)

Am besten geht man so vor.

1. Die Mikroskoplampe wird hell aufgedreht, dann hält man eine Mattscheibe, z. B. ein Mattfilter oder ein Butterbrotpapier mit der matten Seite nach oben so über ein Okular, daß der Lichtfleck darauf so klein wie möglich ist: Das ist die Austrittspupille des Okulars. Diese Übung dient nur zur Feststellung, wie hoch die Austrittspupille über der Augenlinse des Okulars liegt. Beim Einblick ins Okular muß man das Auge so weit annähern, daß dessen Eintrittspupille mit der Okularaustrittspupille zusammenfällt. Jedenfalls nicht näher. Es gelingt nach einiger Übung bald, den richtigen Abstand zu halten.

2. Je nach Technik – durch „Knicken“ des Tubus oder durch Schieben der Okular-Schiebeplatte – verändert man den Abstand der Okulare zueinander nun so, daß sie mit dem Abstand der Augen voneinander übereinstimmen. Man muß, wenn man die Augen im richtigen Abstand über die Okulare bringt, ein einziges kreisrundes helles Gesichtsfeld sehen. Ist es nicht richtig rund, sondern doppelt, oder hat es doppelte Ränder, so stimmt die Sache noch nicht. Mit einem kleinen Trick kann man das noch kontrollieren. Man nehme ein Lineal mit Millimetereinteilung und messe im Spiegel den Abstand der beiden Augen nach. Dieser Abstand in Millimetern muß auch auf der Anzeigeskala des Binokulartubus abzulesen sein.

Wenn bei nur winziger Bewegung des Kopfes, das Bild in einem der beiden Okulare ganz oder teilweise abdunkelt, ist entweder der Augenabstand falsch eingestellt oder die Entfernung der Augen von den Okularen ist noch nicht optimal. Anfänger, die früher schon einmal durch ein Mikroskop gesehen haben, neigen wegen ihrer Erfahrung mit älteren Okularen dazu, das Auge zu nah an die Linse zu bringen, besonders bei modernen Brillenträgerokularen.

Wimperntusche kann gefährlich sein, auch dem Mikroskop. Sie ist chemisch so aggressiv, daß sie die Antireflexschicht auf den Okularlinsen anlöst. Auch optischem Glas ist sie nicht zuträglich. Teure Okulare können ruiniert werden.

#### 4.1.3 Okulare richtig einstellen

Auch nicht gut eingestellte Okulare verursachen Kopfschmerzen durch Überanstrengung.

Bei einem Binokulartubus muß mindestens eines der beiden Okulare mit einer verstellbaren Augenlinse oder der Tubus selbst mit einem einstellbaren Okularstutzen ausgestattet sein, damit man das Binokular auf eventuell unterschiedliche Sehstärke der beiden Augen einstellen kann.

Zunächst legen wir ein Präparat mit genügend feinen Details unter ein mittelstarkes Objektiv, am besten ein 25er oder ein 40er. Das Auge, mit dem wir durch das Okular mit verstellbarer Augenlinse sehen, kneifen wir dabei nicht etwa zu, sondern schieben ein Stück steifes Papier davor, weil sich die Muskelarbeit

des Zukneifens eventuell auf den Augenmuskel des anderen Auges überträgt und dann zur Fehlfokussierung führt. Mit dem anderen Auge schauen wir durch dessen Okular ohne verstellbare Augenlinse und stellen auf ein feines Objekt von geringer Tiefenausdehnung ein. Dabei merken wir uns dessen Aussehen und seine Umgebung nach der Scharfeinstellung, damit wir es anschließend mit dem anderen Auge wieder auffinden können. Bei der Einstellung achten wir darauf, daß wir nicht in das Mikroskop hinein, sondern sozusagen hindurch – in die weite Ferne – sehen. Am besten stellen wir uns dabei vor, daß wir von einem hohen Berg ins tief unten liegende Tal hinunter schauen.

Dann warten wir 10 Sekunden, bis sich das bisher abgedeckte Auge normalisiert hat, decken nun das erste Auge ab und stellen das zweite Okular – ohne die Fokussierknöpfe zu berühren – mit dessen fokussierbarer Augenlinse auf das gewählte Objekt scharf, bis es so aussieht wie durch das erste Okular. Dabei achtet man darauf, daß man auf dieselbe Schärfenebene wie zuvor einstellt. Nun muß das Präparat, mit beiden Augen betrachtet, optimal aussehen.

Einstellung eines binokularen Fototubus siehe Kapitel ~~###~~4.4.2.3 *Anpassung von Mikroskop und Kamera*.

#### 4.1.4 Bildhelligkeit richtig einstellen

Wenn ein Mikroskop mit Beleuchtungsspiegel ausgestattet ist und ohne elektrische Beleuchtung verwendet werden soll: Niemals direktes Sonnenlicht einspiegeln! Das ist viel zu hell und schadet den Augen. Das Licht des blauen Himmels, am besten mit weißen Wolken, ist richtig. Eine alte Mikroskopierregel lautet, den Nordhimmel einzuspiegeln. Ein Zimmer mit Nordfenster galt seinerzeit als ideal für die Mikroskopie.

Zur physiologisch richtigen Mikroskopbeleuchtung nennt G. GÖKE (1997) ein Zahlenbeispiel: Zwischen Kontrastempfindlichkeit und Auflösungsvermögen des Auges besteht eine große Diskrepanz. Bei schwacher Beleuchtung von etwa 0,03 Lux beträgt die Kontrastempfindlichkeit nur 10 % des Optimalwertes; bei 0,003 Lux nur noch 4 %, während gleichzeitig das Auflösungsvermögen nur auf 80 % sinkt. Ursache ist die Hell-Dunkel-Adaption des Auges, die von der integrierten Helligkeit über das gesamte Sehfeld bestimmt ist. Göke gibt die optimale Helligkeit des Bildfeldes mit 100 Lux an. Kein Wunder, daß wir bei zu schwacher Mikroskopbeleuchtung das subjektive Bedürfnis haben, den „Kontrast“ mit der Aperturblende zu verstärken. Konsequenz: Haben wir zuvor die Aperturblende nach allen Regeln der Kunst ordnungsgemäß eingestellt, sollten wir nicht daran fummeln, sondern zunächst am Regler des Trafos probieren, ob nicht die Bildhelligkeit zu schwach ist. Bei einem Stufentrafo sollte stets ein Neutralgraufilter von 50 % Durchlässigkeit bereitliegen, mit dem man den Stufensprung zur nächsten Helligkeitsstufe halbieren kann.

Eine nicht optimale Mikroskopierleuchte kann uns regelrecht blenden, wir können nicht lange hineinschauen. Mit einer guten und gut eingestellten Köhlerschen Beleuchtung vertragen wir nach meiner Erfahrung sogar etwas zu hell eingestelltes Licht ohne Beschwerden längere Zeit.

Ohne Regeltrafo muß man das Licht mit **neutralen Graufiltern** dämpfen, auf keinen Fall die Aperturblende zuziehen, den Kondensoren senken oder eine Mattscheibe in den Strahlengang bringen. Der beste Platz für Neutralgraufilter ist der Filterhalter unter dem Kondensoren.

#### **Hinweis zum Schutz der Augen**

Wer eine Halogenlampe verwendet, sollte – sofern nicht im Mikroskop eingebaut, über ein wegen der nicht unbedenklichen, mitunter erheblichen ultravioletten Strahlung an ein UV-absorbierendes Filter denken. Ebenso kann sich ein Wärmeschutzfilter empfehlen, um die infrarote Wärmestrahlung der Lampe zu mildern. Schäden durch UV-Strahlung kündigen sich als Reizung der Bindehaut an, mit Schmerzen oder Jucken. Wenn dann rechtzeitig reagiert wird, kann der Augenarzt das wieder in Ordnung bringen. Schäden durch IR-Strahlung, kündigen sich leider überhaupt nicht an, wenn sie bemerkbar sind, z. B. durch Trübung der Hornhaut oder des Glaskörpers im Auge, ist es bereits zu spät: sie sind nicht reparabel. – Lesen Sie dazu Näheres im Teil 3: *Das Auge und seine Leistung*.

## 4.1.5 Richtig köhlern

### 4.1.5.1 Vorbemerkungen

#### **Warum Köhlersche Beleuchtung exakt einstellen?**

Die richtige Einstellung und Handhabung des Mikroskopkondensors ist von entscheidender Bedeutung für die Güte des mikroskopischen Bildes, und es kann nicht eindringlich genug darauf hingewiesen werden, daß man sich schweren Täuschungen und Irrtümern in der Deutung feiner Strukturen aussetzt, wenn man der richtigen Beleuchtung in der Mikroskopie nicht genügend Aufmerksamkeit widmet. Es gibt nur eine einzige verlässliche Beleuchtungsmethode, und zwar die nach August KÖHLER benannte. Dieses ist das theoretisch und praktisch einzig richtige Beleuchtungsprinzip. Es sichert eine einwandfreie Lichtführung und schafft auch vor allem eindeutig reproduzierbare Einstellungen. Es hat sich mit wenigen Ausnahmen heute in der Mikroskopie durchgesetzt.

Nicht selten weisen selbst Mikroskope namhafter Hersteller konstruktive Mängel auf. Auch geduldigen Menschen gelingt dann die vorschriftmäßige Einstellung der Köhlerschen Beleuchtung nicht. Wer entsprechende Hinweise in einer ausführlichen Bedienungsanleitung findet, kann sich glücklich schätzen. Doch wenn sie abhanden gekommen oder dürftig ist, nehmen Mikroskopiker nur allzu oft mit einer Abbildungsqualität ihres Mikroskops vorlieb, die weit unterhalb seiner optischen Möglichkeiten und meist auch seines Preisniveaus liegt.

#### **Was bedeutet Zentrieren und Justieren?**

Wenn es in den folgenden Anleitungen zum richtigen Einstellen der Köhlerschen Beleuchtung an verschiedenen Stellen der Prozedur „zentrieren“ heißt, so ist damit immer gemeint: *genau* zentrieren, nicht nur „etwas“ oder „so ungefähr“. Wenn das Bild der Leuchtfeldblende zentriert ist, so sieht man sie *exakt* in der Mitte des Gesichtsfeldes. Wird sie dann weiter geöffnet, so muß ihr Rand den des Gesichtsfeldes rundum gleichzeitig berühren, nicht *ungefähr* gleichzeitig.

Die Glühlampe, der Kollektor, der Beleuchtungsspiegel und der Kondensator mit seiner Hilfs- und Frontlinse müssen so exakt justiert und zentriert sein, daß die im Gesichtsfeld sichtbare Leuchtfeldblende bei richtiger Einstellung rundum dieselbe Randfarbe zeigt. Ist ihr Rand auf einer Seite blau-violett und auf der anderen rot-orange, so ist irgendein Element im Strahlengang dejustiert. Meist ist das die Glühlampe, mitunter auch der Spiegel. Sogar ein im Mikroskopfuß eingebauter Spiegel kann dejustiert sein, das kommt gelegentlich vor, wenn die Schraubenlöcher, in denen er festgeschraubt ist, Lang- oder Schlitzlöcher sind und eine Schraube etwas locker ist. Dann muß er wieder exakt in Position gedreht und festgeschraubt werden. Daß eine Dejustage vorliegt, bemerkt man auch beim Scharfstellen auf ein kleines Objekt: beim Fokussieren mit dem Feintriebknopf scheint es beim Einstellen einer anderen Schärfenebene zur Seite hin auszuweichen. Man hat dann eine unbeabsichtigte schiefe Beleuchtung. Ein ähnlicher Effekt ist sichtbar, wenn eine schwenkbare Frontlinse oder eine Hilfslinse des Kondensors nicht ordentlich an ihrem Anschlag steht.

#### **Bildhelligkeit regulieren**

Bei der visuellen Beobachtung muß die Bildhelligkeit der modernen Niedervoltlampen mit ihrer hohen Leuchtdichte gedämpft werden. Leider legen nicht wenige Mikroskophersteller zu diesem Zweck ihren Instrumenten noch immer jene unsäglichen Blaumattscheiben bei. Legt man sie in den Strahlengang, wird die Funktion der Leuchtfeldblende illusorisch, weil sie nicht mehr scharf abgebildet werden kann. Damit die sich die Bildfarbe nicht zu stark ins Gelbrötliche verschiebt, sollte auch die Stromzufuhr durch den Transformator nicht stark gedrosselt werden. Besser ist es, ein oder mehrere neutralgraue Klarglasfilter in den Filterhalter zu legen. Ein zusätzliches blaues Klarglasfilter ergibt eine angenehme, tageslichtähnliche Beleuchtung. Auch zwei gegeneinander drehbare Polarisationsfilter ergeben einen zweckmäßigen Lichtregler.

#### **Mattscheiben im Strahlengang**

Das Köhlersche Beleuchtungsprinzip setzt theoretisch eine homogene Lichtquelle voraus. Auch moderne Niedervolt-Flachwendellampen erfüllen diese Forderung nicht ganz. Mitunter läßt sich bei in den Mikroskopfuß eingebauten Beleuchtungen die Glühwendel der Lampe aus konstruktiven Gründen nicht sauber „homogenisieren“, so daß man zu einer Mattscheibe greifen muß. Dabei ist jedoch zu beachten, daß sich oberhalb der Leuchtfeldblende bzw. zwischen ihr und dem Kondensator keine Mattscheibe im Strahlengang befinden darf, weil die Leuchtfeldblende dabei ihre Funktion verliere. Die Mattscheibe gehört zwi-

schen Lampe und erste Kollektorlinse. Hat der Kollektor aus konstruktiven Gründen nur einen geringen Durchmesser, so ist seine erste Linse, um die notwendige Apertur zu erreichen, jedoch stark konkav gekrümmt, und der Glaskolben der Glühlampe ragt regelrecht in diese Höhlung hinein. Dort paßt dann keine Mattscheibe mehr dazwischen. In diesem Fall sollte sie jedoch gleich hinter dem Kollektorsystem angebracht werden. Doch ist das ein Notbehelf. Bei manchen Kollektoren ist die erste Kollektorlinse selbst mattiert. Von mattierten Lampenkolben ist man aus Kostengründen abgekommen.

Auch die Beschaffenheit eines Mattglases ist wichtig. Einfache sandgestrahlte Mattscheiben sind ungeeignet, weil sie das Licht stark zerstreuen und so einen Lichtverlust zwischen 60 und 80 % verursachen. Geeignete Mattgläser für den mikroskopischen Strahlengang dagegen sind mit Flußsäure geätzt. Ihre „matte“ Fläche besteht aus vielen mikroskopisch-kleinen konkaven Aushöhlungen, die unterschiedlich groß sind, aber alle etwa dieselben Krümmungsradien, d. h. dieselbe Brennweite besitzen, so daß jede als winzige Linse ein virtuelles Bildchen der Lampenwendel erzeugt. Dieses feine „Linsenraster“ zerstreut das von der Lampe kommende Licht so gut wie gar nicht, deshalb liegt der Lichtverlust nur zwischen 20 und höchstens 40 % und das abgestrahlte Licht ist völlig homogen. – Auch die erste Linse des Kollektors kann auf diese Weise „mattiert“ sein.

### Begrenzende Eigenschaften der Kondensoren

Aus Kostengründen sind die optischen Elemente im Beleuchtungsstrahlengang bei preiswerteren Mikroskopen nicht achromatisch-aplanatisch, sondern nur aplanatisch oder überhaupt nicht korrigiert. Die Nachteile, die man dabei in Kauf nehmen muß, sind:

- unscharfe Abbildung der Leuchtfeldblende in der Präparatebene, vor allem bei stärkeren Vergrößerungen
- Farbsäume an den Bildrändern der Leuchtfeldblende, die beim Verstellen der Kondensorhöhe von blau nach rot umschlagen.

Wird bei solchen Kondensoren die Leuchtfeldblende bei der Mikrofotografie streng nach den Köhlerschen Regeln eingestellt, so verursachen ihre Farbsäume in der Regel einen deutlichen Farbstich im Bild. Abhilfe schafft, wenn man die Leuchtfeldblende weiter öffnet, was jedoch einen Verzicht auf völlige Ausschaltung von kontrastminderndem Streulicht bedeutet.

Bei Verwendung von Objektiven hoher Apertur (über 0,7) weisen manche Kondensoren den Fehler auf, daß nach korrekter Abbildung der Leuchtfeldblende diese als Aperturblende wirkt. Wenn dabei nicht mehr als  $\frac{1}{4}$  der hinteren Objektivöffnung abgedeckt wird, ist das hinnehmbar. Wird dieser Wert überschritten, muß man die Leuchtfeldblende weiter öffnen. Beim Kontrollblick in den Tubus bei herausgenommenem Okular soll mindestens  $\frac{3}{4}$  der Austrittspupille des Objektivs frei sein.

Hier noch einige Faustregeln für die praktische Einstellung des Kondensors.

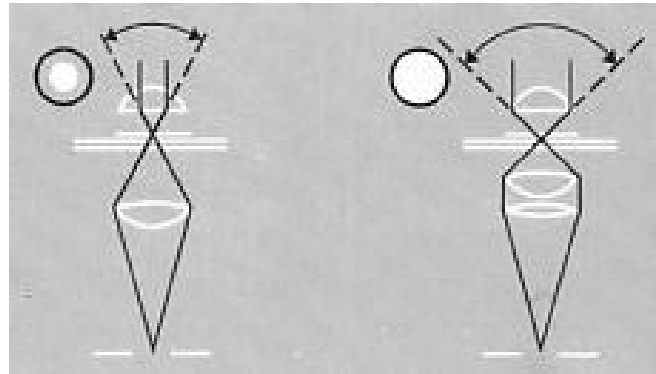
- Bei richtiger Einstellung der Köhlerschen Beleuchtung liegt die Kondensorfrontlinse nur wenige Millimeter unterhalb der Tischoberfläche.
- Ist wegen starker Farbsäume das korrekte Einstellen der Leuchtfeldblende in der Präparatebene schwierig, so sollte man für diese Einstellung die Aperturblende geringfügig schließen. Danach ist sie aber wieder entsprechend zu öffnen, d. h. korrekt einzustellen.
- Bei richtiger Einstellung der Leuchtfeldblende ist ihr innerster Farbsaum blau bis violett.
- Lupenobjektive bis zum Abbildungsmaßstab 5:1 verwendet man bei einem Mikroskop mit Spiegelbeleuchtung ohne Kondensor, jedoch mit dem Hohlspiegel; bis 10:1 mit dem Kondensor, aber ohne dessen Frontlinse.

### Funktionswechsel der Blenden und Hilfslinsen

Läßt sich trotz weit vollständig geöffneter Leuchtfeldblende das Sehfeld nicht bis zum Rand gleichmäßig ausleuchten, so muß die Frontlinse des Kondensors abgeschraubt oder ausgeklappt werden. Das ist in der Regel bei Objektiven unter 10facher Eigenvergrößerung notwendig. Vielfach muß zusätzlich eine Hilfslinse aus- oder bei manchen Fabrikaten eingeschwenkt werden.

Bei einigen Fabrikaten kann der Kondensor nach dem Ausschalten der Frontlinse die Leuchtfeldblende nicht mehr in der Präparatebene abbilden: Die Köhlerschen Regeln sind dann nicht mehr einhaltbar, die Leuchtfeldblende wirkt nun als Aperturblende, und die Kondensorblende muß ganz geöffnet werden.

Was hat es mit der **Hilfslinse** auf sich? Um bei Mikroskopen mit eingebauter Leuchtfeldblende diese nach den Köhlerschen Regeln im Präparat abzubilden, müßte der Kondensor so weit gesenkt werden, daß ein merklicher Aperturverlust entstünde. Eine Hilfslinse unmittelbar unter dem Kondensor vermeidet das. Siehe die Abbildung. Bei Köhlerscher Beleuchtung würde durch Senken des Kondensors ein zu großer Aperturverlust entstehen (links). Bei Verwendung der Hilfslinse wird das vermieden (rechts). Bei einer getrennt aufgestellten Leuchte schwenkt man die Hilfslinse aus oder ersetzt sie besser durch eine Hilfslinse mit längerer Brennweite.



Gelegentlich gibt es Schwierigkeiten bei der Benutzung von **starkvergrößernden Objektiven** mit hoher Apertur. Es kann vorkommen, daß man kein Bild der Leuchtfeldblende einstellen kann. Das mag daran liegen, daß sich manche Leuchtfeldblenden nicht weit genug schließen lassen oder der Kondensor kein genügend kleines Bild der Leuchtfeldblende liefert. Hier zwei Methoden, wie man vorgehen kann. (1) Zuerst die Leuchtfeldblende mit einem schwächeren Objektiv einstellen und zentrieren; dann die Blende so weit wie möglich schließen, nachdem das „starke“ Objektiv eingestellt ist. Oder (2) den Kondensor dezentrieren bzw. den Spiegel etwas kippen, bis eine Seite der Leuchtfeldblende sichtbar wird; jetzt die Kondensorhöhe nach der Schärfe des Leuchtfeldblendenrandes einstellen und Kondensor oder Spiegel wieder zentrieren, so gut es geht.

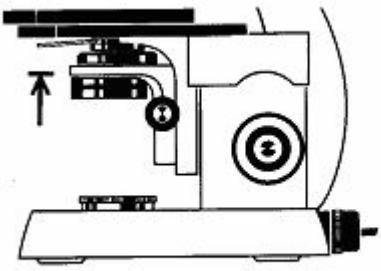
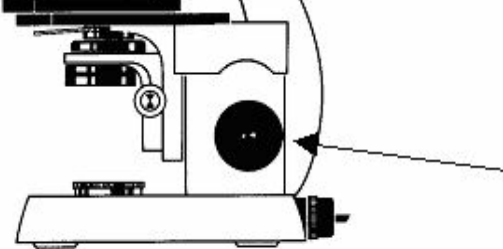
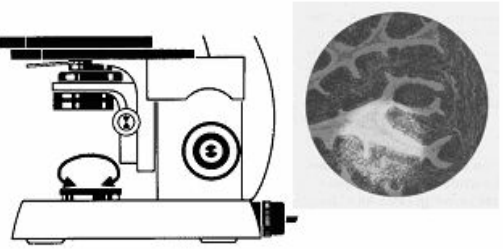

Auch mit **schwachvergrößernden Objektiven** kann es Schwierigkeiten geben. Manche sind „so schwach“, daß die Köhlersche Beleuchtung nicht angewandt werden kann. Auch hier gibt es mehrere Möglichkeiten. (1) Kondensorfrontlinse abschrauben, wegklappen. (2) Kondensorhilfslinse, soweit vorhanden, entfernen oder aus dem Strahlengang schwenken. Beide Maßnahmen verringern die Apertur des Kondensors und erweitern den Beleuchtungskegel. Manche Mikroskope sind auch mit einer ein-schwenkbaren Streuscheibe ausgestattet. Wenn mit einer separaten Lampe über einen Spiegel beleuchtet wird, kann man den Kondensor ganz entfernen und dann (aber *nur* dann) mit dem *Hohlspiegel* beleuchten. Aperturblende ganz öffnen, die Leuchtfeldblende wirkt dann als Aperturblende. Bedienungsanleitung beachten !

Manchmal ist die Mikroskopbeleuchtung so hell, daß man kaum ins Okular schauen kann. Ohne Regeltrafo muß man das Licht mit **neutralen Graufiltern** dämpfen, auf keinen Fall die Aperturblende zuziehen, den Kondensor senken oder eine Mattscheibe in den Strahlengang bringen. Der beste Platz für Neutralgraufilter ist der Filterhalter unter dem Kondensor.

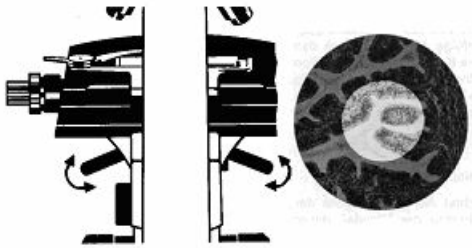
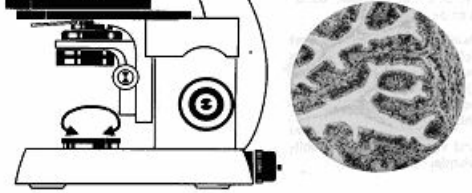
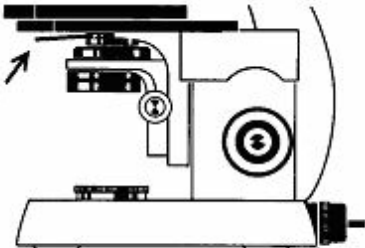


Wer aus finanziellen Gründen für den Anfang ein Mikroskop ohne Köhlersche Beleuchtung anschafft, sollte darauf achten, daß später eine „Köhlersche“ Ein- oder Anbauleuchte nachgerüstet werden kann. Eine separate Leuchte für die Köhlersche Beleuchtung ist in der Regel unpraktisch und unbequem, erfordert oftmals Bastelarbeiten. Man muß nämlich dafür sorgen, daß sie, weil man sie öfter anfassen, ihre Leuchtfeldblende nach jedem Objektivwechsel neu einstellen muß, unverrückbar mit dem Mikroskop verbunden ist. Auch ein arretierbarer Mikroskopspiegel ist hilfreich, denn nur allzu oft gerät man mit den Fingern in seine Nähe und verstellt ihn versehentlich, wenn er nicht festgeklemmt ist.

#### 4.1.5.2 Einstellung bei Mikroskopen mit im Fuß eingebauter Beleuchtung

Auch wer eine separate Mikroskopierleuchte verwendet, deren Licht mit einem Spiegel in den Kondensator gelenkt wird, sollte dennoch zuerst den folgenden abgebildeten Ablauf für das Einstellen eines Mikroskops mit eingebauter Leuchte lesen, weil er exemplarisch und ausführlich dargestellt ist.

<p>1 Präparat auf den Objektisch legen, Lampe einschalten, Helligkeit mit Trafo dämpfen oder durch Einlegen eines Neutralgraufilters (oder mehrerer) in den Lampenausstritt im Fuß oder in den Filterhalter unter dem Kondensator.</p>	
<p>2 Kondensator mit Trieb in höchste Stellung drehen. Kondensatorfrontlinse und Hilfslinse unter dem Kondensator einschwenken. (Phasenkontrastkondensator: Drehscheibe in Stellung „J“.)</p>	 <p>Kondensator mit eingeklappter Frontlinse ganz nach oben</p>
<p>3 Objekt ohne Rücksicht auf Beleuchtung mit Objektiv 6,3, 10, 16 oder 25:1 mit dem Trieb scharf einstellen.</p>	 <p>Präparat mit Objektiv 6,3 oder 10 scharf stellen</p>
<p>4 Leuchtfeldblende schließen. Kondensatorblende öffnen.</p>	 <p>Leuchtfeldblende im Mikroskopfuß unter Beobachtung schließen</p>
<p>5 Leuchtfeldblende durch Senken des Kondensators (mit dem Kondensortrieb) im Präparat scharf abbilden. Dazu evtl. die Kondensatorblende etwas schließen, damit der Blendenrand der Leuchtfeldblende kontrastreicher erscheint.</p>	 <p>Kondensator geringfügig absenken bis das Bild der Blende am schärfsten</p>



<p>6 Leuchtfeldblende mit den Zentrierschrauben an der Hilfslinse zentrieren; wenn keine <i>Hilfslinse</i> vorhanden, mit den Zentrierschrauben am Kondensorträger.</p>	 <p>Mit den beiden Zentrierschrauben des Kondensors Leuchtfeldblende im Sehfeld zentrieren</p>
<p>7 Leuchtfeldblende bis kurz vor dem Sehfeldrand öffnen, nochmals zentrieren, dann weiter öffnen, bis sie gerade hinter dem Sehfeldrand verschwindet.</p>	 <p>Leuchtfeldblende annähernd bis zum Sehfeldrand öffnen, feinzentrieren und weiter öffnen bis sie hinter dem Sehfeldrand verschwindet.</p>
<p>8 Mit der Kondensor-(Apertur-)Blende den Bildkontrast regeln. Um bei schwachen Objektiven das Sehfeld auszuleuchten, die Kondensorfrontlinse ausklappen oder abschrauben und die Hilfslinse ausschwenken. Kondensorblende öffnen.  Die Blende an der Leuchte wirkt jetzt evtl. als Aperturblende!</p>	 <p>Bildkontrast mit Kondensorblende regeln (Ph-Kondensator: Stellung J)</p>
<p>9 Bei jedem Objektivwechsel Einstellungen 5 – 8 wiederholen. Der Durchmesser der Blende sollte nur in Ausnahmefällen kleiner eingestellt sein als <math>\frac{2}{3}</math> des Durchmessers der Objektivöffnung. Kontrolle: ein Okular aus dem Tubus ziehen und in diesen (evtl. mit Nahbrille) hineinschauen. (Oder mit Optovar in Stellung PH oder mit Phasenkontrast-Einstellfernrrohr.) Wenn Sehfeld nicht gleichmäßig ausgeleuchtet, Lampenfassung der Einbauleuchte ein wenig axial verschieben oder verdrehen.</p>	 <p>Dazu Kontrolle: ohne Okular in den Tubus blicken. Die sichtbare Objektivöffnung sollte zu etwa <math>\frac{3}{4}</math> ausgeleuchtet sein.</p>
<p>10 <u>Bildhelligkeit</u> nur mit Neutralgraufiltern oder mit dem Lampentransformator regeln. <u>Niemals</u> durch Absenken des Kondensors die Helligkeit vermindern. Das Bild wird zwar dadurch auch dunkler, jedoch hat das dieselbe Wirkung wie das Schließen der Aperturblende: die Auflösung sinkt. Das wäre der größte Fehler, den man in der Mikroskopie machen kann!</p>	 <p>Bildhelligkeit mit Filtern oder Lampenspannung regeln</p>
<p>11 <u>Ölimmersionsobjektiv</u>: Frontlinse durch einen Tropfen Öl mit dem Präparat verbinden. Nur dann kann die Objektivapertur ausgeleuchtet werden, andernfalls sinken Apertur, Auflösung, Kontrast und Korrektion bis zur völligen</p>	

Unbrauchbarkeit. Objektive mit konkav gewölbter Frontlinse nicht von oben in das Öl eintauchen, sondern von der Seite her einschwenken, damit sich keine Luftblasen bilden.

Bei Objektiven 90 und 100:1 die Leuchtfeldblende wegen der unkorrigierten Farbfehler des Kondensors etwas weiter öffnen als unter 7 beschrieben. Bei gut korrigierten achromatisch-aplanatischen Kondensoren ist das jedoch nicht notwendig.

Frontlinse von Immersionenkondensoren (mit Aperturen über 1,0, z. B. 1,3 oder 1,4) ebenfalls durch Immersionöl mit dem Präparat verbinden. Die gute Korrektur derachr.-apl. Kondensoren 1,4 setzt diese Immersion immer voraus, auch bei Verwendung von Trockenobjektiven (die jedoch selbst niemals immmergiert werden dürfen)

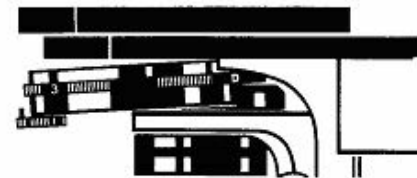
12 Nach Kondensorwechsel alle Schritte 2 – 9 wiederholen. Hat das Mikroskop eine Hilfslinse, nach jedem Kondensorwechsel zunächst:

- Hilfslinse ausklappen
- Kondensor nach oben
- Präparat scharf stellen
- Leuchtfeldblende schließen, Kondensorblende öffnen
- Leuchtfeldblende scharf einstellen
- Leuchtfeldblende zentrieren, jedoch jetzt mit den Zentrierschrauben am Kondensorträger
- Hilfslinse wieder einschwenken, und dann:
- alle Einstellungen ab Schritt 2 wiederholen!

#### Bei Phasenkontrastbeleuchtung (Ph):

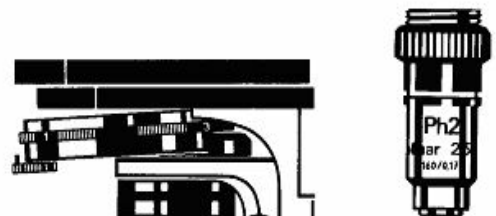
- a Am Ph-Kondensor Drehscheibe in Stellung J
- b Alle Schritte 1 – 7 wie oben.

#### Abwandlung Phasenkontrast (Ph)

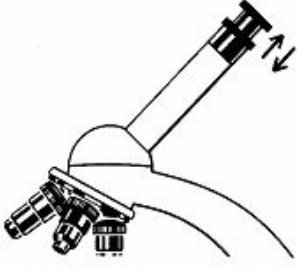
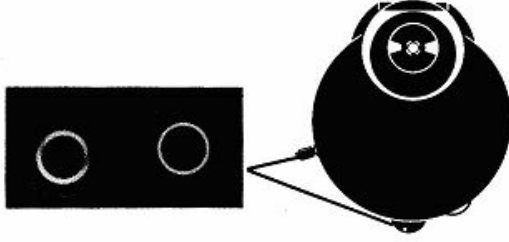


wie zuvor,  
jedoch mit Ph-Kondensor in Stellung J

- c Dem gewählten Ph-Objektiv entsprechende Ringblende mit der Drehscheibe einschalten.



Dem Ph-Objektiv entsprechende Ringblende  
am Kondensor einschalten

<p>f Okular aus Stutzen ziehen</p> <p>g Hilfsmikroskop (= Ph-Einstellfernrohr) einsetzen</p> <p>h Auf Phasenring und Ringblende scharf einstellen durch Verschieben der Einstellfassung im Tubus des Hilfsmikroskops</p>	 <p>Hilfsmikroskop anstelle Okular einsetzen und auf Phasenring und Ringblende fokussieren (beide Rändel gegeneinander verschieben)</p>
<p>i Phasenring und Ringblende mit den Justierknöpfen am Ph-Kondensor genau in Deckung bringen</p> <p>j Hilfsmikroskop wieder gegen Okular auswechseln</p> <p>k Zur leichteren Beobachtung evtl. strenges Grünfilter verwenden, z. B. SCHOTT VG 9; 3 mm stark</p>	 <p>Phasenring und Ringblende mit beiden Justierknöpfen am Kondensor zur Deckung bringen. Okular wieder einsetzen. Grünfilter.</p>
<p>l Beim Objektivwechsel Leuchtfeldblende anpassen gemäß Schritten 5 – 7</p> <p>m Dem Objektiv entsprechende Ringblende einschalten</p> <p><i>Es entfällt: Apertur einstellen, weil in der Ph-Stellung die Kondensorbblende außer Funktion ist.</i></p>	<p>Bei Objektivwechsel lediglich: Leuchtfeldblende der Sehfeldgröße anpassen und dem Objektiv entsprechende Ringblende einschalten</p>

(Abbildungen nach Informationsblatt GK 41-100-d von 1975 von Carl Zeiss, Oberkochen, leicht verändert)

#### 4.1.5.3 Einstellung bei Verwendung einer separaten Mikroskopierleuchte

Auch wer eine separate Mikroskopierleuchte verwendet, deren Licht mit einem Spiegel in den Kondensor gelenkt wird, sollte dennoch zuerst den bebilderten Ablauf für das Einstellen eines Mikroskops mit *eingebauter* Leuchte lesen (Kapitel 1.1.2), weil er exemplarisch und ausführlich dargestellt ist.

##### Aufstellen und Zentrieren der Mikroskopierleuchte

Dieser Arbeitsgang entfällt in der Regel bei Stativen mit einer Einbauleuchte. Bei getrennter Anordnung von Leuchte und Mikroskop muß er jedes Mal durchgeführt werden, wenn die Position der beiden Geräte verändert wurde.

- 1 Bei vielen Mikroskopierleuchten muß die Glühlampe bei einem Wechsel oder bei Inbetriebnahme in Bezug auf den Kollektor (und damit auch gegenüber der Leuchtfeldblende) besonders zentriert werden. Das muß sorgfältig geschehen. Meist sind am Lampengehäuse Zentrierschrauben angebracht.
- 2 Lampe und Mikroskop über die Verbindungsschiene miteinander verbinden. Wenn eine Verbindungsschiene fehlt, Mikroskop und Leuchte auf ein Stück Pappe oder ein gemeinsames Grundbrett stellen und nach Einstellung die optimale Position einzeichnen. Leuchte in einer Geraden vor dem Stativ so aufstellen, daß die Leuchtfeldblende ca. 250 mm vom Mikroskopspiegel entfernt ist.
- 3 Lampe einschalten und so neigen, daß der Lichtkegel auf die Mitte der planen Fläche des Mikroskopspiegels fällt. Ein an den Spiegel angelegtes Transparentpapier oder eine Mattscheibe erleichtert diese Einstellung.  
(ACHTUNG: Der Hohlspiegel darf niemals zusammen mit einem Kondensor benützt werden, bleibende Augenschäden könnten die Folge sein. Er ist für schwache Objektive – 2:1 bis etwa 5:1 anstelle des Kondensors vorgesehen. Jedoch niemals direktes Sonnenlicht hineinscheinen lassen!)
- 4 Leuchtfeldblende auf einen Durchmesser von wenigen Millimetern schließen, worauf sich durch Verschieben der Lampenfassung oder des Lampenkollektors in Richtung der optischen Achse die

Glühwendel der Lampe auf dem Spiegel abbilden läßt. Wenn notwendig, bringt eine leichte Korrektur der Lampeneinstellung dieses Bild genau in das Zentrum des Spiegels. (**Achtung:** Dieser Zentriervorgang dient nur der Erleichterung der endgültigen Einstellung, da ein genaues Abbilden der Glühwendel in die Irisblendenebene des Kondensors (= Eintrittspupille des Mikroskops) ohne vorhergehende Zentrierung der Lampe in die optische Achse schwierig ist.)

Glühlampen mit mattierter Kalotte oder Kollektoren mit mattierter Linse ergeben kein Wendelbild. Bei ihnen ist die Einstellung dann richtig, wenn der Lichtfleck auf dem Mikroskopierspiegel den kleinsten Durchmesser aufweist.

- 5 Kondensordrehung bei aufgesetzter Frontlinse hochdrehen, bis sich seine Frontlinse ca. 1 mm unterhalb der Tischoberfläche befindet. Dort ist auch meist der obere Anschlag des Kondensors.
- 6 Aperturblende schließen und unter Beobachtung über den Mikroskopspiegel die Lampenfassung nochmals in ihrer Längsachse verschieben, bis die vorhin auf dem Spiegel abgebildete Glühwendel (bzw. der kleinste Leuchtfleck) auf den Lamellen der Kondensordblende scharf abgebildet wird. Zur besseren Einstellung kann man ein Papier in die Ebene der Blendenlamellen bringen. Ein kleiner Taschenspiegel erleichtert die Beobachtung der Glühwendel in der Kondensordblendenebene.

Damit ist der erste Teil der Einstellung der Köhlerschen Beleuchtung beendet, *sie bleibt erhalten, solange die Stellung von Lampe und Mikroskop nicht verändert wird*. Bei jedem Objektiv- oder Okularwechsel müssen aber folgende Manipulationen durchgeführt werden.

#### **Einstellen und Zentrieren der Leuchtfeld- und Aperturblende**

Die folgenden Regeln gelten für alle Mikroskope, an welchen die Köhlersche Beleuchtung angewandt wird. Die Angaben über die Einstellung der Aperturblende haben darüber hinaus allgemeine Bedeutung in der Mikroskopie (Abweichungen davon sind in den Kapiteln über besondere Beobachtungsverfahren stets angegeben.)

- 7 Aperturblende und Leuchtfeldblende *ganz* öffnen.
- 8 Präparat scharf einstellen.
- 9 Leuchtfeldblende bis zum Anschlag schließen. Durch Verstellen des Spiegels, Verschieben des Zentriereinsatzes oder des Kondensors Bild der Leuchtfeldblende in das Zentrum des Gesichtsfeldes rücken.
- 10 Kondensordblende mittels Kondensortrieb in der Höhe so verstellen, daß die Leuchtfeldblende in der Präparatebene, also gleichzeitig mit dem scharf eingestellten Präparat, *scharf* abgebildet erscheint.
- 11 Leuchtfeldblende so weit öffnen, daß ihr Bild am Rand des Gesichtsfeldes verschwindet oder das auszunützendes Filmformat freigibt. Zentrierung (s. Punkt 3) eventuell nochmals nachstellen.
- 12 Aperturblende des Kondensors so weit schließen, bis das Präparat gut durchgezeichnet ist und kontrastreich erscheint. Kontrolle der Blendeneinstellung: Okular herausnehmen in den Tubus auf die Austrittspupille blicken. Die Aperturblende darf nicht mehr als ein Viertel bis ein Drittel der hinteren Objektivöffnung abdecken, da sonst das Auflösungsvermögen des Objektivs zu stark reduziert wird.

Bei Mikroskop mit Einbaubeleuchtung sind zum Teil wesentliche Vereinfachungen in den erwähnten Einstellungen möglich. Siehe Anleitung anhand eines weit verbreiteten Mikroskopmodells Kapitel 4.1.5.2

(Die praktischen Hinweise für die Einstellung der Köhlerschen Beleuchtung bei Verwendung einer separaten Mikroskopierleuchte lehnen sich an die Darstellung bei SCHENK/KISTLER (1960) an.)

#### **4.1.5.4 Faustregeln für die Einstellung des Kondensors.**

- a Bei richtiger Einstellung der Köhlerschen Beleuchtung liegt die Frontlinse des Kondensors meist nur wenige Millimeter unter der Tischebene.
- b Es kann vorkommen, daß zusammen mit dem Präparat eine gewisse Körnigkeit oder moiréartige Strukturen im Bild sichtbar sind. Das ist die Struktur einer Mattscheibe im Strahlengang oder die mattgeätzte Kollektorlinse, die das hervorruft. Abhilfe schafft, wenn man den Kondensordrehtrieb ganz leicht in der Höhe verstellt, mitunter genügen Bruchteile eines Millimeters.

- c Manchmal ist es wegen der breiten Farbsäume schwierig, die Leuchtfeldblende in der Präparat-ebene (zusammen mit dem scharf eingestellten Präparat) genügend scharf abzubilden. Dann zieht man die Aperturblende am Kondensor *ein wenig* zu und stellt die Leuchtfeldblende ein. Dann öffnet man die Aperturblende wieder.
- d Der innere Farbsaum der Leuchtfeldblende soll blau bis violett erscheinen, nicht rot oder orange. Da die optischen Firmen die Farbkorrektur ihrer Objektive und Kondensoren durchaus nicht alle auf dieselbe Weise berechnen, ist aber diese Farbangabe des Leuchtfeldblendenrandes kein zuverlässiges Merkmal. Man mache folgenden Test: Kondensorblende um  $\frac{1}{4}$  schließen, d. h. beim Blick in den Tubus bei herausgenommenem Okular muß der Radius der Objektivaustrittspupille durch die Aperturblende um  $\frac{1}{4}$  vermindert sein. Die Leuchtfeldblende schließt man ebenfalls entsprechend. Jetzt die Leuchtfeldblende im Okularbild betrachten, während man sie abwechselnd weiter öffnet und weiter schließt. Man kann auf diese Weise gut sehen, ob am Rande des ausgeleuchteten Sehfeldes sich eine farbige oder leicht dunklere Randzone mit öffnet oder schließt. Bei nicht richtiger Einstellung des Kondensors schließt sich an den violetten Rand nach innen ein gelber bis grünlicher Rand an, der durch richtige Einstellung möglichst schmal zu halten ist. Eine (eventuell einseitige) dunklere Randzone bedeutet in der Regel, daß die Glühlampe nicht richtig justiert ist.

Wenn der eine Rand des Leuchtfeldblendenbildes rot und der gegenüberliegende blau erscheint, ist der Kondensor falsch zentriert, eine schwenkbare Frontlinse nicht richtig eingeklappt oder der Objektivrevolver nicht richtig eingerastet.

- e Stets das Leuchtfeldblendenbild zentrieren! Nicht alle von vier oder fünf Schraubgewinden im Objektivrevolver oder an den Objektiven selbst sind immer gleich gut zentriert, das kommt sogar bei den besten Fabrikaten vor. Bei der Einstellung der richtigen Kondensorhöhe (violetter Farbrand) empfiehlt sich deshalb, immer auch die Kondensorzentrierung nachzustellen, sobald die Leuchtfeldblende nicht mehr mittig im Gesichtsfeld ist. Auf diese Weise gewöhnt man sich daran und vergißt es niemals. Nach der Anschaffung eines achromatischen Kondensors sollte man nämlich auch die kleinste Dezentrierung justieren, weil man sonst für den erheblichen Mehrpreis nicht die volle optische Leistung erhält. Wichtig ist die exakte Zentrierung auch, weil eine ganz strenge Köhlersche Beleuchtung oftmals konstruktionsbedingt gar nicht einstellbar ist; nämlich dann wenn z. B. aus Kostengründen die Leuchtfeldblende so wenige Lamellen hat, daß nur ein sechseckiges anstatt ein rundes Bild zustande kommt. Die sechs Ecken verlassen das Gesichtsfeld früher als die sechs Kanten. Das mag in vielen Fällen unerheblich sein. Aber beim Betrachten oder Fotografieren feinsten Details, z. B. von Diatomeenschalen mit einem Fluoritobjektiv oder Apochromaten muß man alles vermeiden, was eine Kontrastminderung bewirken könnte.

Man kontrolliere stets, ob die vermeintlich nachzubessernde Zentrierung nicht daher rührt, daß die ausschwenkbare Front- oder die Hilfslinse des Kondensors nicht an ihrem Anschlag steht.

- f Einige Kondensoren haben konstruktionsbedingt eine unangenehme Eigenschaft. Bei numerischen Aperturen über 0,7 wirkt nach korrekter Einstellung die Leuchtfeldblende als Aperturblende! Sofern dabei nicht mehr als  $\frac{1}{4}$  der hinteren Objektivöffnung abgedeckt wird, ist das belanglos. Wird dieser Wert aber überschritten, muß man die Leuchtfeldblende weiter öffnen: Blick in den Tubus bei herausgenommenem Okular: mindestens  $\frac{3}{4}$  der Austrittspupille müssen frei sein.

Gelegentlich gibt es Schwierigkeiten bei der Benutzung von starkvergrößernden Objektiven mit hoher Apertur. Es kann vorkommen, daß man kein Bild der Leuchtfeldblende einstellen kann. Das mag daran liegen, daß sich manche Leuchtfeldblenden nicht weit genug schließen lassen oder der Kondensor kein genügend kleines Bild der Leuchtfeldblende liefert. Hier zwei Methoden, wie man vorgehen kann. (1) Zuerst die Leuchtfeldblende mit einem schwächeren Objektiv einstellen und zentrieren; dann die Blende so weit wie möglich schließen, nachdem das „starke“ Objektiv eingestellt ist. Oder (2) den Kondensor dezentrieren bzw. den Spiegel etwas kippen, bis eine Seite der Leuchtfeldblende sichtbar wird; jetzt die Kondensorhöhe nach der Schärfe des Leuchtfeldblendenrandes einstellen und Kondensor oder Spiegel wieder zentrieren, so gut es geht.

Auch mit schwachvergrößernden Objektiven kann es Schwierigkeiten geben. Manche sind „so schwach“, daß die Köhlersche Beleuchtung nicht angewandt werden kann. Auch hier gibt es mehrere Möglichkeiten. (1) Kondensorfrontlinse abschrauben, wegklappen. (2) Kondensorhilfslinse, soweit vorhanden, entfernen oder aus dem Strahlengang schwenken. Beide Maßnahmen verringern die Apertur des Kondensors und erweitern den Beleuchtungskegel. Manche Mikroskope sind auch mit einer einschwenkbaren Streuscheibe ausgestattet. Wenn mit einer separaten Lampe über einen Spiegel beleuchtet wird, kann man den Kondensor ganz entfernen und dann (aber *nur* dann) mit dem Hohl-

spiegel beleuchten. Aperturblende ganz öffnen, die Leuchtfeldblende wirkt dann als Aperturblende. Bedienungsanleitung beachten !

- g Wer eine mit zwei Zentrierschrauben ausgestattete Hilfslinse unter dem Kondensor hat (Zeiss-typisch), sollte geringfügige Korrekturen der Kondensorzentrierung immer an der Hilfslinse vornehmen und nicht am Kondensor selbst. Die Justierschrauben an der Hilfslinse sind leichter zugänglich und viel leichter zu drehen als die meist schwergängigen Schrauben am Kondensor oder an der Kondensorhalterung.

Bei der Justage eines Kondensorsystems mit zusätzlicher justierbarer Hilfslinse geht man wie folgt vor: (1) Präparat einlegen, scharfstellen, mittleres Objektiv (Maßstabszahl 10, 16 oder 20/25) einschalten. (2) Hilfslinse ausschwenken bzw. entfernen. Kondensor in oberste Stellung bringen. (3) Leuchtfeldblende zuziehen. (4) Kondensorhöhe suchen, bei der die Leuchtfeldblende scharf zu sehen ist. (5) Leuchtfeldblende so weit öffnen, daß der Durchmesser nur noch etwas kleiner ist als das Sehfeld. (6) Kondensor jetzt mit den Zentrierschrauben des Kondensorträgers oder des Kondensors auf Mitte justieren. (7) Hilfslinse wieder einschwenken. (8) Kondensor in oberste Stellung und danach in richtige Ebene bringen (wie 4). (9) Leuchtfeldblende jetzt mit den Zentrierschrauben an der Hilfslinse zentrieren. Bei der ganzen Prozedur darauf achten, daß die Hilfslinse bzw. die ausklappbare Kondensorfrontlinse ordentlich an ihrer Anschlagstellung stehen. Immer so verfahren, wenn der Kondensor gewechselt wurde oder wenn jemand anders am Mikroskop war!

- h Die Einstellung der Beleuchtung muß *gründlich geübt* werden!

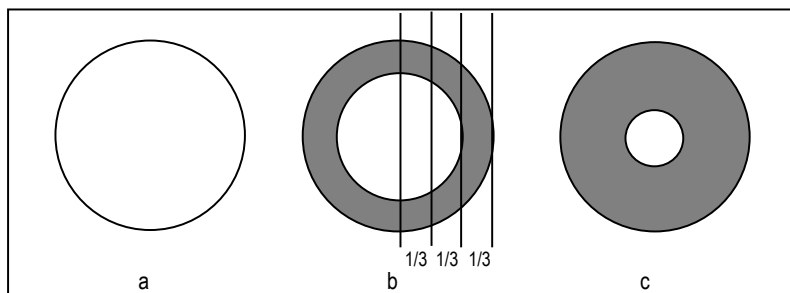
- i Fast nie beachtet, aber doch sehr wichtig für die Verwendung hochaperturiger Kondensoren ist die Dicke des Objektträgers – so wichtig wie die richtige Deckglasdicke für die Erhaltung der Objektivkorrektur! Ist der Objektträger dicker als genau 1 mm, kann der Kondensor häufig die Leuchtfeldblende nicht in der Präparatebene abbilden. Für die Herstellung der Präparate sollte man – sofern man sie eventuell fotografieren möchte – keine Objektträger unbekannter Dicke verwenden. 0,96 bis 1,06 mm Dicke ist nach meiner Beobachtung zulässig. Dennoch sind in manchen Packungen des Handels Objektträger bis 1,25 mm Dicke. Obwohl kaum ein Hersteller die Dicke auf die Objektträgerschachteln druckt, sollte der Mikrofotograf nur Markenprodukte verwenden.

#### 4.1.6 Aperturblende richtig einstellen

Das Auflösungsvermögen eines Objektivs ist am größten, wenn die Apertur des Kondensors und die des Objektivs gleich groß sind. Dazu stellen wir die Leuchtfeldblende nach Köhlers Vorschrift ein, um Überstrahlungen im Tubus zu vermeiden. (Der Rand der Leuchtfeldblende muß beim Blick durchs Okular „gerade eben“ aus dem Sehfeld verschwunden sein.) Wir ziehen das Okular aus dem Tubus und blicken durch ihn auf die Hinterlinse des Objektivs. (Wer eine Lesebrille braucht, sollte sie dabei aufsetzen.) Dann schließen wir die Aperturblende so weit, daß ihre Ränder im Objektiv sichtbar sind und öffnen sie wieder, bis die Ränder „gerade eben“ aus der Austrittspupille des Objektivs verschwinden. Bei dieser Einstellung zeichnet das Objektiv am schärfsten, mit maximaler Auflösung. Die werden wir aber nicht allzu oft benötigen. Wenn wichtige Details im Präparat größer sind als das Auflösungsvermögen des verwendeten Objektivs, ist es nicht so wichtig, es voll auszunützen. Wir können statt dessen die gröberen Details „kontrastreicher“, d. h. deutlicher darstellen, indem wir die Aperturblende etwas schließen.

Das Schließen der Aperturblende erhöht den erwünschten Kontrast „nicht im eigentlichen Sinne“, sondern macht die Strukturen dunkler und dicker, deshalb deutlicher erkennbar, jedoch auch unschärfer, konturloser. Eine dünne, feine, helle, nur mit einiger Mühe deutlich sichtbare Linie kann im Verhältnis zu ihrem hellen Bildumfeld genauso „kontrastreicher“ sein wie eine dicke, grobe, dunkle im Verhältnis zu ihrem dunkleren Umfeld. Durch neue Rechnungen, neue Glassorten und Oberflächenvergütungen haben bei der Objektivkonstruktion Lichtdurchlässigkeit im gesamten Farbspektrum, Farbsättigung und kontrastreiche Zeichnung schon bei voller Apertur im Vergleich zu „früher“ so zugenommen, daß man des Kontrastes halber deutlich weniger abblenden muß als noch vor Jahrzehnten, und zwar nicht nur bei den neuesten Planapochromaten, sondern gerade auch bei den einfachen Achromaten. Das ist für den Mikrofotografen angenehm, denn stärkere Abblendung macht Verunreinigungen auf Glasoberflächen des Strahlengangs im späteren Foto deutlich sichtbar – ein negativer Effekt der größeren Schärfentiefe. Ähnlich wie bei Kameraobjektiven, die ihr Optimum an Schärfe- und Kontrastleistung erst bei Abblendung um zwei bis drei Blendenstufen erreichen, nimmt die Kontrastleistung von Mikroskopobjektiven bei Abblendung ebenfalls zu. Bei gut korrigierten Objektiven scheint das Optimum bei Abblendung um höchstens ein Viertel zu liegen, weiteres Abblenden steigert nur noch die Schärfentiefe.

Kurt MICHEL führt 1949 dazu aus: Die Abblendung des Kondensors selbst richtet sich nach den Eigenschaften des Präparats. Eine feste Regel läßt sich nicht geben. Im allgemeinen wird bei Präparaten, bei denen die Kontraste durch Absorptionsunterschiede der verschiedenen Struktureinheiten zustande kommen (farbige oder gefärbte Präparate), wenig abgeblendet (Bild zwischen a und b), während bei Präparaten, bei denen Brechungsunterschiede die Kontraste erzeugen, verhältnismäßig stark abgeblendet wird (Bild zwischen b und c).



Die Austrittspupille eines Mikroskopobjektivs bei unterschiedlicher Abblendung des Kondensors.

- a) bei voll ausgeleuchteter Öffnung.
- b) bei mittlerer Abblendung – um ein Drittel;
- c) bei starker Abblendung.

(Nach MICHEL 1949, verändert.)

Auf jeden Fall überzeuge man sich möglichst oft von dem Grad der Abblendung durch Beobachten der Austrittspupille des Objektivs. Dort kann man das Verhältnis des Blendendurchmessers zum Durchmesser der ganzen Objektivöffnung beurteilen. Das Blendenbildchen soll niemals größer als die Objektivöffnung und im allgemeinen nie kleiner als  $\frac{1}{4}$  von ihr sein. Eine noch stärkere Abblendung ist nur in ganz wenigen Ausnahmefällen gestattet. Werden diese Regeln nicht beachtet, dann können folgende **Fehler** auftreten:

- Zu geringe Abblendung: mangelnder Kontrast und verschleierte Bilder.
- Zu starke Abblendung: Diffraktionssäume (= Beugungssäume) um alle Konturen des Objekts; Sichtbarwerden von Schmutz und Staubpartikelchen, die auf Linsenflächen in der Nähe des Objekts liegen;
- gegebenenfalls sogar Sichtbarwerden der Struktur der vor die Lampe geschalteten Mattscheibe oder wenn sie fehlt, der Glühfäden der Lampe.

Bei Fotos von Wasserlebewesen wie Algen oder auch farblosen Protozoen, blenden wir doch besser nicht so weit ab, wie MICHEL andeutet. Für die bessere Sichtbarkeit genügt meistens Abblendung um ein Drittel. Manche Autoren gehen noch immer von den Objektiven der dreißiger bis sechziger Jahre aus. Heutige Objektive bilden mit besserem Kontrast ab. Die meisten Räder- oder Wimpertiere sind auch bei weitem nicht so kontrastlos, wie immer behauptet wird. Der Eindruck der Kontrastlosigkeit täuscht oft dennoch nicht, entsteht aber eher durch Überstrahlungen: Manche Planktonfreunde mikroskopieren durch eine dicke Suppe hindurch; kein Wunder, daß sie ihre Ciliaten wie durch einen Nebel sehen. Da hilft auch das Zuziehen der Aperturblende nicht.

Es lohnt sich auf jeden Fall, eine Hand stets in der Nähe der Aperturblende zu haben, um mit dem Blendenhebel regelrecht zu spielen. Bei gefärbten Objekten wiederum muß man nur abblenden, wenn die Färbung blaß ausgefallen ist.

Ein Foto betrachtet man genau, Detail für Detail. Dabei sieht man auch Strukturen, die mit geringem Kontrast abgebildet sind; Hauptsache, sie sind auf dem Papierbild oder der Leinwand überhaupt zu erkennen. Anders sieht die Sache bei Film- oder gar Videoaufnahmen von „Plankton“ aus. Die Blende muß hier weiter geschlossen werden, weil sich die Objekte sonst zu schnell aus dem Bereich der Schärfentiefe bewegen. Des Beobachters Blick ruht hier nicht auf feinen Details, meist kann er sie gar nicht wahrnehmen, so rasch wechseln die Bilder. Da werden ja nicht Feinstrukturen eingefangen, sondern Bewegung. Nur selten sind bei Bewegungsaufnahmen Feinstrukturen das Ziel der Abbildung.

Nicht wenige Mikroskopiker ziehen zwar wegen der eindringlichen Warnungen die Aperturblende nicht über Gebühr zu, senken aber dann den Kondensor mit dem Triebknopf ab, um so das helle Licht zu dämpfen. Tatsächlich wird das Bild dann dunkler, weil die Absenkung dieselbe Wirkung hat wie das Abblenden: die Apertur nimmt ab.

**Stärker abzublenzen als unbedingt nötig (etwa gar zur Helligkeitsminderung!), ist einer der größten Fehler, den man in der Mikroskopie machen kann, da ein Verlust an Auflösungsvermögen eintritt.** Auf diese Weise erkennt man die feineren Strukturdetails eines Präparates nicht. Das Auflösungsvermögen hängt ja nur bei voller Blendenöffnung von der nominellen Apertur des Objektivs ab, bei Abblendung des Kondensors aber von der Stellung des Blendenhebels. (Wir setzen selbstverständlich ein konstruktiv und fertigungstechnisch gut gelungenes Objektiv voraus.)

Bei zu stark geschlossener Kondensorblende sind alle Staubteilchen, die sich im Strahlengang nahe einer „Luke“ befinden, deutlich sichtbar und beeinträchtigen die Bildqualität, besonders in der Mikrofotografie. Siehe Kapitel 2.5 *Die Beleuchtungsoptik des Mikroskops*.

Wir fassen zusammen: Die Lichtbeugung sorgt für Unschärfe je weiter wir abblenden, also die Apertur verringern – bis das Bild nur noch sich überlagernde, verwirrende Unschärfekreise zeigt. Bei plastischen Objekten (Plankton z. B.) kommt hinzu, daß sich bei stärker geschlossener Aperturblende und somit größerer Schärfentiefe die Strukturdetails der verschiedenen Objektebenen im Bild flächig überlagern und dieses – ohne daß der Kontrast dabei noch zunimmt – dicker, „fetter“, schwärzer und damit zwar insgesamt deutlicher sichtbar, die feineren Strukturen aber unkenntlich machen. Deshalb ist es wichtig, sich einzuprägen, wie ein gutes mikroskopisches Strukturbild aussieht. Höherer Kontrast durch größere Schärfentiefe ist niemals an und für sich schon erstrebenswert. Bei Vergleichsaufnahmen in einschlägigen Zeitschriften und Mikroskopiellehrbüchern mit einerseits wenig und andererseits weiter zugezogener Blende bin ich mir durchaus im Zweifel, ob der Meinung des jeweiligen Autors, welches von beiden das bessere Bild sei, immer beizupflichten ist.

### **Schärfentiefe und förderliche Vergrößerung**

Braucht man unbedingt die größere Schärfentiefe bei einer fotografischen Abbildung, so ist es, anstatt die Aperturblende stärker zu schließen, meist günstiger, ein geringer vergrößerndes Objektiv zu wählen. Es hat eine größere Brennweite, wird dem Objekt weniger weit genähert und bildet deshalb mit kleinerem Abbildungsmaßstab, aber mit größerer Schärfentiefe ab. Man kann dazu ein stärkeres Okular verwenden bzw. kann das Foto stärker nachvergrößern. Besonders hochaperturige Objektive eignen sich dafür, beispielsweise ein Objektiv 25:1 mit der Apertur 0,65, kombiniert mit einem 25fachen Okular. Die förderliche Vergrößerung (das 500- bis 1000fache der num. Apertur) wird dabei noch nicht überschritten. Beim Fotografieren auf Kleinbildformat sollte man das aber besser nicht tun, sondern ein 5- bis 10faches Okular verwenden, weil man ja anschließend das Foto noch vergrößert und dann ohnehin die förderliche Vergrößerung überschreitet. („Etwas“ überschreiten schadet nicht.)

Eine andere Kombination von Objektiv und Okular ergibt sich, wenn die Mikrofotoeinrichtung mit einem zusätzlichen Objektiv zwischen Okular und Kamera ausgestattet ist. Je nach dessen Brennweite, z. B. 63



mm, erhält man für die Abbildung auf dem Film einen Verkleinerungsfaktor von z. B. 0,25, der verhindert, daß die förderliche Vergrößerung bei der Nachvergrößerung des Papierbildes oder bei der Projektion überschritten wird.

Die größere Schärfentiefe kann ein zweidimensionales Papierbild oder Diapositiv meist nicht wiedergeben. Die verschiedenen Bildebenen, die man beim subjektiven Mikroskopieren nacheinander mit dem Feintrieb einstellen und auf diese Weise unterscheiden kann, scheinen, weil es im Mikrofoto keine „Perspektive“ mit Fluchtlinien gibt, im Foto alle in derselben Ebene zu liegen. Dem Bildbetrachter fehlt ja der Fokussierknopf des Mikroskops, er kann also die verschiedenen Schärfenebenen, die der Mikrofotograf gesehen hat, nicht nachvollziehen und steht beim Betrachten eines solchen Bildes oft vor einem Rätsel. Besser sind mehrere Aufnahmen mit unterschiedlichen Schärfenebenen desselben Objektes.

Für den Mikrofotografen wäre eine einfache Formel für die Ermittlung der Schärfentiefe am Mikroskop praktisch. Die gibt es. Viele sogar – nämlich von jedem Fachautor eine andere. Die Ergebnisse weichen manchmal um den Faktor 5 voneinander ab. Eine oder gar mehrere davon hier wiederzugeben und zu erörtern, ist deshalb nicht sinnvoll. Und einfach ist sowieso keine von ihnen.

### **Richtig beleuchten — genau hinschauen !**

Oftmals ist der angeblich als zu gering beklagte Kontrast nur die Folge der Ungeduld des Beobachters. Das Auge und das interpretierende Gehirn müssen auf geringen Kontrast regelrecht justiert werden. Deshalb nicht gleich den Blick abwenden oder die Aperturblende weiter schließen, wenn das Objekt nicht ganz mühelos sichtbar ist, erst noch einmal genauer, intensiver hinschauen, dann ein wenig mit dem Feintrieb der Scharfeinstellung spielen – plötzlich sieht man ... Eine gute Methode: Zunächst bei voller Blendenöffnung alles ausgiebig betrachten, was das Objekt sehen läßt und erst allmählich und stufenweise die Aperturblende bis auf 2/3 der Öffnung schließen und dabei jeweils die deutlicher werdenden oder neu erscheinenden Objektdetails genau anschauen.

### **Hinweise für Bastler**

Viele Aperturblendenhebel machen das Justieren der Blende zu einem reinen Mißvergnügen, sie sind viel zu kurz, es ist eine elende Fummelei, bis man das winzige Hebelchen überhaupt ertastet hat. Wenn es schnell gehen soll, weil man den Hinweisen eines Referenten bei einer Übung folgen und sehen will, was er gerade erläutert, unterbleibt die korrekte Blendeneinstellung nicht selten, weil man die Suche nach dem Hebel am fremden Kursmikroskop einfach aufgibt. Bastler können sich einen kurzen Hebel verlängern, das ist recht einfach. Er sollte auf jeden Fall über die Zentrierschrauben des Kondensors und andere Hebel deutlich hinausragen, denn die braucht man weniger oft, den Blendenhebel aber ständig! Deshalb ist es unverständlich, daß die Instrumentenhersteller diesen wichtigen Hebel oftmals nur wenige Millimeter über die Kondensorfassung hinausragen lassen, so als ob sie ihn zwischen Justierschrauben und anderen Vorsprüngen verstecken wollten. So hindert man Kursusteilnehmer daran, sich das richtige Mikroskopieren anzugewöhnen!

Ein Tipp von P. BERGMANN. Eine einfache Methode, um die Apertur des Kondensors zu messen. Senkrecht auf in der Mitte eines Objektträgers ein kleines Stückchen weißen Karton kleben, etwa 18x18 mm. Nur an den Ecken kleben, so daß es senkrecht steht. Zuerst betrachtet man wie gewohnt ein Präparat, dreht die Objektiv hoch und tauscht das Präparat, ohne die Kondensorstellung zu verändern, gegen den Objektträger mit der Pappe aus. Fährt man dann mit dem Kreuztisch die Pappscheibe immer dichter an den Strahlenaustritt heran, so zeichnet sich auf der weißen Pappe der Beleuchtungswinkel ab. Ist der Kondensor richtig eingestellt, dann muß der Lichtaustritt ein winziger Punkt sein und der Leuchtkegel sich scharf abbilden. Den Lichtaustritt mit einem spitzen Stift markieren, dann den Winkel einfach messen. Der Sinus vom - halben - Lichtaustrittswinkel ist die Apertur. Ist dieser Winkel z. B. 60 Grad, so ist die Apertur 0,86. Der Kondensor muß immer näher ans Objekt geführt werden, je höher die Objektivapertur ist, wenn der Durchmesser seiner Frontlinse nicht „unendlich“ groß sein soll. Mit diesem Verfahren kann man auch sehr schön die Arbeitsweise der Aperturblende sehen.

### Das Diatomeen-Testpräparat

Diatomeen weisen in ihrer Schalenkonstruktion Feinststrukturen auf, die auch von der heutigen fortgeschrittenen „Nano-Technik“ an Feinheit und Regelmäßigkeit noch nicht nachgeahmt werden können. Deshalb dienen die Schalen bestimmter Diatomeenarten als Testobjekte für das Auflösungsvermögen bzw. die Leistung von Mikroskopobjektiven. Aber das ist nur der eine Aspekt. Testdiatomeen können auch verwendet werden, um festzustellen, ob das gesamte Mikroskopsystem in sich stimmt, und zwar sowohl die Beleuchtung als auch die Kombination von Objektiv und Okular. Eine gute Angewohnheit ist, stets ein Diatomeen-Testpräparat heranzuziehen, sobald man das Mikroskop für eine eingehende Untersuchung in Betrieb nimmt und einstellt. Auf diese Weise können wir uns vergewissern, daß es kein undeutliches Bild liefert, wir alles wirklich sehen, was das Objekt hergibt und daß alles, was wir sehen, auch wirklich im Objekt vorhanden ist. Mit keinem anderen natürlichen oder von Menschenhand geschaffenen mikroskopischen Objekt können wir das so exakt.

Wir verwenden ein Diatomeen-Testpräparat, um die Wirkung der Aperturblende zu beobachten. Ein solches Präparat, z. B. von Johannes LIEDER, Ludwigsburg, ist eine sehr lohnende, preiswerte Anschaffung. Für den folgenden Versuch wurde die Diatomeentestplatte DT 5 (mit 5 Arten) von Lieder genommen. (Testplatten-Antiquitäten aus dem vorigen Jahrhundert verwende man lieber nicht. In der Regel sind Objektträger, Deckglas oder beide zu dick, so daß man die Köhlersche Beleuchtung nicht korrekt einstellen und mit der Ölimmersion nicht bis zum Objekt fokussieren kann.)

Fast jeder Mikroskopiker kennt *Pleurosigma angulatum* (Quek.) SMITH als Testobjekt. Das geht bis in das Jahr 1848 zurück, als der englische Mikroskopiker J. T. QUEKETT seine praktische Anleitung für den Gebrauch des Mikroskops und die dafür erforderliche Präparationstechnik herausgab und darin die *Pleurosigma angulatum* als *Navicula angulatum* vorstellte. Sie ist im Küstengebiet weit verbreitet. Angulatum nannte er sie, weil die ihm vorliegenden Exemplare vier Ecken hatten, zwei in der Mitte und zwei an den Polen, eine Erscheinung, die bei *Pleurosigma angulatum* nicht selten ist (angulus, lat. = Ecke, Winkel). Quekett erkannte sehr schnell, daß sich die feine Struktur der Art ausgezeichnet zur Qualitätsprüfung von Mikroskopoptik eignet, und von da an wurden Präparate mit *Pleurosigma angulatum* zum beliebtesten Testobjekt. Mikroskophersteller, die etwas auf sich hielten, gaben ihren Instrumenten ein *Pleurosigma*-Präparat bei. In England, wo im 19. Jahrhundert ein Mikroskop zur Ausstattung eines gutbürgerlichen Haushaltes zählte – es war so etwas ähnliches wie der Fernseher heute – wurden mit solchen Testpräparaten große Umsätze erzielt. (KRAMMER 1986)

*Pleurosigma angulatum* besitzt innerhalb einer Strecke von 10 µm 18 bis 22 Areolen, das sind kammerförmige Wanddurchbrüche mit rundem bis eckigem Querschnitt, die auf der Außen- oder Innenseite durch eine Siebmembran verschlossen sind. Bei *Pleurosigma angulatum* sind sie völlig regelmäßig in Quincunx (auf Lücke wie die 5 Punkte eines Würfels) angeordnet. Die Gitterkonstante schwankt also zwischen 0,45 und 0,55 µm. Dadurch werden drei Liniensysteme sichtbar, ein transapikales (quer verlaufendes) und zwei dazu im Winkel von etwa 60 Grad stehende. Bei guter Beleuchtung muß ein Trockensystem mit n. A. 0,75 diese Struktur auch mit gerader, zentraler Beleuchtung sauber auflösen, wobei die Areolen je nach Fokussierung entweder kreisrund oder aber sechseckig erscheinen. Alle drei Streifensysteme müssen gleichzeitig zu sehen sein. Weil die Schalenoberfläche gewölbt ist, sind die Areolen nur zonenweise sichtbar. An Stellen stärkerer Wölbung in der Nähe des Schalenrandes wird die Schale vom geraden Durchlicht schräg getroffen, so daß hier die Strukturen infolge der schiefen Beleuchtung besser sichtbar sind. Überhaupt ist *Pleurosigma angulatum* ganz allgemein ein sehr geeignetes Objekt für schiefe Beleuchtung.

Ein System 40:1, n. A. 0,75 oder ein 60:1, n. A. 0,85 lösen die Struktur gut auf. Rein rechnerisch bräuhete man nur eine num. Apertur von 0,6, aber in Wirklichkeit bieten selbst manche Objektive mit n. A. 0,65 die notwendige Auflösung nicht. Wir wollen trotzdem ein normales achromatisches Objektiv 40:1, n. A. 0,65 für unseren Versuch verwenden, denn eines mit n. A. 0,75 wird nicht jeder Hobbymikroskopiker haben. Das sind meist teure 40er Fluoritobjektive. Voraussetzung ist allerdings, daß die Beleuchtung streng nach KÖHLERS Vorschrift eingestellt wird und daß die gesamte Beleuchtungsanordnung, nämlich die Lage der Glühwendel, der Kollektor, der Umlenkspiegel am oder im Mikroskopfuß, der Kondensor mit der Irisblende gut zentriert und justiert sind! Auch die Kombination von Objektiv und Okular muß optisch verträglich sein und zur Tubuslänge des Stativs passen. Die Frontlinse des Objektivs muß absolut sauber sein. Sonst kann es passieren, daß wir die Streifensysteme nicht sehen. Außerdem ist eine bestimmte Helligkeit erforderlich, die weder über- noch unterschritten werden darf. Das muß man ausprobieren.

Wir schwenken den Vierziger-Achromaten mit num. Apertur 0,65 oder höher ein und öffnen die Aperturblende am Kondensor bis zum Anschlag. Bei dieser Einstellung betrachten wir zunächst die *Navicula lyra*. Bei ihr erkennen wir gerade noch die Areolen, die perlschnurartig aneinandergereiht sind, aber bei

geringerer Auflösung wie Querstreifen aussehen. Bei *Stauroneis phoenicenteron* haben wir noch größere Mühe mit den Areolen, und *Pleurosigma angulatum* übersehen wir bei dieser Einstellung der Beleuchtung fast ganz, so unscheinbar blaß und kontrastlos ist sie.

Jetzt schließen wir die Leuchtfeldblende so weit, daß ihre Ränder gut im Bildfeld zu sehen sind. Auf diese Weise können wir bei den nun folgenden Einstellungen jederzeit die richtige Kondensorhöhe kontrollieren. Wechseln die Blendenränder zum Beispiel nach rotorange, müssen wir die Kondensorhöhe korrigieren. Dann schließen wir die Aperturblende, bis sie geringfügig kleiner ist als die volle Objektivapertur (bei herausgezogenem Okular kontrollieren). Liefert das Objektiv von Haus aus ein kontrastreiches Bild, können wir jetzt eventuell schon die Felderung auf der Schalenoberfläche von *Pleurosigma angulatum* sehen. In der Regel ist das aber bei einem achromatischen Objektiv erst der Fall, wenn wir die Aperturblende um ein Viertel schließen (Okular herausnehmen, kontrollieren). Der Feintrieb muß äußerst behutsam vor und zurück gedreht werden, am besten in so kleinen Schritten, daß man meinen könnte, man habe ihn überhaupt noch nicht bewegt. Dabei nicht vergessen, die Lampenhelligkeit am Trafo zu variieren; sonst treffen wir vielleicht die richtige Schärfenebene, sehen die Areolen aber dennoch nicht, weil die Lampe zu dunkel oder zu hell ist.

Sobald wir das sehr zarte, kaum sichtbare Areolenmuster gefunden haben, bewegen wir den Objektträger in alle Richtungen – dabei stets nachfokussieren. Dann suchen wir uns eine gut erkennbare Stelle und schließen die Aperturblende weiter. Schon nach kurzer Bewegung des Blendenhebels verschwindet plötzlich das Areolenmuster vollständig. Auch wenn wir wegen der gleichzeitigen Abdunkelung des Bildes den Trafo etwas weiter aufdrehen, sehen wir die Schalenstruktur nicht mehr. Wir können fokussieren, wie wir wollen – sie ist einfach nicht mehr da. Die verringerte Beleuchtungsapertur des Kondensors bewirkt, daß das Objektiv das Areolenmuster nicht mehr auflösen kann. Wir können uns nach diesem Versuch gut vorstellen, was mit den Feinstrukturen in einem gefärbten oder ungefärbten Schnittpräparat passiert, wenn wir die Blende zu weit schließen.

Wenn wir das Areolenmuster im geraden Hellfeld überhaupt nicht gefunden haben, was bei einer numerischen Apertur von 0,65 vorkommen kann, so finden wir es sicherlich im Schräglicht.

Deshalb nun noch Hinweise zur **schiefen Beleuchtung**. Aperturblende ganz öffnen, mindestens bis zur Größe der Objektivhinterlinse. Befindet sich ein breiterer ringförmiger Filterhalter unterhalb des Kondensors, so schwenken wir ihn so weit heraus, daß sein Rand etwas in den Strahlengang ragt. Es ergibt sich ein Schieflichteffekt. Wenn das mit dem Filterhalter nicht funktioniert, muß die schiefe Beleuchtung auf andere Weise hergestellt werden, notfalls hält man die Zeigefingerspitze zwischen Leuchtfeldblende und Kondensor. Wir erkennen den Effekt sofort: Die Areolenstruktur wird viel deutlicher als beim senkrechten Durchlicht. Je weiter wir den Blendenring einschwenken bzw. eine andere Vorrichtung für Schräglichteinstellung in den Strahlengang bringen, um so schräger trifft das Licht die Schalenoberfläche, um so deutlicher werden die Areolen wiedergegeben. Diese Steigerung der Auflösung ist aber einseitig, je nach der Richtung des Lichteinfalls sehen wir mit dem 40er bei n. A. 0,65 meist nur jeweils zwei der drei Areolenstreifensysteme.

### Andere Präparate

Jetzt nehmen wir ein moderat gefärbtes botanisches Schnittpräparat und spielen an ihm durch, was wir soeben mit *Pleurosigma angulatum* gemacht haben. Auch wenn uns die größere Farbsättigung und die brillanten Farben mitunter vorgaukeln wollen, daß das Bild beim Schließen der Aperturblende nicht schlechter wird: Wir wissen es jetzt besser. Bei einem gut gefärbten Präparat mit deutlichem Farbkontrast gibt es keinen Grund, die Aperturblende zu verringern. Ein Viertel ist meistens schon zu weit, eine „winzige Idee“ meist ausreichend. Diesen Punkt können wir bei gefärbten und ungefärbten Präparaten recht gut erkennen. Beim Schließen der Blende kommt nämlich ein Punkt, bei dem das Präparat scheinbar sprunghaft kontrastreicher und dunkler wird. Die optimale Einstellung haben wir in der Regel dann, wenn das Bild gerade beginnt, kräftiger zu werden. Dann sollte man zunächst nicht weiter abblenden.

Wir betrachten auch weitere Präparate in der geschilderten Weise, auch ungefärbte, z. B. Wasserflöhe und Algen. So lernen wir bald, wie ein Objekt mit optimalem Kontrast und optimaler Beleuchtung aussieht. Dann brauchen wir nur in kritischen Fällen das Okular zur Kontrolle herauszunehmen und in den Tubus zu schauen.

Es ist wichtig, dieses Gespür für die gerade ausreichende Abblendung zu entwickeln, damit man nicht immer zur Kontrolle das Okular aus dem Tubus ziehen muß. Durch das Schaben der Okularfassung am scharfen Tubusrand entsteht nämlich immer ein gewisser Abrieb, und die winzigen Partikel aus Metall oder Kunststoff fallen dann den Tubus hinab und auf die Umlenkprismen oder gar ins Objektiv hinein. Im

Lauf der Jahre entsteht auf diese Weise eine regelrechte Staubschicht, die das Bild verdunkelt, die Auflösung und den Kontrast herabsetzt.

Ein Tipp am Rande: Bei herausgenommenem Okular sollten wir vermeiden, mit den Fingern durchs Haar zu fahren, die Augen zu reiben oder andere Manipulationen am Kopf auszuführen, bei denen stets winzige Bruchstücke von Haaren, Augenbrauen, Schuppen oder Hautfetzchen freigesetzt werden. Die „Tücke des Objekts“ bewirkt nämlich, daß sie in den Tubus und von dort auf die Hinterlinse im Objektiv fallen oder auf eine unzugängliche Stelle eines Umlenkprismas. Sie sind dann im Bild sichtbar. Ihre Entfernung kann schwierig und langwierig sein, sogar mißlingen und einen teuren Service erfordern.

#### 4.1.7 Schiefe Beleuchtung und Dunkelfeld mit dem Phasenkontrastkondensor



Noch immer Baustelle

##### **Schiefe Beleuchtung**

kann man sehr einfach mit einem Ph- oder DIK-Revolverkondensor erzeugen. Man stellt Hellfeldbeleuchtung ein (meist Buchstabe *J* an der Revolverscheibe) und dreht die Scheibe aus der Raststellung etwas nach links oder rechts heraus. Der Effekt ist sehr ähnlich dem mit der schwarzen Halbmondscheibe, die Dr. Martin Kreuz im Mikrokosmos (1995, 197-199) beschrieben hat. (Siehe auch  $\mu$  1/ 1996, Seite 15.) Er kommt auch auf die gleiche Weise zustande, das Ausschwenken aus der Hellfeldstellung bringt das Blendenbild teilweise in den Strahlengang und dunkelt einseitig ab. Dreht man den Kondensor noch weiter, so erhält man eine einseitige Dunkelfeldbeleuchtung. Schiefe Beleuchtung auf diese Weise oder mit einer Halbmondmattscheibe nach Kreuz ist am effektivsten bei Kondensoren mit einer Apertur von 1,2 oder höher, weil bei ihnen der Lichtkegel wegen der dicht unter dem Präparat liegenden kurzbrennweitigen Kondensorfondlinse das Präparat sehr schräg beleuchtet. Bei Kondensoren mit geringerer Apertur ist die Wirkung nicht so ausgeprägt, oft sogar enttäuschend.

Manche Filterhalter unter den Kondensoren haben so breite Fassungen, daß sich schon eine recht brauchbare Schiefe Beleuchtung ergibt, wenn man nur diese Fassung in den Strahlengang schwenkt. Bei meinem Mikroskop ist die Filterhalterfassung so breit, daß ich mit ihr bei schwächeren Objektiven sogar ein brauchbares Dunkelfeld erzeugen kann

#### 4.1.8 Über die Verwendung von Filtern



Baustelle

#### 4.1.9 Vom Umgang mit dem Immersionsobjektiv und dem Immersionsöl

In der älteren Literatur nannte man Immersionsobjektive auch Eintauchobjektive, Tauch- oder Stipplinsen.

Bei einem Ölimmersionsobjektiv muß man Immersionsöl zwischen Objektivfrontlinse und Deckglas bringen, sonst erhält man kein scharfes Bild. Und auch zwischen Objektträger und Kondensorlinse gehört Immersionsöl, weil sonst die Apertur und damit das Auflösungsvermögen des Objektivs nicht ausgenutzt werden kann und weil der Strahlengang des Kondensors so berechnet ist! Ohne Immersionsmittel hat ein Immersionskondensor keine höhere Apertur als 0,90 bis 0,95. Wenigstens mit Wasser sollte man ihn immern, aber bitte mit destilliertem bzw. sauber entsalztem. Ein eingetrockneter Wassertropfen auf dem Objektträger zeigt sehr deutlich, welche dicke Kalkschicht beim Eintrocknen zurückbleibt und wie schwierig sie zu entfernen ist. Das sollte man keiner Objektiv- oder Kondensorlinse zumuten.

Zum Umgang mit dem Immersionsöfläschchen. Die Tülle des Fläschchens flach bis leicht schräg dicht über die Kondensorlinse oder das Deckglas halten und geduldig warten, bis ein Tropfen von selbst heraus fließt. Nicht auf das Plastikfläschchen drücken, damit es schneller geht, weil dann fast immer Luftblasen dabei sind. Selbstverständlich darf man es auch niemals schütteln.

Da Öl dicker und zäher als Wasser ist, zieht es bei einem Wasserpräparat das Deckglas auf der Wasserschicht mit sich, wenn man den Objektträger bewegt und die Wasserschicht dick genug ist. Man könnte das Deckglas festlegen, z. B. mit doppelseitig klebendem Tesafilmstückchen an den Ecken. Doch lohnt sich der Aufwand bei lebenden Organismen wegen der Betrachtung mit einem Ölimmersionsobjektiv kaum. Denn mit der Ölimmersion bzw. mit so hohen Vergrößerungen betrachtet man lebende Organismen selten, es sei denn, man hätte sie vorher betäubt oder sonstwie festgelegt. Man kann ein dünnflüssigeres Immersionsöl nehmen, dann läßt sich das Deckglas wegen der geringeren Adhäsion nicht so leicht verschieben. Aber das hat andere Nachteile. Erstens fließt es leicht vom Deckglas. Zweitens läßt es sich leicht in Kapillaren einsaugen, z. B. zwischen Objektivfrontlinse und -fassung. Das kann zu Schäden im Objektivinnern führen, und leider ist das keineswegs nur Theorie, man sieht solche ruinierten Objektive gar nicht so selten. Darüber ausführlich in Kapitel 4.2.3 *Linsen putzen*.

Grundsätzlich verwende man nur ein Immersionsöl, das vom Objektivhersteller empfohlen oder - noch besser - angeboten wird. Notfalls frage man bei ihm nach - schriftlich! Nicht alle Immersionsöle vertragen sich mit dem Dichtungskitt zwischen Frontlinse und Fassung gleich gut. Verwenden Sie deshalb unter keinen Umständen *Anisol* oder *Methylbenzoat*, die früher gelegentlich empfohlen wurden. Wenn das vom Objektivhersteller angebotene Öl teurer ist als ein „No-name“-Öl, so bedenken Sie, daß unter Amateurbedingungen so ein Fläschchen Immersionsöl meist für ein halbes Mikroskopikerleben reicht.

Alle Immersionsöle lösen mehr oder weniger leicht die meisten der harzähnlichen Einschlußmittel an. Sind solche Dauerpräparate nicht mit einem immersionsölfesten Deckglaslack umrandet, muß man Vorsicht walten lassen, damit das Öl nicht mit dem Harz unter dem Deckglas oder dem seitlich hervorgequollenen in Berührung kommt. Es löst sonst das Harz an, vermischt sich mit ihm, und die Mischung wird nicht nur auf dem Deckglas, sondern auch auf der Frontlinse verschmiert, wo sie anschließend verharzt. Nicht alle Deckglaslacke sind immersionsölfest. Manche mischen sich mit dem Öl zu einer schmierigen, schwärzlichen Brühe, die sich auf die Frontlinse legt.

Manche Immersionsobjektive haben eine einschiebbare Fassung, die durch eine kleine Drehung arretiert werden kann, so daß sie eingeschoben bleibt, bis man sie wieder durch einen kleinen Dreh löst. Das hat folgenden Sinn. Man wechselt bei der Beobachtung öfter zwischen einem 100er Immersions- und einem 40er Trockenobjektiv. Wenn Immersionsöl am 100er hängt, kann es passieren, daß es beim Durchschlagen des Revolvers auch auf ein noch sauberes Präparat gerät. Wenn man dann ein Trockenobjektiv versehentlich in dieses Öl bringt, kann es durch Kapillarwirkung zwischen Fassungsrand und Linse nach oben gesogen werden. Trockenobjektive haben nämlich keine so gute Abdichtung wie Immersionsobjektive. Außerdem besteht die Gefahr, daß man nicht merkt, daß das Trockenobjektiv beim Durchschlagen des Revolvers Öl abbekommen hat, man wischt es nicht ab, es verharzt. Eventuell bildet sich ein hartes Klümpchen an der Frontlinse. Beim Durchschlagen oder Einschwenken kann dann das Objektiv mit dem harten Harzklümpchen so stark auf das Deckglas des Präparats aufschlagen, daß es dieses zertrümmert oder die Frontlinse aus der Fassung drückt. Die Reparatur ist teuer. Unter den Trockenobjektiven sind 80er, 60er und 40er wegen ihrer Baulänge und ihrer kurzen Arbeitsabstände am meisten der Gefahr ausgesetzt, ins Öl gestippt zu werden. Damit das nicht passiert, wenn man unachtsam den Revolver in die falsche Richtung dreht, ordnen manche Mikroskopiker die Objektive am Revolver so an, daß sich neben dem Immersionsobjektiv immer eines von kürzerer Baulänge befindet, das 40er aber ihm diametral gegenüber sitzt. Den Schlamassel mit dem Trockenobjektiv kann man nun auf eine einfache Weise verhindern. Man schiebt das Ölimmersionsobjektiv, an dem noch ein Öltropfen hängt, einfach in seiner Fassung

hoch und arretiert es. Es befindet sich dann so weit oberhalb des Objekts, daß es kein Öl abstreifen kann.

Die einschiebbare Fassung sollte man nicht dazu benützen, das Objektiv in den Öltropfen abzusenken. Das würde nämlich in der Regel Luftblasen verursachen. Stark vergrößernde Immersionsobjektive haben eine Frontlinse mit einer mehr oder weniger konkaven Außenfläche, so daß sich beim Absenken eine Luftblase gar nicht vermeiden läßt. Sie ist wegen der konkaven Außenfläche eingeklemmt und kann nicht seitlich entweichen, geistert dann irgendwann als grauer Schatten durch das Bildfeld. Besser verfährt man so:

1. Objekt mit einem 25er oder 40er Objektiv scharf stellen.
2. Immersionsobjektiv einschwenken, evtl. Schärfe nachregulieren, gewünschten Ausschnitt suchen.
3. Objektiv leicht ausschwenken.
4. Immersionsöl auftragen.
5. Objektiv wieder einschwenken und einrasten.

Mit einem weichen Leinenlappen sollte man auch ein modernes, nicht verharzendes Öl mindestens (!) einmal täglich sanft abwischen. Linsenputzpapier, das auch von Mikroskopherstellern geliefert wird, ist nicht empfehlenswert. Angeblich ist es sehr weich und saugfähig. Das ist ein Märchen. Alle Papiere, und Linsenputzpapiere im besonderen, schmirgeln, was man mitunter erst nach Jahren auf der Frontlinse feststellt, aber dann ist es zu spät.

Einen gerade für hochaperturige Objektive wichtigen Vorteil hat die homogene Ölimmersion: Da es kaum einen Brechzahlunterschied zwischen Öl und Linse gibt, darf das Deckglas von der vorgeschriebenen Dicke (0,17 mm) abweichen. Denn da die Ölschicht „elastisch“ ist, ist die Gesamtdicke von Deckglas plus der Ölschicht über dem scharf eingestellten Objekt immer gleich und „vorschriftsmäßig“.

Immersionsobjektive geringerer Eigenvergrößerung als 100:1, zwischen 25:1 und 63:1 sind besonders für die Mikrofotografie wertvoll, wenn man ein Fertigpräparat fotografieren muß, aber die Dicke des verwendeten Deckglases nicht kennt.

Glyzerinimmersionen sind Sonderzwecken vorbehalten, z. B. für Beobachtungen im UV-Licht.

## 4.2 Das Mikroskop richtig pflegen

Besonders Mikroskopiker mit Instrumenten, deren Modelle und Zubehör nicht mehr erhältlich sind, sollten vor allem die optischen Teile Ihres Instruments sorgfältig pflegen. Denn mit den Jahren wird das Gebrauchtangebot spärlicher, und von den Herstellern kann man für viele Objektive und Okulare schon jetzt noch nicht einmal mehr eine Ersatzlinse bekommen. Etwas Pfléglichkeit im Umgang mit dem Mikroskop ist also angebracht.

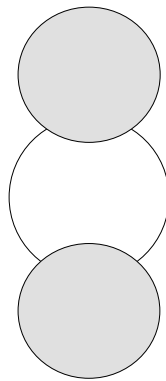
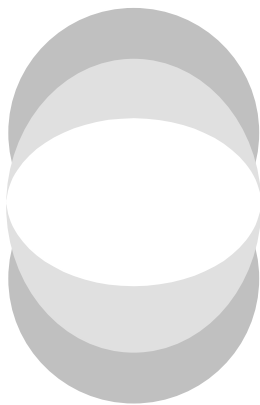
### 4.2.1 Staubschutz

Ein großer Feind der mikroskopischen Feinwerktechnik und Optik ist der Staub. Er besteht ja zum größten Teil aus Sand-, also mehr oder weniger Quarzteilchen, die ausgezeichnet „schmirgeln“, auf den Glasflächen ebenso wie auf den Gleitbahnen und in Getrieben. Die meisten Empfehlungen lauten etwa so: Wenn das Mikroskop für längere Zeit nicht benützt werden soll, ist es abzudecken. Die Mikroskophersteller liefern in der Regel eine Staubschutzhülle aus Kunststoff mit.

Sobald der Mikroskopiker seinen Platz vor dem Mikroskop verläßt, und sei es auch nur für eine Viertelstunde: Haube drüber! Am besten ist eine stabile, steife Haube aus Polystyrol, Plexiglas oder Fensterglas, damit man auch sie selbst sauber halten kann. Bei den Stoffhauben besteht immer die Gefahr, daß man den Staub, der außen oder im Gewebe sitzt, beim Aufsetzen oder Abnehmen direkt in das Instrument schüttet. Die Haube muß regelmäßig feucht abgewischt werden, aber nicht zart, sondern kräftig!

### 4.2.2 Suche und Behebung von Fehlern im Strahlengang

#### 4.2.2.1 Ungleichmäßige Ausleuchtung



Doppelkonturen der Leuchtfeldblende sind subjektiv oft kaum wahrnehmbar, im Foto gelegentlich um so deutlicher, je kontrastreicher der Film zeichnet. Die Prinzipskizze stellt solche Doppelkonturen übertrieben dar, weil sie sonst beim Druck auf Papier zulaufen würden. In das helle Gesichtsfeld ragen mondsichelförmige Doppel des Leuchtfeldes. Die Ursache ist ein Mikroskopspiegel, der nicht oberflächenversilbert ist, sondern die Silberschicht auf der Unterseite des Spiegelglases trägt. Die Nebenbilder des Hellfeldes entstehen als schwache Reflexbilder auf der unbeschichteten Oberseite. Oberflächenversilberte Spiegel, die das Übel beheben, sind von Unternehmen für feinoptische Bauteile zu beziehen (z. B. Spindler & Hoyer (Linos Photonics GmbH), Göttingen; Melles Griot, Bensheim).

Man kann einen solchen Spiegel mit Doppelklebeband auf dem originalen Planspiegel befestigen. Falls ein fest eingebauter Spiegel ausgetauscht werden soll, muß der neue die gleiche (kongruente) Form und Dicke haben.

Unbeabsichtigte schiefe Beleuchtung entsteht meist durch einen dezentrierten Kondensator, eine nicht ganz am Anschlag stehende Klapp- oder Hilfslinse des Kondensators und häufig auch durch eine nicht einwandfrei zentrierte Lampe oder Glühbirne. Auch ein Umlenkspiegel bzw. das ganze Spiegelgehäuse im Mikroskopfuß kann verkantet sein. Das kommt vor, wenn die Befestigungslöcher für die Schrauben sogenannte Lang- oder Schlitzlöcher sind. Sie sollen die Zentrierung ermöglichen, verursachen aber, wenn die Schrauben nicht fest angezogen sind, natürlich auch das Gegenteil.

Ungleichmäßigkeit der Ausleuchtung ist meist daran erkennbar, daß die Ränder der Leuchtfeldblende an gegenüberliegenden Seiten unterschiedliche Einfärbung haben, z. B. oben violett, unten gelbrot. Oder man bemerkt beim Fokussieren, daß die Objekte seitlich auszuweichen scheinen, typisch für unbeabsichtigte schiefe Beleuchtung. Man muß sich in solchen Fällen vergewissern, daß alle schwenkbaren Linsen an ihrem Anschlag stehen und Filter- oder andere Glasscheiben nicht verkantet aufliegen, bevor man an die Justage der Lampe, des Kollektors, des Kondensators, der Hilfslinse usw. geht. Mancher ist auch schon

von einem nicht waagrecht auf dem Objektisch liegenden Präparat genarrt worden oder von einem Objektiv, das nicht bis zum Anschlag in den Revolver geschraubt war und locker im Gewinde hing.

Eine besonders unangenehme schiefe Beleuchtung entsteht, wenn man von Phasenkontrast oder Differentialinterferenzkontrast auf Hellfeld wechselt und nach dem DIK nicht die Hellfeldposition am Revolverkondensator einrastet, sondern das untere Wollastonprisma im Strahlengang beläßt - und eventuell gar noch das obere. Auf jeden Fall sollte man, sobald man die Hellfeldposition eingeschaltet hat, den Kondensator neu zentrieren.

Helligkeitsunterschiede sehen wir besonders deutlich, wenn wir das Objekt scharf einstellen und die Lampenhelligkeit mit dem Trafo oder durch Graufilter stark mindern. F. K. MÖLLRING (ehem. Zeiss Mikrolabor) meint (1982) dazu: Bei solchen Korrekturen sollte man nicht allzu streng an der Theorie haften, denn entscheidend ist das gute Ergebnis. Wir sollten nicht vergessen, daß „jenseits des Präparats“, d. h. im Beleuchtungsteil des Mikroskops optisch meistens viel weniger Aufwand getrieben werden kann und daher, bei theoretisch richtiger Einstellung, der Beleuchtungsapparat manchmal überfordert ist. In diesen Fällen ist die Methode des „Versuch und Irrtum“ gerechtfertigt.

Bei stärkerer Vergrößerung ermöglicht nur ein achromatisch-aplanatischer Kondensator die exakte Begrenzung kleiner Objektfelder ohne Farbverschiebung. Wird ein chromatisch nicht korrigierter Kondensator nur wenige Zehntel Millimeter zu hoch eingestellt, so verschiebt sich die Farbe des mikroskopischen Bildes nach blau, bei etwas zu tiefer Einstellung deutlich nach rot. Bei der subjektiven Mikroskopie werden diese Farbabweichungen oft gar nicht bewußt wahrgenommen. Sie sind gut zu sehen, wenn man die Leuchtfeldblende so weit schließt, daß ihre Ränder im Bildfeld zu sehen sind. Dann den Kondensator mal etwas anheben, mal senken: So macht man die Farbänderungen sichtbar. Steht kein achromatisch-aplanatischer Kondensator zur Verfügung, so bringt man den aplanatischen Kondensator auf eine mittlere Höhe, wobei weder ein roter noch ein blauer Farbsaum am Rande der im Objektfeld sichtbaren Leuchtfeldblende entstehen darf. Auch wird die Leuchtfeldblende danach etwas weiter geöffnet, als es nach dem Köhlerschen Prinzip vorgeschrieben ist.

Zu guter Letzt sei auch noch die Mattscheibe erwähnt. An falscher Stelle im Strahlengang kann sie zu einem zerrissenen oder „marmorierten“ Bild führen.

#### 4.2.2.2 Der Hot Spot

So nennen die Engländer jenen berühmt-berüchtigten hellen Fleck, der sich nicht selten meist in der Mitte des Sehfeldes zeigt. Je nach Ausprägung kann er bei der Beobachtung gewaltig stören oder die saubere Mikrofotografie mit dem befallenen Instrument unmöglich machen. Der Hot Spot ist eine besondere Art der ungleichmäßigen Ausleuchtung im Strahlengang. Ein anschauliches Bildbeispiel zu bringen ist überflüssig. Mikroskopiker, die keinen Hot Spot kennen, dürfen sich glücklich schätzen, wer ihn aber hat, ärgert sich sowieso täglich darüber.

##### Die Ursachen

Die Zeiten, in denen ein Mikroskop-*Tubus* noch ein glattes, innen geschwärztes Messingrohr war, sind lange vorbei. Mikrofotografen arbeiten heute mit einem Binokularen Fototubus. Er sitzt auf dem Tragarm des Mikroskops, oberhalb des Objektivrevolvers. In seiner Lichteintrittsöffnung des Tubus ist meist eine Linse oder eine Glasplatte zum Staubschutz. Darüber befindet sich ein System von drei Prismen für die Teilung der Lichtstrahlen in die beiden Okulare und in den Fototubus. Die Prismen haben spiegelnde Oberflächen, gläserne Kanten und sind hier und da mit Metallrähmchen eingefasst, außerdem sind sie zum Einstellen des Augenabstands beweglich. Oberhalb der Prismen, am Eingang zum Fototubus befindet sich eine Linse, bei den anderen Strahlengängen eine planparallele Platte. Auf dem Weg nach oben folgt bald das Fotookular, eventuell auch eine Großfeldlinse. Alle Linsen haben Metallfassungen. Kein Wunder, daß irgendwo in diesem komplizierten System von Linsen, Gläsern, Prismen, Kanten, Fassungen und spiegelnden Flächen Reflexe entstehen und Licht an Stellen werfen, wohin sie nicht gehören.

Ein Hot Spot, eine zentrale, mehr oder weniger scharf umgrenzte Bildaufhellung, kommt daher, daß an dieser Stelle mehr Licht in die Bildebene gelangt als in der übrigen Bildfläche. Den Ursprung dieses „Zusatzlichts“ gilt es herauszufinden. Im Falle der Mikrofotografie ist das z. B. dadurch möglich, daß man die leere Kamera öffnet, mit einem Auge möglichst nah an die Bildebene (= spätere Filmebene) herangeht und in Richtung Austrittspupille blickt. Von außerhalb der Bildmitte in die Kamertiefe blickend, wird man zunächst lediglich den hellen Fleck der Austrittspupille sehen, aber sobald man sich – es ist eine Art von Abscannen der Bildebene – der Bildmitte nähert, wird vielleicht irgendwo in der Umgebung der Austrittspupille ein Reflex auftauchen, vielleicht ein Fassungs- oder Tubusinnenreflex, der meistens ringförmig,



nur von der Bildmitte aus betrachtet ein vollständiger Ring ist, also besonders viel Zusatzlicht liefert. Doch schon wenig außerhalb dieser Bildmitte erscheint er nur als Teil-Ring, liefert also bereits viel weniger Zusatzlicht und wird deshalb kaum noch Ärger als Hot Spot machen.

**Sorgfältiges Köhlern** wird solche Fehler immer beseitigen können. Übrigens führt das vielfach vorgeschlagene Auspinseln von Tuben mit Mattlack oder Auskleiden mit selbstklebendem Samtpapier nur dann zu auffälligen Verbesserungen, wenn die Strahlenführung noch *nicht* optimal ist, wie im folgenden beschrieben.

Nicht weniger oft handelt es sich um Reflexbilder der zentrischen Aperturblende, die durch irgendeine der genannten Glas-Luft-Flächen hervorgerufen und von einer Linse in die Bildmitte projiziert werden. Sie sind viel schwieriger sind zu beseitigen. Auf einer Mattscheibe, die man gegebenenfalls in die Filmebene legt oder auf einem Monitorbild bei einer Digitalkamera läßt sich prüfen, ob der Hot Spot durch Reflexion der Aperturblende entsteht: Das Verstellen der Blende muß auf Monitor oder Mattscheibe beobachtbar sein.

Falls bei Reflexbildern der Aperturblende auch sorgfältiges Köhlern keine Verbesserung bringt, muß eine genaue Untersuchung einer zugänglichen Aperturblende Aufklärung bringen, z. B. der Austrittspupille in der Tiefe der Kamera, von der Bildebene aus (siehe oben). Dabei ergibt sich aber ein so kleiner Betrachtungsabstand, daß ein Normalsichtiger doch Akkommodationsschwierigkeiten haben dürfte. Abhilfe schafft dann entweder eine schwache Lupe oder das Hilfsmittel, das ja speziell zur Inspektion der Pupille geschaffen wurde, nämlich das (fokussierbare) Hilfsmikroskop zum Zentrieren der Phasenringe. Anstatt es in einen Tubus zu stecken, kann man es z. B. auf einer Glasplatte abstützen, die das Bildfenster der Kamera überdeckt und, unter Umständen leicht gekippt, auf die AP richten. Wenn man kein Ph-Hilfsmikroskop hat, aber trotzdem jederzeit die Aperturbene kontrollieren möchte, tut den (fast) gleichen Dienst eine starke Lupe (ca. 16x), die man parallel zur optischen Achse auf den Lichtfleck der Austrittspupille über dem Beobachtungsookular richtet – das kann etwas mühsam sein, aber es funktioniert. Bei einem schwachen Okular geht es besser, weil dann die Austrittspupille größer ist.

Jetzt hat man beste Voraussetzungen, die Ursache eines Hot Spots „der zweiten Art“ zu finden - sie kann nur „Zusatzlicht“ (s. oben!) innerhalb der Fläche der Austrittspupille sein, gewöhnlich in Form eines Reflexes, der eventuell bereits durch geringe Abstandsänderungen von Glas/Luft-Flächen zum Verschwinden gebracht werden kann. „Pröbeln“ erscheint ist unerlässlich, und es kann mühsam werden, bis sich ein Erfolg zeigt. Bei der Suche nach der irregulären Lichtquelle oder dem ungehörigen Reflex schadet auch Phantasie nicht, selbst an Unwahrscheinliches oder Banales ist zu denken, z. B. daß die unbedeckten Okulare des Einstellutubus zufällig genau auf die Deckenleuchte des Labors „zielen“ könnten.

### Die Abhilfen

Oft genügt es, solche Linsenfassungen, die in der Höhe justierbar sind, um kleine Beträge zu verschieben, z. B. um den Abstand zwischen dem Fotookular und einem Kameraobjektiv variieren. Dabei findet man oft eine Einstellung, bei welcher der Hot Spot nicht in der Einstellebene liegt und einfach für immer verschwindet. Falls das auf diese Weise nicht gelingt, muß man zu regelrechten Hilfsmitteln greifen.

Werner NACHTIGALL hat Erfolg gehabt, indem er alle metallischen Innenflächen im Bereich des mikroskopischen Strahlengangs, also alle Tuben, selbst die Ränder von Objektiv- und Okularfassungen etc. mit handelsüblichem schwarzem Samtpapier ausklebte. Er beseitigt also nicht die Ursache störender Reflexionen, sondern unterdrückt deren Auswirkungen. Ebenfalls zur Symptombekämpfung verwenden Gerhard GÖKE gekreuzte Schlierenfilter, Ulrich POGGENSEE zusätzliche Lochblenden an bestimmten Stellen des Strahlengangs nach einem Vorschlag von Michael ZÖLFFEL und Jan Kros hat seinen Tubus innen mit schwarzer Farbe mattiert. Doch empfiehlt sich, nicht allzu früh auf solche Hilfsmittel überzugehen, weil sie nicht die Ursache des Hot Spots beseitigen. Der Verdacht liegt nämlich nahe, daß reflexbildende Unstimmigkeiten im Strahlengang auch Ursache noch weiterer Unannehmlichkeiten sein oder werden können.

### Literaturhinweis

Henkel, K.: Hot Spot – ein heißes Thema. In: Mikrokosmos 91 (2002) 159-162. Dort auch folgende Lit.:

Göke, G.: Kontrastmodulation und Superresolution mit Ringblenden. In: Mikrokosmos 80 (1991) 356-360

Göke, G.: Neues vom Hot Spot. In: Hagener Mikroheft Nr. 1, Sept. 1993.

Nachtigall, W.: Eine simple, verblüffend effiziente Methode zur Beseitigung von „Hot Spots“. In Hagener Mikroheft Nr. 5, März 1994.

Poggensee, U.: Der Hot Spot. In: Mitteilung 1999 des Berliner Betrieb für zentrale gesundheitliche Aufgaben (BBGes).

Van Duijn, C.: Ringförmige Beleuchtungssysteme in der Mikroskopie. Vortragsmanuskript. Arbeitsmappe der 3. Internationalen Mikroskopie-Tage in Hagen 1990.

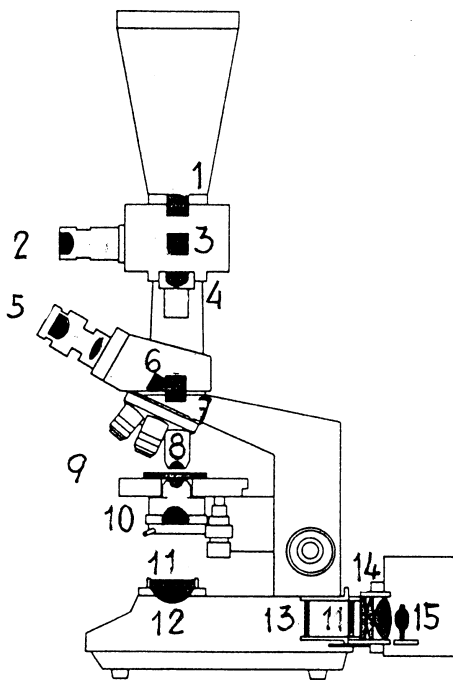
### 4.2.2.3 Fremdkörper im Strahlengang finden

Es sollte selbstverständlich sein, daß Mikroskopiker die optischen Teile ihres Mikroskops sorgfältig sauber halten. Für den Mikrofotografen ist das sogar die wichtigste Voraussetzung für die erfolgreiche Arbeit. Besonders Staub auf den Okularlinsen im Fotostrahlengang und auf sonstigen Glasflächen in der Nähe des Fotookulars kann auf Bildern sehr stören, um so mehr, je weiter die Aperturblende zugezogen ist. Zieht man nämlich die Kondensorblende auf kleine Werte zu, dann ist die Schärfentiefe so „groß“, daß Verunreinigungen im Strahlengang oberhalb des Objektivs deutlich als dunkle Punkte oder Striche erkennbar sind. Ein Grund mehr, die Blende nicht weiter als unbedingt nötig zu schließen.

Eine besondere Erwähnung verdienen Fingerabdrücke und ähnliches Geschmier auf Objektiv- und Okularlinsen. Sie sind im fertigen Bild oft nur indirekt wahrnehmbar. Wenn das Bild „flau“, also ungewohnt saft- und kraftlos ist, so liegt der Verdacht zunächst auf einem Fingerabdruck. Das kommt nämlich öfter vor als man meint und hat eine überraschend starke Wirkung, vor allem bei einem Abdruck auf der Frontlinse eines stärkeren Objektivs. Doch fällt uns dieser Bildfehler meist schon beim Blick ins Okular auf, im Gegensatz zu kleineren Fremdkörpern im Strahlengang.

Irgendwo im Strahlengang sitzt also Dreck. Er soll weg. Doch wo und wie anfangen ?

Zunächst geht es um die Lokalisierung von im Bildfeld sichtbaren Verunreinigungen oder Strukturen, die da nicht hinein gehören. Bei korrekt eingestellter Köhlerscher Beleuchtung sind die vielfältigen Abbildungsebenen im Strahlengang genau definiert. Diese Kenntnis nutzen wir zur Fehlersuche, indem wir in folgender Reihenfolge vorgehen. (Die Ziffern in Klammern weisen auf die Position in der Zeichnung hin.)



1. Fokussieren auf die Schmutzstelle und Verschieben des Präparats (9) zeigt, ob sie im Präparat, an der Unterseite des Objektträgers oder auf dem Deckglas sitzt.
2. Drehen der Okulare (5; 2) im Tubus: Drehen sich die Fremdkörper mit, so sind sie im Okular bzw. auf dessen Linsenaußenflächen. Der Erstverdacht liegt auf der Unterseite der Okular-Feldlinse, die dem Objektiv zugewandt ist. Bei einem Binokular mit „Knickbrücke nach Prof. Siedentopf“ (Augenabstandsverstellung durch Knicken wie bei einem Feldstecher) und mit Strichplattenaufrichtung (Strichplatte bleibt in derselben Stellung, obwohl der Tubus leicht gedreht wird) sind die Okulare mit Nut und Nocken im Tubus fixiert. Man muß sie aus der Nut herausziehen, bevor man sie dreht, sonst dreht man versehentlich nur am Fokussiering des Okulars und verstellt es.
3. Beseitigt eine leichte Kondensorhöhenverstellung die Störung (10), dann liegt ihre Ursache im Lampenkolben (15), im Lampenkollektor (14) oder in einem Filter in seiner Nähe (10; 13). Bei richtig eingestelltem Kondensor zeigt sich Schmutz auf Glasflächen in der Nähe der Leuchtfeldblende (12) meist deutlich im Präparat.
4. Bringt die Kondensorverstellung keine Veränderung, verstellt man die Scharfeinstellung. Dabei müssen alle Störungen durch verschmutzte Kondensorenfrontlinse (10) und verschmutztes Präparat verschwinden.
5. Ist das ohne Wirkung, dreht man das Objektiv (8) in seiner Schraubfassung, um zu sehen, ob sich ein Fremdkörper darin mit dreht.
6. Wenn alles nichts geholfen hat, löst man die Klemmhalterung des Tubusaufsatzes (Mon-, Bin- oder Trinokular) und dreht ihn in seiner Aufnahme. Wandert der Fremdkörper dabei, liegt er außerhalb des Prismen-Okularaufsatzes. Bleibt er an derselben Stelle im Bild, so liegt er auf den Umlenkprismen (6) oder sonstwo im Tubus (3; 4; 6).
7. Befindet sich oberhalb des Okulars (4) noch ein Objektivsystem, z. B. eine Verkleinerungsoptik (3; 1) oder ein auf unendlich fokussiertes Kameraobjektiv (1), so müssen auch diese Teile entsprechend bewegt werden.

Haben wir Schmutz irgendwo im Tubus bzw. Prismenaufsatz lokalisiert, möchten wir nachsehen, wo genau er denn sitzt, und schauen in den Tubus hinein. Dabei müssen wir aufpassen, daß wir nicht alles noch schlimmer machen. Man berühre dabei nicht den Tubusrand mit den Augenbrauen, damit nicht ein kleines Härchen abbricht und in den Tubus fällt, an eine unzugängliche Stelle eines Umlenkprismas oder auf die Hinterlinse eines Objektivs. Mit Hilfe unserer obigen Checkliste finden wir die Stelle zwar bald, doch kann die Reinigung mißlingen und einen teuren Service beim Hersteller oder einem Optikfachmann notwendig machen. Solange kein Okular im Tubus steckt, vermeide man es, mit den Händen durchs Haar zu fahren.

### 4.2.3 Linsen putzen

#### 4.3.2.1 Allgemeine Überlegungen

Es gibt wohl keine Reinigungsmethode, die - oft genug ausgeführt - nicht ihre Spuren auf Glasflächen hinterläßt. Wenn das Bild nicht sichtbar beeinträchtigt ist und die Qualität der Fotos nicht leidet, so kann die Devise nur lauten:

☞ An optischen Gläsern so wenig wie möglich putzen.

Aus diesem Grunde sollten wir auch das Putzen der Linsen mit einem Blättchen oder Blöckchen Styropor schnell vergessen. Die Methode ist zwar sehr effizient, aber wenig schonend. Erstens müßte man sowieso nicht das gewöhnliche, sondern das schwieriger zu beschaffende weiche Styropor verwenden, zweitens erinnere ich daran, was zwei, drei Sandkörnchen in einem superweichen Autowaschschwamm auf dem Autolack anrichten können. Diese Methode ist in Universitätslabors und Uni-Kursen aufgekommen und jahrelang dort propagiert worden, wo man seine Objektive nicht selbst bezahlen muß.

#### **Aber wie reinigt man seine Objektive und Okulare denn nun richtig ?**

Empfehlung von CARL ZEISS (West) 1980: Reinigungsbenzin; in anderer Auflage: sparsamer Gebrauch von Alkohol und Benzin. Wiederum derselbe Verfasser in einer früheren Auflage: Äther und Benzin, unter gar keinen Umständen Alkohol. ZEISS Servicebereich 1984: Gemisch aus Methylazetat 85 (65 Anteile), Alkohol (20 Ant.), Diäthyläther (5 Ant.). — LEITZ 1981: reiner Alkohol. An anderer Stelle: Aqua dest. und reiner Alkohol. LEITZ 1962: Xylol, keinesfalls Spiritus oder Alkohol. LEITZ 1977: Xylol oder Benzin. LEITZ 1973: Benzin oder Xylol, niemals Alkohol. — OLYMPUS Lens Cleaning Kit: Äther-Alkohol-Mischung (7:3). Aber nur bei unkomplizierten Achromaten. Apochromate über Händler einschicken! Objektivfassung: Xylol; kein Äther, kein Alkohol, weil damit die Farben (Lacke) angelöst werden. BORNHARDT 1994: Leichtbenzin, Wundbenzin oder Petroläther, Fraktion 60–65 °C. — STEHLI/KRAUTER 1973: Nie Alkohol oder Xylol. — OTTO 1957: Benzol, Xylol, nie Alkohol. — BEYER et al.: Frontlinse Xylol oder Benzin, unter keinen Umständen Alkohol. — MICHEL: Pinsel mit Äther. Hartnäckige Fälle: Benzin, Xylol, Chloroform, Äther. Auf keinen Fall Alkohol. — SCHENK/KISTLER: Xylol für moderne Systeme, "ältere" mit Reinbenzin. — EHRINGHAUS/TRAPP: Benzin, Azeton oder Äther. — CLB Chemie in Labor und Biotechnik 47, 10/1996: Äthylalkohol, "ältere" Objektive, deren Linsen mit alkohollöslichem Kitt in der Fassung fixiert sind, ist: Xylol. — Und so weiter!

Dieses Chaos hat jedoch Methode. Welche Lösungsmittel man für die Reinigung der Objektivlinsen verwenden sollte, hängt hauptsächlich davon ab, mit welchem Kitt die Objektivfassung gegen Immersionsöl abgedichtet ist. Der wechselt beim selben Hersteller unter Umständen von einer Objektivreihe zur anderen oder nach einigen Jahren. Vor einiger Zeit hat man zum Beispiel gerne Kanadabalsam für die Abdichtung verwendet (wie ja auch zum Verkitten von Linsen), damit man während der längeren Aushärtezeit noch bei der Objektivmontage und -justierung die Linsen ein wenig zurechtrücken und -schieben konnte. Von solchen Objektiven hält man Xylol und andere Balsam lösende Mittel am besten fern. Auch wenn ein Hersteller vor Alkohol warnt, hat er seine Gründe. Besonders Brennspiritus sollte man nie an optische Gläser bringen. Er enthält in der Regel Vergällungssubstanzen und andere, die einen Schmierfilm auf den Glasflächen hinterlassen, der nur schwer wieder zu entfernen ist.

#### 4.2.3.2 Die einzig richtige und bewährte Methode

Wenn man keine für die speziellen Objektive geschriebene Pflegeanleitung ihres Herstellers hat, kann man zunächst nicht vorsichtig genug sein. Deshalb kann ich nur die im folgenden beschriebene Methode

als allgemein anwendbar empfehlen. Sie beruht auf der Verwendung von hochgereinigtem, besonders flüchtigem (schnell verdunstendem) und rückstandsfrei trocknendem Wundbenzin mit 40 – 60 °C Siedepunkt. Man muß das beim Kauf ausdrücklich verlangen. Ferner - soweit man der Empfehlung folgt und Watte verwendet: niemals sogenannte Ohrenstäbchen! Keine „medizinische“ Wundwatte (Medizinalwatte)! Die ist nämlich sterilisiert und enthält, damit sie auch steril bleibt, konservierende Chemikalien, die beim Auftrag auf die Wunde nicht schaden, aber auf optischem Glas Schlieren hinterlassen. Man muß chemisch reine **Augenwatte** nehmen! Diesen Tip habe ich von Rainer MEHNERT vom Zeiss-Service. Er hat die Methode schon vielen Mikrofreunden erfolgreich vorgeführt, und ich kann aus eigener Erfahrung bestätigen, daß die von ihm gereinigten Teile wirklich sauber und unverkratzt sind. Noch einen weiteren Vorteil hat die Methode. Man braucht nicht zu unterscheiden zwischen Achromaten, Apochromaten, Immersions- und Trockenobjektiven. Denn das leicht flüchtige Benzin verdunstet schneller, als es, durch Kapillarkräfte angesogen, zwischen Objektivfassung und Frontlinse kriechen und dort Kitt anlösen könnte. Man darf allerdings sein Objektiv nicht im Benzin baden, sondern die verwendete Menge soll gerade eben zum Erweichen und Abwischen von Schmutzpartikeln ausreichen – und dann rasch verdunsten.

Mehnert verrät noch einen weiteren Trick: Er kühlt Benzin, Okularlinsen, Spiegel und andere Glasflächen bei üblicher Temperatur von 6 – 7 °C im Kühlschrank, bevor er sie reinigt. Die statische Aufladung durch das Reiben beim Putzen, sonst eine Quelle ständiger Frustration, bleibt dann nämlich weitgehend aus, sie entsteht erst bei normaler und höherer Temperatur. Selbstverständlich darf man keine Objektive, Okulare oder andere Teile mit verkitteten Linsen oder Prismen in den Kühlschrank legen, weil sonst der Balsam zwischen den Linsen brüchig werden und einreißen könnte.

Manche empfehlen, statt der Watte spezielles Linsenreinigungspapier um ein Holzstäbchen zu wickeln (Olympus z. B.). Meine Beobachtung geht aber dahin, daß solche Papiere zu glatt sind, um die Schmutzpartikel gut aufzunehmen, man schiebt sie damit mehr auf der Linse hin und her. Langfaserige Augenwatte ist sicherer, in ihren Schlingen bleiben die Partikel gut hängen. Wenn aber Stäubchen auf der Linse sind, wirkt Linsenputzpapier eher wie Schmirgelpapier. Auf Dauer haben diese Linsenputzpapiere mehr einen mattierenden Effekt als einen Nutzen. Moderat mit Benzin getränkte Watte ist der sicherere und bessere Weg.

Wer lieber den Empfehlungen des Objektivherstellers folgt und eines der vielen oben erwähnten Lösungsmittel verwendet, sollte stets darauf achten, für welche Baureihe (Baujahr des Objektivs und Druckjahr der Anleitung beachten!) und für welche Objektivtypen sie tatsächlich empfohlen werden. Die Mittel, die zur Reinigung von Immersionsobjektiven genannt werden, sollten nicht bedenkenlos auch bei Trockenobjektiven angewandt werden, weil diese mitunter andere oder gar keine Abdichtkitt an den Frontlinsen haben. Da kriechen die Lösungsmittel unter Umständen gleich ins Objektivinnere und lösen den Balsam zwischen den Linsen. Erst kürzlich hatte ich wieder einmal ein Objektiv in der Hand, dessen eine Balsamschicht zwischen zwei Linsen zur Mattscheibe geworden war. So ein gutes Stück ist dann nur noch als Briefbeschwerer verwendbar.

In allen Fällen gilt bei Verwendung von Xylol, Alkohol usw.: so wenig Lösungsmittel wie möglich auftragen. Denn wenn auch nicht gleich die ganze Kittsubstanz aufgelöst wird, so doch stets eine Winzigkeit, die dann durch den Putzvorgang auf der Linse verschmiert wird und dort antrocknet. So wird die Sache nur schlimmer.

Wir wischen Immersionsölrreste immer vom Objektiv ab. Wenn man das vom Objektivhersteller heutzutage angebotene oder empfohlene Öl verwendet, muß man in der Regel nicht sofort abwischen, weil die modernen Öle nicht verharzen und nur langsam antrocknen. Es genügt, das stündlich oder täglich zu machen, aber es darf nicht vergessen werden. Denn das Immersionsöl trocknet mitunter zu harten Bröckchen an der Linse oder ihrer Fassung. Wenn man das Objektiv dann mit dem Revolver schwungvoll in den Strahlengang einschwenkt, können wegen des geringen Arbeitsabstandes die harten Brocken so auf das Deckglas aufschlagen, daß sie das Präparat zertrümmern oder die Frontlinse aus ihrer Fassung drücken. Wenn wir das Immersionsobjektiv im Wechsel mit einem Trockenobjektiv (wohl meist einem Vierziger) benützen, sollten wir es entweder immer gleich abwischen oder – wenn es eine arretierbare Einschubfassung hat – einschieben und arretieren, damit es beim Durchschlagen des Revolvers kein Öl auf dem Präparat abstreifen kann, von wo dieses dann an das Trockenobjektiv gerät. Das muß unter allen Umständen vermieden werden. Kontrollieren Sie gelegentlich, ob bei den stärkeren Trockenobjektiven Immersionsöl an die Frontlinse geraten und angetrocknet ist, besonders wenn Sie Immersionsöl unbekannter Herkunft bzw. ein Öl verwenden, das verharzen kann.

Sorgfältiges Abwischen von modernem, nicht verharzendem Immersionsöl mehrmals am Tag genügt. Linsenputzpapier eignet sich dafür nicht so gut wie mehrlagiges Flausch-Kleenex. Den dabei zurückbleibenden hauchdünnen Ölfilm auf der Frontlinse des Objektivs kann man bei späterer Gelegenheit entfer-

nen. Doch dickere Ölschichten sollte man nur so lange wie wirklich benötigt am Objektiv belassen. Manche Objektivfassungen sind um die Frontlinsen herum nämlich nicht vollkommen mit Kitt abgedichtet, so daß mit der Zeit das dünnflüssige Immersionsöl durch Kapillarkräfte in das Linsensystem eindringen und den Balsam zwischen verkitteten Linsen anlösen kann. Es ist sehr empfehlenswert, nur das vom Objektivhersteller empfohlene oder vertriebene Immersionsöl zu verwenden. Es ist nämlich anzunehmen, daß die Mikroskophersteller die chemische Wirkung ihres eigenen oder empfohlenen Immersionsöls auf ihren Objektivkitt oder -balsam abstimmen. Im Zweifelsfall sind zähere Öle stets sicherer, obwohl sich mit ihnen nicht so bequem arbeiten läßt.

#### 4.2.3.3 Allgemeine Ratschläge

- Die im Folgenden beschriebenen Methoden oder andere zuerst an einfachen, robusten, billigen Objektiven ausprobieren. Das gereinigte Objektiv dann eine Weile verwenden, um ganz sicher zu gehen. Erst danach kommen die wertvolleren an die Reihe.
- Wenn mit „destilliertem Wasser“ gereinigt werden soll, so genügt bei kleinen, außenliegenden Linsen Anhauchen.
- Wenn von dem mystischen, oft gewaschenen, weichen Leinentuch die Rede ist, geht es um das Material, nicht um die Webart. Die täuscht nämlich, weil manche Baumwolltücher wie Leinentücher gewebt sind. Baumwolltücher fusseln grundsätzlich und ausnahmslos! Mit ihnen bringt man nur Fussel ins Innere von Objektiven und Okularen. „Großmutterns altes Leinen“ bekommt man oft auf Flohmärkten.
- Wer mit den beschriebenen Prozeduren keinen rechten Erfolg hat, wende sich an den technischen Service des Herstellers. Wenn der das gute Stück beim Reinigen ruiniert oder dejustiert, haftet er und muß notfalls Ersatz leisten.
- Objektive und Okulare niemals auf einer staubigen Unterlage abstellen! An Okularen in Kunststofffassungen haftet der Staub sofort und fällt erst dann ab, wenn sie in den Prismen-tubus gesteckt werden, aber dann auf eine unzugängliche Stelle eines Umlenkprismas, von wo aus man sie stets schön im Bild hat. Auch Objektive haben heute manchmal einen Kunststoffeinsatz in ihrer Schraubfassung, der Staub anzieht. Von dort fällt er leicht ins Innere auf die Hinterlinse.
- Bei Präparaten mit Lackring immer vorsichtig sein. Manch ein Lack wird vom Immersionsöl angelöst und die schwärzliche Suppe dann auf der Frontlinse verschmiert.
- Niemals ein Objektiv auseinander nehmen! Nur der Herstellerbetrieb kann es mit speziellen Werkzeugen zusammensetzen und justieren.
- Zeigt die Lupe bei einem verschmutzten Okular, daß die Außenflächen der Linsen sauber sind, kann man es zur Reinigung auseinander nehmen, um die Innenflächen zu säubern. Wichtig: Immer nur ein einziges Okular auseinandernehmen. Über Reihenfolge und Lage der Linsen und eventueller Halteringe in der Fassung immer genaue Aufzeichnungen beim Auseinandernehmen machen. Auch wenn das Okularrohr an beiden Enden dasselbe Gewinde besitzt, darf man doch nicht Feld-(Kollektiv)linse und Augenlinse an die falschen Enden schrauben, weil sonst die Feldblende in eine falsche Lage kommt. Erst wenn das Okular vollständig gereinigt, erfolgreich zusammengesetzt und geprüft ist, das nächste auseinandernehmen!
- Beim Hantieren mit Watte in der Nähe von Blendenlamellen am Kondensator oder an der Leuchtblende muß man aufpassen. Wattefasern verfangen sich leicht zwischen Lamellen oder an ihren Rändern, dann hat man immer Fussel irgendwo im Bild. Deshalb dort die kreisförmigen Putzbewegungen nicht ganz bis zum Linsenrand hin ausdehnen.

#### 4.2.4 Die Prozeduren im Detail

##### 4.2.4.1 Was wir zum Reinigen brauchen

- .1 Gummi-Blasebalg. Ich nehme einen Klistierball mit langer, spitzer Düse. Rainer MEHNERT vom Zeiss-Mikroskopservice rät zu den Gummibällen mit zwei Ventilen, der Luftstrom läßt sich mit ihnen besser positionieren. Den Fotopinsel mit Gummiblasebalg, der von einigen Optikfirmen empfohlen und manchem Reinigungsset beigelegt wird, benütze ich nicht. Er bläst z. B. den Staub, der in den Pinselbor-

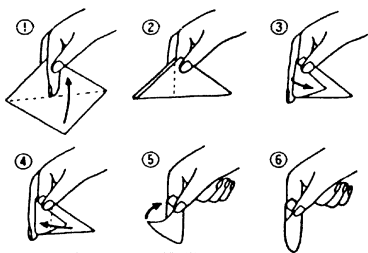
sten hängt, direkt ans oder gar ins Objektiv! Überhaupt gibt es viel ungeeignetes Reinigungszubehör in der Fotobranche, das für Mikroskopoptik zu grobschlächtig ist.

- .2 Feiner Marderhaarpinsel Nr. 2 oder 3, gründlich ausgewaschen und in Äther entfettet. Wenn man nur ein einziges Mal mit den Borsten über einen Finger oder über die Objektivfassung, an der ebenfalls Fingerfett klebt, gestrichen hat, ist er zur Objektivreinigung unbrauchbar; dann sofort in Äther auswaschen.
- .3 destilliertes Wasser; im allgemeinen genügt Anhauchen.
- .4 Reinigungsflüssigkeit: leichtflüchtiges Wundbenzin, Siedepunkt 40 bis 60 °C.
- .5 dünne Holzstäbchen aus Weichholz, z. B. Schaschlikstäbchen, an den Enden halb angespitzt, notfalls Spitze halb abschneiden.
- .6 Leinentuch bzw. doppelagiges Flausch-Kleenex.
- .7 chemisch reine, langfädige Augenwatte.
- .8 Lupe, evtl. umgedrehtes Okular, zur Kontrolle.

Bei den folgenden Beschreibungen der einzelnen Prozeduren stütze ich mich sowohl auf eine Anleitung von Olympus, die deren Lens Cleaning Kit beilag, als auch auf die praxiserprobten Empfehlungen von Rainer Mehnert. Beachten Sie bitte, daß ich anstelle von Linsenputzpapier grundsätzlich Augenwatte empfehle, wie ich es Mehnert abgeschaut habe. Höchstens wenn man eine ganz feine Spitze braucht, z. B. um einen einzelnen Schmutzpartikel abzuwischen oder zu erweichen, kann man ein Linsenpapier spitz zusammenrollen und mit dest. Wasser oder Wundbenzin anfeuchten.

#### 4.2.4.2 Allgemeine Vorgehensweise

- .1 Feinen Staub wegblasen mit Klistierball (4.2.4.1 .1). Wenn man das Objektivinnere säubern, also von hinten in die Objektivfassung blasen will, ist es eine gute Idee, ein mehrfach gefaltetes, frisch gewaschenes Taschentuch beim Luftansaugen über die Düse des Gummiballs zu legen, damit kein Staub angesaugt und dann anschließend beim Druck auf den Ball direkt aus der Düse ins Objektivinnere geblasen wird. Nie mit dem Mund ins Objektiv blasen, denn die Feuchtigkeit in der ausgeatmeten Luft bewirkt nur, daß Staubpartikel um so fester auf der Hinterlinse festkleben!
- .2 Mit ausgewaschenem Pinsel (4.2.4.1 .2) anhaftende Staubpartikel entfernen.
- .3 Im Olympus-Reinigungskit befindet sich eine vorne spitz zugeschnittene Schwungfeder einer Taube. Damit kann man stärker haftenden Schmutz entfernen.



So wickelt man ein Linsenputztuch um den Finger.

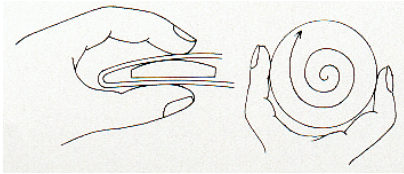
- .4 Die Frontlinse des Objektivs oder Okulars mit einem weichen Tuch, z. B. Flausch-Kleenex, das mit dest. Wasser angefeuchtet ist, vorsichtig abwischen. Besser das Linsenputzpapier meiden, vor allem für die großen Frontlinsen der Objektive mit Maßstabszahlen von 1:1 bis 25:1, damit man aus diesen Frontlinsen keine Mattscheiben macht. Ganz wichtig: Immer nur ein einziges Mal dieselbe Stelle des Papiers oder Tuchs benutzen.

Größere Linsen putzt man dabei in spiraliger Bewegung von innen nach außen.

- .5 Endreinigung mit Augenwatte, Stäbchen und Benzin – siehe die folgenden Kapitel.

#### 4.2.4.3 Ungefaßte Linsen

- .1 Tuch /Flausch-Kleenex doppelt oder vierfach falten und



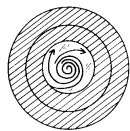
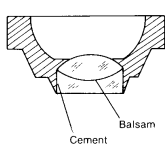
So wickelt man ein Linsenputztuch um den Finger.

- .2 mit der Reinigungsflüssigkeit leicht befeuchten.  
 .3 Tuch über der Linse falten (siehe Skizze).  
 .4 Linse zwischen Daumen und Zeigefinger einer Hand halten.  
 .5 Mit Daumen und Zeigefinger der anderen Hand die Linse zwischen den Tuchlagen drehen, spiralförmig von innen nach außen.

- .6 Vorgang 4.2.4.3 .5 wenigstens drei Mal wiederholen.  
 .7 Vorschlag: Vor dem Putzen Linse im Kühlschrank kühlen.

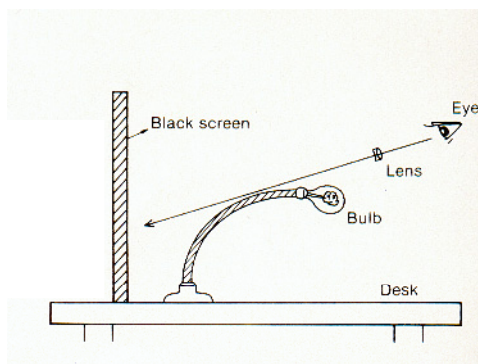
#### 4.2.4.4 Gefaßte Linsensysteme

- .1 Jedes wirksame Reinigungsmittel ist auch ein Lösungsmittel für den Linsen Kitt. Deshalb nur geringste Mengen auf die Glasfläche des Objektivs auftragen.  
 .2 Mit Tuch / Augenwatte (!) umwickeltes Weichholzstäbchen benützen, da die zu reinigende Fläche sehr klein ist.  
 .3 Linse mit umwickeltem Stäbchen putzen; Bewegung spiralförmig von innen nach außen.



- .4 Falls Tuch oder Augenwatte irgendeine Stelle der Linsen-/Objektivfassung berührt haben, sofort auswechseln ! Sonst wird Linsen Kitt, der stets in geringer Menge angelöst wird, auf der Linse verschmiert – sie ist dann schmutziger als vor dem Putzen – oder die Linse kann dabei dezentriert werden.

#### 4.2.4.5 Okulare, Kondensator und Kollektor



Zunächst schaut man sich das Okular bei hellem Seitenlicht genau an. Siehe Skizze. Vielleicht bemerkt man dabei Flecken auf dem Antireflexbelag der Augenlinse. Sind die Okulare von Personen benützt worden, die Wimperntusche verwenden ? Die ist nämlich so aggressiv, daß sie die im Hochvakuum aufgedampften Vergütungsschichten regelrecht auflöst!

Alle Fremdkörper auf einer Okular-Feldlinse bzw. in ihrer unmittelbaren Nähe sind immer gut im Bild sichtbar. Sind Unsauberkeiten nicht wie unter 4.2.4 .4 beschrieben vollständig zu beseitigen und zeigt die Lupe, daß die Außenflächen sauber sind, dann sind Verunreinigungen auf den Innenflächen der

Linsen zu vermuten. In diesem Fall muß man das Okular auseinandernehmen, um die Innenflächen zu säubern. Nie mehrere Okulare gleichzeitig auseinandernehmen!

Unverkittete Linsen vorher zusammen mit dem Benzin in den Kühlschrank!

- .1 Wenn es möglich ist, das Okular auseinanderzunehmen, sollte jede Linse separat gereinigt werden. (Linsen und ihre korrekte Lage genau kennzeichnen, auf einem Blatt Papier genau notieren!)  
 .2 Kondensator dito.  
 .3 Die Linsen eines Trockenkondensators (numerische Apertur unter 1,0) dürfen nicht mit einem Tuch gereinigt werden, das mit einem Lösungsmittel getränkt ist. Am besten nur trocken oder mit einer geringen Menge „dest. Wasser“: Anhauchen genügt.  
 .4 Beim Wiedereinsetzen der Linsen die konkaven und konvexen Flächen richtig positionieren.

- .5 Der Kondensator ist in Bezug auf Reinigung eigentlich unkritisch, doch sind einige Besonderheiten zu beachten. Aufmerksamkeit erfordert die klappbare Frontlinse von Zeiss-Kondensoren. Achten Sie einmal darauf, ob sie nicht schon regelrecht trübe geworden ist. Wenn ja, dann liegt das nicht unbedingt an mangelnder Pflege. Wenden Sie sich in so einem Fall an Zeiss, dort kennt man das Problem, das seine Ursache in der Wahl der Glassorte in den 70er Jahren hat.
- .6 Liegt die Aperturblende nicht unterhalb des Kondensors sondern innen über der unteren Linse, so sollte man darauf achten, daß nicht zu viel Abrieb von den Blendenlamellen auf die untere Linse gefallen und dort festgebackt ist. Das sieht man zwar nicht im Bild, wenn die Köhlersche Beleuchtung eingestellt ist, aber es vermindert die Apertur unnötig. Manchmal hat ein Vorbesitzer die Blendenlamellen geölt oder gefettet. Im Laufe der Jahre verbackt das Schmiermittel und krümelt, fällt auf die untere Linse und klebt dort fest.

### Linsengruppen von Okularen

Es gibt viele verschiedene Okulartypen unterschiedlicher Konstruktion. Hier einige Beispiele, die bei der Montage helfen können, wenn doch einmal etwas durcheinander geraten ist. Es gibt aber noch weitere Okularkonstruktionen.

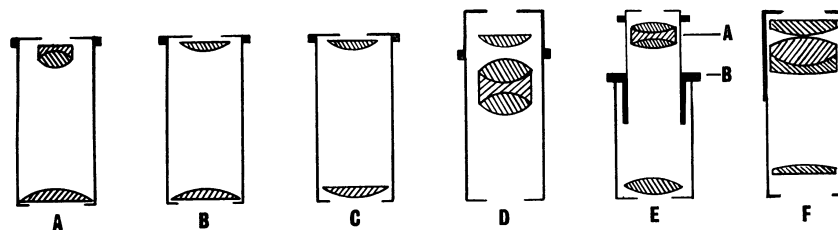
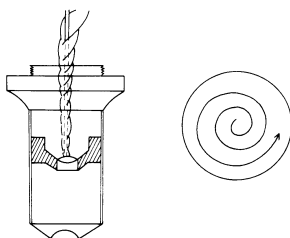


Fig. 76. Eyepieces. A. Chromatized Ramsden eyepiece. B. Ramsden type eyepiece. C. Huygen type eyepiece. D. Compensating eyepiece. E. Projection eyepiece. F. American Optical Co. widefield eyepiece.

#### 4.2.4.6 Objektivlinsen

Objektive dürfen niemals auseinander geschraubt werden! Deshalb kann man bei ihnen nur Front- und Hinterlinse reinigen. Die Fassung auch.

- .1 Mit einer Lupe (liegt dem Olympus Cleaning Kit selbstverständlich bei) ist viel Staub auf der Hinterlinse zu entdecken, der die Leistung des Objektivs mindert.
- .2 Mit einem gereinigten Pinsel oder Blasebalg (oder Klistierball) Grob- und Feinstaub von der Linse entfernen.
- .3 Weichen Holzstab mit Augenwatte umwickeln.
- .4 Zuerst mit dest. Wasser (entmineralisiertes Wasser genügt) säubern — langsam und sorgfältig. Nach jedem Putzgang die Linsen bei Licht (siehe oben) prüfen.
- .5 Niemals (!) die Linse mit schon benützter Watte berühren. Nach jedem Putzvorgang die Watte erneuern!
- .6 Auch wenn mit dem Tuch oder der Watte über die Fassung gewischt wurde: Sofort erneuern. Die Fassung ist normalerweise mit reichlich Fett von den Fingern beschmiert. Wenn man nicht aufpaßt, schmiert man das Fett mit dem Tuch von der Fassung direkt auf die Linse.
- .7 Nach dem Reinigen mit wasserfeuchtem "Tuch": Endreinigung mit trockenem.
- .8 Wenn der Staub oder Belag auf die beschriebene Weise nicht entfernbare ist, Wundbenzin in derselben Weise verwenden (Olympus meint: Mischung von Ether und Alkohol).
- .9 In die Gewindefassung der Objektive ist oft eine verengende Blende hineingeschraubt, meist von schwarzer Farbe. Dieses dünne Plättchen kann man herausschrauben. Es ist aber schlecht zu fassen, mitunter hilft das Aufsetzen auf ein weiches Stück Gummi, oder man faßt die Blende mit einem Stück Gummi an ihrem Rand. Ist sie entfernt, kommt man mit dem watteumwickelten Stäbchen viel besser ins Objektiv und an seine Hinterlinse, auf der sich im Laufe der Jahre gerne Pilze auf einer





Staubschicht ansiedeln, besonders nach der Arbeit in warmen Kammern. Doch Achtung: An den eingefetteten Innenwänden des Objektivtubus klebt Staub fest. Wenn wir ihn versehentlich mit der Watte berühren, übertragen wir diese fettige Staubschicht wahrscheinlich auf die Hinterlinse und verschmieren sie damit.

- .10 Bei Objektiven mit konkaver Frontlinse (z. B. bei den 40er Achromaten) sammelt sich in dieser „Kuhle“ ein Belag an, der sie mitunter ausfüllt. Beim Putzen wischen wir oft darüber hinweg, ohne ihn zu entfernen. Hier muß man mit „Benzinwatte“ zu Werke gehen.
- .11 Bei neuesten Objektivserien, speziell bei Objektiven 50:1 und 100:1, ist so wenig Dichtungskitt verwendet (weil für den Kitt nur wenig Platz ist zwischen Linse und Tubuswand), daß auch bei geringem Putz-Druck die Frontlinsen aus der Fassung gedrückt werden können bzw. regelrecht abspringen.

#### 4.2.4.7 Objektivfassung

- .1 Die Fassung mit Xylol reinigen.
- .2 Schrauben mit einem Pinsel reinigen.
- .3 Nicht die Ether-Alkohol-Mischung (Rezept Olympus) nehmen, sie löst die Farbe der Objektivmarkierungen an.

#### 4.2.4.8 Kollektor, Spiegelgehäuse, Glühlampe

- .1 Es lohnt sich durchaus, gelegentlich auch den Lampenkolben in der beschriebenen Weise zu reinigen – genau wie eine Linse. Der Staub brennt sich sonst regelrecht in den Lampenkolben ein.
- .2 Dasselbe gilt für einen Doppelkollektor: Die kurzzeitige Hitze der Blitzröhre brennt den Staub an die benachbarten Kollektorlinsen.
- .3 Spezialität des Modells Zeiss-Standard (und ähnliche Bauweisen): Die erste Kollektorlinse ist mattiert. Dort sammelt sich Staub mit Vorliebe an, und die Hitze der Lampe brennt ihn fest. Das ist mitunter schon mit bloßem Auge erkennbar: kleine, schwarze Schmutzpünktchen und regelrechte Schmutzkru-  
sten. Die sollte man entfernen.

Bei dem dreilinsigen, mattierten Kollektor kann es bei der Verwendung eines langen Lampenkolbens passieren, daß er bis zu seinem Anschlag an die mattierte Linse ins Lampenrohr hineingeschoben und dann zwecks Justierung auch noch öfter gedreht wird (Achtung: besonders bei der alten Autolampe 60 Watt, evtl. auch bei der 6 V 15 W.). Dabei schmirgelt der Lampenkolben regelrecht an der Mattlinse, auf der ja sowieso schon Staubteilchen angebackt sind, und verursacht dort Schlieren, die als unregelmäßige Helligkeitsunterschiede im Bild sichtbar sind, manchmal recht deutlich.

- .4 Auch von den Blendenlamellen der Leuchtfeldblende fällt im Laufe der Jahre Metallabrieb in kleineren, aber auch größeren Partikeln auf die Linse oder Glasscheibe unter der Blende. Auch diese Teile brauchen eine Reinigung mit Benzin und Augenwatte. Vorsicht beim Spiegel: erst an seinem äußersten Rand probieren!

#### 4.2.4.9 Prismengehäuse

- .1 Wir sollten dreimal überlegen, bevor wir irgendwelche Lösungsmittel in den Tubuskopf bringen. Besonders Xylol wirkt verheerend. Die Prismen sind bei Mikroskopen nicht wie bei hochklassigen Feldstechern verschraubt, sondern nur miteinander verklebt. Doch sind sie nicht mit Kitt gegen die Außenwelt abgedichtet, wie Objektivlinsen. Bringt man durch die Okulare z. B. Xylol auf die Prismen, kriecht es förmlich um deren Ecken und löst die Balsamkittschicht an. Die Prismen können bei reichlicher Verwendung von Xylol auseinander fallen. Das kann auch passieren, wenn wir bei einem älteren Zeiss-Schiebetubus das Glasteil durch die Ringschwalbenfassung hindurch putzen. Auch dort gibt es keinen Dichtungskitt, das Lösungsmittel kriecht sofort zwischen die Prismen bzw. der Schmutz wird durch die kreisförmige Putzbewegung im Kreisrund auf dem Prisma verteilt. Das ist dann im Bild mit Immersionsobjektiven halbmondförmig sichtbar. Deshalb das untere Prisma zum Reinigen nur mit dem Ball anblasen.
- .2 Ein besonderes Kapitel ist der Abriebstaub. Manche Mikroskopiker fummeln andauernd an den Okularen herum, drehen sie in den Tuben oder ziehen sie oft heraus, um die Aperturblende zu kontrollieren. Dabei und vor allem beim Einstecken der Okulare entsteht immer feinsten Abrieb von Metall oder

schwarzem Kunststoff, der dann im Tubus abwärts auf die Prismen fällt und sie im Lauf der Zeit regelrecht verdunkelt.

#### 4.2.4.10 Allgemeine Ergebniskontrolle

- .1 Man inspiziert mit einer Lupe. Reflektiert die Oberfläche mit verschiedenen Farbtönen, so ist die Reinigung unvollständig.
- .2 Zum Schluß hauche man die Linsenoberfläche leicht und gleichmäßig an. Ist die Verdunstung gleichmäßig, so ist die Reinigung gelungen. Der Hauch weicht langsamer von Stellen, die noch nicht sauber sind.

-----  
Ich danke Herrn Rainer MEHNERT, Weil der Stadt,  
für die Durchsicht des Manuskripts und für seine praxiserprobten Ratschläge.

#### **Anschriften für den Bezug von oberflächenversilberten Spiegeln:**

Melles Griot, Lilienthalstraße 30-32, 64625 Bensheim.

Tel. 06251/84060; eMail: info.germany@mellesgriot.com

Spindler & Hoyer: jetzt Linos Photonics GmbH, 37070 Göttingen.

Tel. 0551/69 35 - 0; eMail: sales@linos-photonics.de

#### 4.2.5 Service und Reparatur

Ein präzise gefertigtes Mikroskop braucht so bald keinen Routineservice (ausgenommen mitunter ein neu gekauftes Lomo), vorausgesetzt, man liest die Bedienungsanleitung sorgfältig und hält sich daran. Dann ist bei normalem Gebrauch und guter Pflege frühestens nach 15 Jahren eine Art Abschmierdienst angesagt. Das ist aber nicht zwangsläufig. Am besten vereinbart man nach einer angemessenen Zeitspanne einen Termin beim Service, führt das Gerät dort vor und läßt den Fachmann selbst prüfen, ob es eine Wartung nötig hat. Er kann das besser beurteilen.

Die Reparatur eines unbrauchbar gewordenen Objektivs kostet mindestens die Hälfte des Neupreises, vorausgesetzt, die kaputte Linse usw. läßt sich überhaupt noch beschaffen. Meist ist der Gebrauchtkauf eines Ersatzstückes erheblich günstiger.

## 4.3 Messen



Baustelle

4.3.1 Was messen und warum?

4.3.2 Was man zum Messen braucht

4.3.3 Prozeduren und Anleitung

## 4.4 Bilder machen

### 4.4.1 Zeichnen



Baustelle

#### Zeichnen statt Fotografieren?

Wer keine Fotos benötigt, um anderen Menschen die Ergebnisse seines Mikroskopierens zu zeigen, wird eher dazu neigen, Handzeichnungen von seinen Beobachtungen anzufertigen, als jemand, der es gewöhnt ist, alles mit der Kamera festzuhalten. Doch auch den Mikrofotografen sei es ins Stammbuch geschrieben: Was man nicht gezeichnet hat, hat man nicht richtig gesehen, ja manche Details entgehen dem Mikroskopiker, der sie nicht sorgsam abgezeichnet hat, vollständig.

Leider wird die Zeichentechnik in der Mikroskopie durch die neuen Digitalkameras noch weiter zurückgedrängt, nicht weil die Fotografie in vielen Fällen überlegen wäre – denn meist ist sie das nicht, sondern weil ein bisheriges Argument für die mikroskopische Zeichnung wegfällt: die Aktualität. Auf die Dias mußte man mitunter lange warten, da war die Zeichnung schneller, aber noch schneller ist die Digitalfotografie. Das Zeichnen am Mikroskop ist noch immer nicht überflüssig oder überholt, auch wenn das Fotografieren so einfach geworden ist. Denn noch immer gilt: Wer sich gründlich in die Beobachtung seiner mikroskopischen Organismen einarbeiten will, muß sie auch zeichnen, Foto hin oder her.

Noch immer gilt, daß man im Mikroskop nur das gesehen hat, was man auch gezeichnet hat. Manche Objekte sind zudem nur durch die Zeichentechnik gut abzubilden. Man muß nicht „begabt“ sein oder gar ein Künstler werden, die Beachtung einiger Grundregeln genügt meistens schon.

#### **Doch auf welchem Papier, mit welchem Bleistift, mit welcher Technik?**

In der Zeitschrift *MIKROKOSMOS* kann man das alles nachlesen. Besonders die schönen Artikel des Jesuitenpaters und Rädertierspezialisten Josef DONNER, die Serie des Zoologieprofessors RIETSCHEL und die Spezialverfahren, die von Prof. JURZITZA und Dr. ZÖLFFEL dargestellt werden, sollte man gelesen haben!

Breuer, L.: Ein selbstgebauter Zeichenapparat. 25 (1931/32) 117-118.

Donner, J.: Gedanken zum mikroskopischen Zeichnen. 42 (1952/53) 208-210.

Gaecks, H.: Einige Winke für das mikroskopische Zeichnen. 26 (1932/33) 17-19.

Günther: Das Zeichnen mikroskopischer Objekte. 9 (1915/16) 280-287.

Heidenreich, H.: Zeichnen – einfach gemacht. (Selbstbau eines Zeichenspiegels.) 57 (1968) 30-31.

Hustedt, F.: Über das Zeichnen von Diatomeen. 40 (1953/54) 87-90.

Jurzitza, G.: Ein einfaches Verfahren zum Zeichnen von Pflanzenzellen. 71 (1982) 344-345.

Lenzenweger, R.: Zeichnen am Mikroskop. 52 (1963) 18-20.

Neubert, W.: Mikrofoto oder Zeichnung? (Zeichnungen von Mikrofotos!) 71 (1982) 151-155.

Rietschel, P.: **Das Zeichnen am Mikroskop.** 1. *Zeichnung oder Mikrofoto?* 62 (1973) 294-296. 2. *Die Zeichentechnik.* a.a.O. 327-328. 3. *Das maßgerechte Zeichnen.* a.a.O. 368-370. 4. *Beispiel: Die Mundteile einer Schabe.* 63 (1974) 18-23. 5. *Der Zeichentisch.* 67 (1978) 336-337. 6. *Zeichentechniken und Zeichengeräte.* 69 (1980) 36-39.

Sauer, F.: Zeichnung oder Fotografie? 57 (1968) 50-51.

Zölfel, M.: Karl Belar und die Zeichentechnik in der Protozoologie. 74 (1985) 45-49.

Hier noch ein bewährtes kleines Lehrbuch:

Honomichl, K.; Risler, H.; Rupprecht, R.: **Wissenschaftliches Zeichnen in der Biologie und verwandten Disziplinen.** 88 Seiten, 56 Abb. und 11 Farbbilder. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1982. DM 39. *Die Verfasser geben Anregungen und Hilfen mit ihrem Buch, das aus einem erprobten Kursprogramm für Studenten entstanden ist.*

## 4.4.2 Mikrofotografie



Baustelle

### 4.4.2.1 Allgemeine Hinweise



Baustelle

In den Lehrbüchern über Mikrofotografie wird die Lupen- oder Makrofotografie ebenfalls zur Mikrofotografie gezählt, und zwar als Mikrofotografie mit dem *einfachen* oder *einstufigen* Mikroskop.

Solange dieses Kapitel Baustelle ist, folgen hier einige provisorische Hinweise.

Zur Mikrofotografie mit der **Spiegelreflexkamera** siehe in der MVM-Homepage die Aufsätze:

- Über Mikrofotografie. (μ Nr. 2, Juni 1998)
- Was muß und sollte meine Mikrokamera können? (μ Nr. 15, Juni 1999)
- Die ideale Kamera für die Mikrofotografie? (μ Nr. 16, September 1999)
- Verwackelt und verzittert -  $E = m \cdot v^2$ . (μ Nr. 16, September 1999)

Wer bewegliche Organismen fotografieren will, braucht ein Mikroblitzgerät und liest dazu

- Der Mikroblitz. (μ Nr. 17, Dezember 1999)

Wer über den Sucher der Kamera das Mikrobild scharfstellen möchte oder andere Scharfeinstellprobleme hat, liest

- Das Luftbild im Fadenkreuz - Erst der Blick auf Tegernsee macht das Mikrofoto scharf. (μ Nr. 15, Juni 1999)

Die **Belichtungszeit** hängt bei der Mikrofotografie von folgenden Parametern ab:

1. Vom **Vergrößerungsmaßstab** auf dem Film, d. h. vom gewählten Objektiv, dem gewählten Okular, dem Tubusfaktor (evtl. vergrößert der Binokulartubus noch um einen Faktor zwischen 1,0 und 2,0 x); und auch von der Entfernung der Kamera vom Fotookular.
2. Von der num. **Apertur des Kondensors**, also von der Stellung des Kondensorblendenhebels; das ist gleichbedeutend mit der Blendeneinstellung an einem Fotoobjektiv.
3. Von der **Beleuchtungsstärke**, also von der Einstellung am Transformator der Mikroskopbeleuchtung; und in diesem Zusammenhang auch von der Größe und Form der Glühwendel der Lampe.
4. Von Matt- und sonstigen **Filtern im Strahlengang**, z. B. Neutralgrau-, Blau- oder Grünfilter.
5. Von der **Dichte** des Präparats, seiner „Durchsichtigkeit“ sozusagen.
6. Von der **Filmempfindlichkeit** (DIN- oder ASA-Zahl des Films).
7. Von der **Lichtdurchlässigkeit** der optischen Teile des Mikroskops. Wenn die Objektive, Kollektor, Kondensor und Okulare viele Linsen haben, schlucken die auch viel Licht.

Es ist ausgeschlossen, alle diese Abhängigkeiten in einer Tabelle darzustellen. Sie wäre so kompliziert, daß niemand sie verstehen könnte. Deshalb gab und gibt es nur **2 erfolgreiche Methoden** in der Mikrofotografie.

A. **Probeaufnahmen** machen und genaue Aufschreibung aller Aufnahmebedingungen, der Ausrüstung und ihrer Einstellungen.

B. Fotoelektrischer **Belichtungsmesser**.

Zu A). Das geht selbstverständlich nur, wenn man viel Zeit für jede Aufnahme hat. Oder wenn sich ein solcher Anfangsaufwand zeitlich lohnt. Das kann der Fall sein, wenn man immer dieselbe Art von Präparaten fotografiert. Man testet die Einstellungen mit einem bestimmten Filmtyp ein und fotografiert dann

immer mit diesen Einstellungen und mit diesem Filmtyp - und hofft, daß die möglichen Abweichungen in der Präparatdichte und in den Einstellungen (Aperturblende!) vom Belichtungsspielraum des Films toleriert werden. Diese Methode ist sehr grundsätzlich und gründlich, aber sehr umständlich und trotzdem unsicher. Sie funktionierte nur einigermaßen mit Platten- oder Planfilmkameras, bei denen es möglich ist, auf der Platte oder dem Planfilm streifenweise Probeaufnahmen zu machen, sie sofort zu entwickeln und die endgültige Aufnahme nach dem am besten belichteten Streifen zu wiederholen – und auch diese Aufnahme sofort zu entwickeln.

Zu B). Einige Kleinbild-Spiegelreflexkameras, z. B. die Olympus OM 4 TI, eignen sich für solche Mikroaufnahmen besonders. Z. B. steuert die OM 4 lange Belichtungszeiten von 120 sec und mehr reproduzierbar genau. Kameras mit automatischer Belichtungssteuerung belichten auch auf dem Mikroskop recht genau. Damit die Aufnahmen nicht durch den Verschlußablauf oder den Schwingspiegel verwackelt werden, vermeidet man unter allen Umständen Belichtungszeiten zwischen  $1/30$  und 1, noch besser zwischen  $1/60$  und 2 sec. Um z. B. längere Zeiten als 2 sec zu bekommen, legt man ein entsprechendes Neutralgraufilter in den Filterhalter des Mikroskops.

Methode B funktioniert auch mit einer modernen Aufsetzkamera, die man von den meisten Mikroskopherstellern kaufen kann. Diese Mikrofotosysteme haben meist ein eigenes Steuergerät, mit dem die Belichtung gemessen und eingestellt werden kann, oder sie arbeiten vollautomatisch. Sie sind überwiegend sehr teuer. So etwa zwischen 1.000 und 15.000 Euro. Eine Olympus OM 4 TI ist auch nicht billig: etwa 1500 Euro. Auch eine gebrauchte, gut erhaltene OM 2n täte es. Der Preis auf dem Gebrauchtmart liegt bei etwa 250-350 Euro. (Anfang 2002 gab Olympus Tokyo bekannt, daß das OM-System ausläuft.)

Tageslicht-Diafilme, die preiswertesten also, sind auf kurze Belichtungszeiten abgestimmt, auf etwa  $1/100$  sec. Kunstlicht-Diafilme auf längere Zeiten, etwa auf  $1/5$  sec.

Das bedeutet, daß sich der **Schwarzschildfaktor** bei Tageslichtfilmen bei Belichtungszeiten ab etwa 1 bis 3 sec. schon stärker bemerkbar machen kann. Was hat es damit auf sich? Der Astronom SCHWARZSCHILD hat bei Langzeitaufnahmen herausgefunden, daß bei langen Belichtungszeiten das BUNSEN-ROSCOESche Reziprozitätsgesetz nicht mehr gilt, welches besagt, daß der Belichtungseindruck auf der fotografischen Schicht dem Produkt von Lichtmenge und Belichtungszeit entspricht. Seit Schwarzschilds Entdeckung wissen die Fotografen, daß das nur für mittlere Lichtintensität und für mittlere Einwirkungszeit stimmt. Bei sehr geringer Lichtintensität, die eine lange Belichtungszeit erfordert, tritt der Schwarzschildeffekt auf: Der Belichtungseindruck auf dem Film ist um so schwächer, je geringer die Lichtintensität ist. Die meisten Belichtungsmeßzellen und elektronischen Schaltungen moderner Spiegelreflexkameras berücksichtigen den Schwarzschildeffekt bei der Belichtungszeitsteuerung kaum. Da aber der „Schwarzschildsche“ Verlängerungsfaktor für beinahe jeden Film verschieden ist, muß man sich bei langen Belichtungszeiten (ohne Blitzlicht) Gedanken darüber machen. Besonders hohe Verlängerungsfaktoren haben Tageslichtfilme, deren Schwarzschildverhalten auf kurze Belichtungszeiten von etwa  $1/100$  s optimiert sind. Die Faktoren sind meist in den Beipackzetteln angegeben, mitunter aber nur in den separat beim Filmhersteller erhältlichen Technischen Daten.

Hinzukommt, daß der Schwarzschildsche Faktor bei Farbfilmen für jede Farbschicht anders ist, weshalb Belichtungszeiten über 1 sec häufig auch Farbverschiebungen hervorrufen.

Eine TTL-gesteuerte Mikroblitzeinrichtung ist deshalb bei Verwendung des preiswerten Tageslichtumkehrfilms anzuraten.

Farbnegativfilm wird für die Mikrofotografie nicht empfohlen, denn beim Herstellen von Farbvergrößerungen fehlen für die Einstellung der automatischen Printer im Entwicklungslabor die üblichen mitteleuropäischen Hauttöne, das Gras und der blaue Himmel in den Mikrofotos, anhand derer eine Farbkorrektur vorgenommen werden kann.

#### Zur Qualität von Mikroaufnahmen

Weder die technische noch die gestalterische Qualität einer mikrofotografischen Aufnahme kann eine Funktion der Aufnahmetechnik sein. Die technischen Schwierigkeiten bei der Aufnahme darf man im gelungenen Bild nicht erkennen. Das ist eine Minimalforderung, in der Mikrofotografie nicht anders als in der „normalen“ Fotografie. Daß es sich bei Mikrofotos um Sachaufnahmen handle, die lediglich Information vermitteln, aber keinen gestalterischen Anspruch befriedigen sollten, trifft in keiner Weise zu. Schon immer haben sich viele Wissenschaftler und Amateure gleichermaßen zum Ziel gesetzt, die Schönheiten des Mikrokosmos in auch in formal ansprechenden Fotografien zu zeigen. Die alte Ausrade, daß Sach-

aufnahmen nicht schön sein müßten, zieht nicht angesichts der vielen hervorragenden Architektur-, Tier-, Mode-, Food- oder Industrieaufnahmen, die täglich veröffentlicht werden. Doch selbst bei Sachaufnahmen, die tatsächlich nichts anderes im Sinn haben als reine Informationsvermittlung, gelten Ausreden nicht: Es gibt nur gute und schlechte Fotografien. Darüber hinaus kann eine gute auch schön sein, eine harmonische oder interessante Bildgestaltung aufweisen. Das ist ja nicht verboten. Für alle Mikroaufnahmen, die neben der Darbietung des reinen Informationsgehalts (in gefälliger Form!) auch noch das Schönheitsempfinden des Betrachters ansprechen sollen, gelten selbstverständlich die allgemeinen Regeln fotografischer Bildgestaltung. Doch aus ihnen für die Mikrofotografie sozusagen Rezepte abzuleiten, ist kaum möglich, weil die Regeln, die alle aus der Malerei stammen, Bilder der dreidimensionalen „großen Welt“ zum Gegenstand haben. Sie gelten bereits für bildmäßige Makrofotos nur mit gewissen Einschränkungen. Doch auch wenn ein Makro- oder Mikrofoto gewisse Regeln verletzt, kann es allein durch die große Darstellung ungewöhnlicher, sonst nicht sichtbarer, winziger Dinge eine starke Wirkung ausüben. Doch macht ein guter Bildinhalt noch lange kein gutes Bild.

Wer seine Mikrofotos nur zum eigenen Vergnügen anfertigt und deshalb keine Ansprüche an technische und gestalterische Qualität stellt, sozusagen genügsam ist, sollte dann aber auch so konsequent sein, sie wirklich niemandem zu zeigen. Es gibt kein Grundrecht darauf, seine Mitmenschen mit schlechten Fotos zu belästigen und zu quälen, auch nicht im privaten Bereich oder im Internet.

Wer jedoch Fotos veröffentlicht, im Lichtbildervortrag, im Internet oder im Druck, stellt sich sozusagen öffentlich der Konkurrenz und muß darauf gefaßt sein, daß die Betrachter vergleichen und anders werten als der Fotograf. Ob dessen Digitalkamera keinen Weißabgleich beherrscht, das Foto eigentlich nur so nebenbei entstanden ist, sein Mikroskop keine Qualitätsoptik hat, interessiert den Betrachter keinen Deut. Er stellt nur fest, daß da offensichtlich ein Pfuscher am Werke war und wendet sich ab.

**Drei Grundregeln** gelten immer und überall.

Die Grundregel für die fotografische Technik

Die Technik muß beherrscht werden, gleichgültig, ob Aufnahme-, Dunkelkammer- oder Digitaltechnik. Ein dunkler Bilduntergrund bei einer Hellfeldaufnahme ist ein Kunstfehler, eine Falschbelichtung, ungleichmäßige Beleuchtung und schlechte Ausleuchtung ebenfalls. Da gelten keine Ausflüchte. Farbige Ränder haben an farblosen Objekten nichts zu suchen.

Die Grundregel für den Informationsinhalt

Jede Sachaufnahme muß auf Anhieb erkennen lassen, warum sie überhaupt gemacht wurde, was an dem Objekt wichtig oder interessant ist. Wenn das schwierig ist oder sich das Bild an Laien richtet, muß eine kurze Erläuterung für den Aufschluß sorgen.

Die Grundregel für die Bildgestaltung

Wenn ein Bild ganz offensichtlich nicht nur die Schönheit der Farben und Formen zeigen soll, sondern (auch) eine Sache darstellt, also eine Sachaufnahme ist, huscht das Auge des Betrachters, anders als in einer Gemäldegalerie, nicht über das Bild hin und her, sondern tastet es intensiv Detail für Detail ab, will die interessante Stelle, einen Blickfang sehen und ihn als zentrale Anlaufstelle definieren. Unser Großhirn will das so. Makro- und Mikrofotos sind ausnahmslos Sachaufnahmen, deshalb muß jedes Foto stets an irgendeiner Stelle wirklich scharf sein, meist an einer sachlich wichtigen Stelle in der Bildmitte oder nicht fern von ihr. Fehlt die scharfe Stelle oder ist sie nicht scharf genug, so wird der Eindruck immer unbefriedigend sein, gleichgültig, wie gekonnt das Foto in anderer Hinsicht sein mag.

Daß ein Bild mehr sagt als tausend Worte, gilt nur für gute, schlechte bleiben in der Regel stumm.

#### 4.4.2.2 Die Kamerateypen für die Mikrofotografie

Wenn man die Mikrofotografie als Vorrichtung zum Auffangen eines von einem Mikroskop erzeugten reellen Bildes ansieht, so ist sie quasi schon lange vor der Fotografie erfunden worden. Unter der Bezeichnung „Sonnenmikroskop“ hat man in der zweiten Hälfte des 18. Jh. Vorläufer des späteren Projektionsmikroskops benutzt, um auf einem Projektionsschirm ein reelles Bild aufzufangen. 1840 zeigte dann A. DONNE die ersten Mikroaufnahmen vor der Akademie der Wissenschaften in Paris, angefertigt mit rein fotografischen Methoden der Daguerreotypie. Seit dieser Zeit ist kein Kamerateyp und kein fotografisches Verfahren erfunden worden, das nicht auch sofort in der Mikrofotografie angewandt worden wäre. Schon der mikrofotografische Apparat von MEYER 1844 ähnelte sehr einer heutigen Aufsetzkamera.

Kaum ein Kamerateyp ist in der Mikrofotografie völlig außer Gebrauch gekommen. Auch heute noch werden für besondere Aufgaben Großbildkameras mit den Filmformaten 13 x 18 cm oder gar 18 x 24 cm

verwendet, doch beschränkt man sich meist auf Formate in der Größenordnung von 9 x 12 cm und vor allem auf das Kleinbildformat 24 x 36 mm. Das Kleinbildformat ist wirtschaftlich und genügt allen üblicherweise gestellten Anforderungen. Die moderne, arbeitserleichternde Elektronik der heutigen Kleinbildkameras erleichtert dem Mikrofotografen die Arbeit sehr. Lesen Sie dazu die Aufsätze, die im Kapitel 4.4.2.1 aufgeführt sind.

#### 4.4.2.3 Anpassung von Mikroskop und Kamera

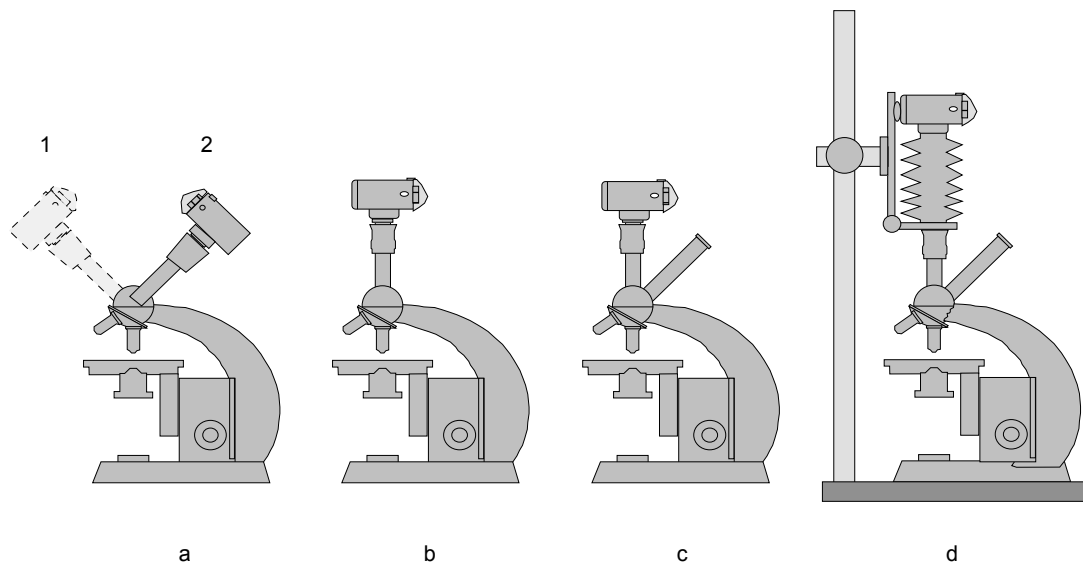
bei Verwendung einer einäugigen Kleinbild-Spiegelreflexkamera (SLR)

Dieser Beitrag beschreibt die notwendigen Grundlagen knapp und gibt sodann eine ausführliche Praxis-Anleitung für die Feinabstimmung. Dabei werden einige optische und mechanische Anpaßteile aus dem Lieferprogramm der Firma Göke – Mikroskopie, Hagen, erwähnt, deren Beschreibung der Broschüre G. GÖKE: Mikroskop und Kamera. Mikrofotografie und Videomikroskopie. 3. Aufl., Hagen 2001 entnommen sind. Denn wenn die Teile und ihre Funktion konkret benannt und bekannt sind, fällt es auch dem noch unerfahrenen Mikroskopiker leichter, bei Bedarf auch entsprechende Teile anderer Hersteller in deren Listen zu identifizieren und die Lösungen zu vergleichen.

Interessierten Lesern empfehle ich die genannte Broschüre von Herrn Göke, die viel Wissenswertes enthält, das über den Rahmen dieses Aufsatzes hinausgeht.

##### (1.) Die mechanische Anpassung

Die heutigen aufrechten, also normal gebauten Mikroskope bieten im Grunde die vier folgenden Möglichkeiten, eine Kamera anzubringen.



**Bild 1**

**1.a** Am monokularen Schrägtubus. Bei den meisten Mikroskopen führt diese Befestigungsart zu einer verminderten Stabilität des ganzen Aufbaus, besonders in Stellung 1.

**1.b** Am monokularen senkrechten Tubus.

**1.c** Am senkrechten Fototubus eines binokularen oder monokularen Beobachtungstubus

**1.d** Am senkrechten Tubus wie C, aber ohne feste Verbindung zwischen Kamera und Mikroskop; mit Lichtschleuse am Balgen.

Bei 1.a, 1.b und 1.d erfolgt die Scharfeinstellung des Bildes über die Einstellscheibe in der Kamera.

Bei 1.c ist das ebenfalls möglich, praktischer ist jedoch hier die Scharfstellung im Beobachtungsookular.

Bei 1d sollte nicht im Beobachtungsookular fokussiert werden, weil wegen des variablen Balgenauszugs eine dauerhafte Abstimmung zwischen Beobachtungs- und Fotookular nicht gewährleistet ist.

Bei der Anordnung 1.a, 1.b und 1.c kann man eine Kamera mit oder ohne Kameraobjektiv verwenden.

##### (1.1) Die Verwendung der Kamera mit eigenem Objektiv



Obwohl die optische Abstimmung mit Kameraobjektiv besonders einfach ist, empfiehlt sich dieser Weg im allgemeinen nicht. Im Falle 1.a wird die ungünstige Schwerpunktlage des Aufbaus infolge des zusätzlichen Objektivgewichts noch labiler. Außerdem ist zu beachten:

- Das Kameraobjektiv muß, weil das Mikroskopokular ein Bild im Unendlichen entwirft, stets auf Unendlich eingestellt sein. Wird es das nicht, so wird bei der Scharfeinstellung das Mikroskop "umfokussiert", also falsch eingestellt, damit man ein scharfes Bild erhält. Die Mikroskopobjektive werden dann nicht so benützt, wie sie der Konstrukteur berechnet hat, und es kann leicht zu Qualitätseinbußen im Bild kommen.
- Die Austrittspupille des Mikroskops soll an der Stelle der Eintrittspupille des Kameraobjektivs liegen, zumindest sollen beide Pupillen nahe beieinander liegen. Bei vielen modernen SLR-Objektiven ist diese Bedingung nicht erfüllbar, weil die Eintrittspupille zu tief im Innern der Objektivfassung liegt.
- Die Objektivblende muß ganz geöffnet werden, damit die Randstrahlen nicht abgeschnitten werden.
- Das Bild ist bei einem Normalobjektiv von 50 mm kreisrund, man verschenkt viel Filmfläche von dem ohnehin nur kleinen Format, das als Dia sowieso nur 23 x 34,5 mm mißt. Man müßte deshalb ein Kameraobjektiv längerer Brennweite nehmen, dessen Bildwinkel kleiner ist als derjenige des für die Aufnahme verwendeten Okulars.
- Man handelt sich nicht selten durch die vielen Linsen des Kameraobjektivs Reflexe ein, die das Bild verderben, weil sie es insgesamt flau machen oder selbst im Bild zu sehen sind – z. B. als „Hot Spot“.

Insgesamt ist also diese Methode nicht ideal. Trotzdem kann sie gelegentlich gut funktionieren, wenn alle Details zufällig zusammen passen!

### (1.2) Die Verwendung der Kamera ohne eigenes Objektiv

Die Anordnung 1.d wird benützt, wenn die optische Kameralänge variabel sein oder ein vorhandenes Reprogstell mit Balgengerät verwendet werden soll. Je nach Länge des Balgenauszugs ergeben sich unterschiedliche Vergrößerungsfaktoren. Das kann bei besonderen Anforderungen zweckmäßig sein. Doch handelt man sich bei dieser Methode Unsicherheit und Umständlichkeit bei der Bestimmung des gewünschten oder erzielten Abbildungsmaßstabs ein. Auch ist der gesamte Aufbau etwas tüftelig. Zwischen Balgen und Fotookular muß eine Manschette mit Lichtfalle sitzen, die verhindert, daß Streulicht aus der Umgebung auf den Film gerät. Zwischen Kamera und Mikroskop existiert dann keine mechanische Verbindung. Man kann auch den Balgen überhaupt weglassen und statt seiner nur eine Lichtschutzmanschette ausreichender Länge verwenden.

Diese Anordnung wurde bei SLR-Kameras früher sehr empfohlen, weil es damit möglich sei, die Übertragung der Spiegel- und Schlitzverschlußvibrationen auf das Mikroskop zu vermeiden. Wie Untersuchungen von BERGNER, GELBKE und MEHLISS (1973) jedoch gezeigt haben, hängt das Entstehen von Vibrationen mehr vom Kameratyp ab. Die Vibrationen lassen sich bei der SLR prinzipiell nicht unterdrücken, dabei ist ausschlaggebend, daß die Kamera selbst vibriert, nicht ob sie mit dem Mikroskop mechanisch locker oder fest verbunden ist. Lesen Sie dazu den Aufsatz Verwackelt und verzittert in der MVM-Homepage. Insgesamt hat diese Anordnung für den Normalfall keinerlei technische Vorteile. Allerdings kann man sich eine einfache Lichtschutzmanschette mit Lichtfalle leicht selbst basteln.

Die Anordnung 1.b ist eine preiswerte Variante, wenn nur selten oder jeweils wenige Aufnahmen zu machen sind. Steht das Mikroskop auf einem Tisch üblicher Höhe, muß man im Stehen fotografieren.

Die Anordnung 1.c ist die komfortabelste, weil man den Kamerasucher nicht zum Scharfeinstellen braucht. Man beobachtet ganz normal durch das Okular und löst die Kamera wie beiläufig aus. Es wird ein binokularer Fototubus (Trinokular) oder ein monokularer Fototubus benötigt. Monokulare werden nur noch von wenigen Mikroskopherstellern angeboten (z. B. von Göke, Hagen). Die hohe Aufnahmebereitschaft durch diese Anordnung zahlt sich aus, wenn lebende und schnellbewegliche Wasserorganismen fotografiert, aber auch wenn viele Detailaufnahmen mit wechselnden Abbildungsmaßstäben gemacht werden sollen. Es ist aber unbedingt erforderlich, daß die Einstellenebenen des Okulars und der Kamera zueinander konjugiert sind, d. h. **wenn man das Objekt im Beobachtungsookular scharf sieht, muß auch ein scharfes Bild auf dem Film entstehen.** Diese Abstimmung klappt auf Anhieb nur, wenn man dabei einige Regeln beherzigt.

Den Kundendienst des Mikroskopherstellers zu rufen, um diese Abstimmung fachkundig machen zu lassen (und die Rechnung zu bezahlen), führt nicht immer zum Ziel, wie wir aus unserer "Beratungspraxis"

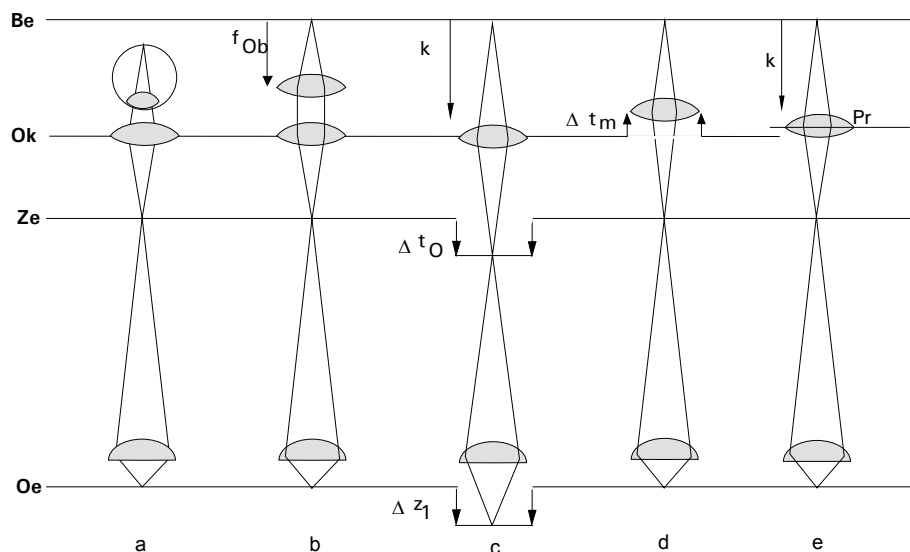
in Sachen Mikrofotografie wissen; es ist eine bedauerliche Tatsache, daß selbst Vertriebs- und Serviceleute oftmals überfordert sind, wenn der Mikroskopiker auch nur in einem unscheinbaren Detail von den Normalbedingungen abweicht. Die *Normalbedingungen*: Verwendung einer Aufsetzkamera aus dem Programm des Mikroskopherstellers mit allen dazugehörigen Anpaßteilen samt Original-Fotookular sowie Rechtsichtigkeit des Mikroskopikers. Daß die Mikroskophersteller kein gesteigertes Interesse daran haben, in minutiösen Anleitungen zu beschreiben, wie man eine preiswerte SLR-Kamera (evtl. einer Konkurrenzfirma) einwandfrei an die eigenen Mikroskope adaptiert, anstatt einer Mikrofoto-Einrichtung eigener Herstellung für 2.000 bis 15.000 Euro, liegt auf der Hand. Doch ergibt eine einfache Anordnung mit der SLR keine schlechteren Aufnahmen als mit solchen Supereinrichtungen, ja sie bietet oftmals sogar größeren Komfort.

Für alle Arten der mechanischen Anpassung sind bei den Mikroskopherstellern und im Handel Zwischentuben, Zwischenringe, Tubusklemmen usw. erhältlich, die auf den Okulartubus gesetzt und dort festgeklemmt werden. Manche Hersteller liefern die Tuben mit Ringschwalbe, die in eine Ringschwalbenaufnahme des Tri-Tubus paßt (PZO). Welchen man verwenden muß, hängt z. B. von der Konstruktion des binokularen Fototubus ab. Die sogenannten Mikroskopadapter, die von den Kameraherstellern oder im Fotohandel angeboten werden, sind mit Vorsicht zu genießen. Sie sind, wahrscheinlich aus Unkenntnis der optischen Gegebenheiten, meist zu kurz gebaut. Nicht daß man mit ihnen kein Bild auf dem Film zustande brächte, aber die unvermeidlichen Abbildungsfehler, die jedem Objektiv mehr oder weniger anhaften, können bei zu kurzen Tuben störend in Erscheinung treten.

## (2.) Die optische Anpassung

### (2.1) Die grundlegenden Methoden

Die verschiedenen Möglichkeiten der optischen Anpassung zeigt die folgende Skizze.



**Bild 2**

**Be** Bild- bzw. Filmebene. **f<sub>Ob</sub>** Brennweite des Kameraobjektivs. **k** optische Kameralänge. **Oe** Objektebene. **Ok** Okular. **Pr** Projektiv. **Ze** Zwischenbildebene.

Das Mikroskopobjektiv – und bei systemintegrierter Bauweise (Unendlich-Optik) das System Objektiv + Tubuslinse – erzeugt (je nach Hersteller 10 bis 18 mm unterhalb des oberen Tubusrandes) ein reelles Zwischenbild. Es wird dann, wie in Bild 2 dargestellt, vom Okular oder Projektiv abgebildet.

- 2.a Visuelle Beobachtung des reellen Zwischenbildes mit dem Auge durch ein Okular – wie mit einer Lupe.
- 2.b Das reelle Zwischenbild wird mit einem (auf Unendlich eingestellten) Fotoobjektiv in die Filmebene abgebildet.
- 2.c Das reelle Zwischenbild wird mit einem normalen Okular in die Filmebene projiziert. Dabei wird das Mikroskop "umfokussiert", sein Tubus angehoben. Das Mikroskopobjektiv hat dann einen größeren Abstand zum Objekt, als es seiner Berechnung entspricht, damit in der Bildebene ein scharfes Bild

entsteht. Das ist jedoch mit einer Verkürzung der optischen Tubuslänge verbunden, was wegen Unterkorrektur zur Verstärkung der sphärischen Abbildungsfehler und zur Qualitätsminderung führt.

- 2.d Mit einer Tubusverlängerung wird die Umfokussierung gemäß 2.c vermieden. Das geschieht sehr einfach durch Anhebung des Okulars um einen bestimmten Betrag, indem man einen entsprechend hohen Distanzring über die Okularsteckfassung schiebt – oder einen stramm sitzenden O-Ring; siehe Abschnitt (2.2.2).

Bei sogenannten Fotookularen ist die "Schulter" der Okularfassung (der Teil der Fassung, der auf dem Tubusrand aufsitzt) in der Regel bereits nach unten verlängert, so daß sie nicht angehoben werden dürfen, wenn sie mit der vorgesehenen optischen Kameralänge  $k$  verwendet werden.

- 2.e Für die Mikrofotografie werden schwache Projektive von 2,5:1 bis 6,3:1 angeboten (selten stärker), die eine positive Brennweite haben und für eine bestimmte optische Kameralänge  $k$  berechnet sind (oft  $k = 125$  mm). Das reelle Zwischenbild wird mit Projektiven in die Filmebene abgebildet. Bei ihrer Verwendung braucht man den Tubus nicht zu verlängern, weil das bereits bei ihrer Konstruktion berücksichtigt ist. Es werden auch Projektive mit negativer Brennweite angeboten. Ihr Sinn liegt darin, daß sich mit ihnen eine sehr geringe Gesamthöhe von Mikroskop und Kamera erzielen läßt. Das macht den Aufbau weniger empfindlich für Erschütterungen und Vibrationen aller Art. Weil dabei auch die Kamera direkt in Augenhöhe liegt, kann man einen Winkelsucher ansetzen und ohne Aufstehen oder Halsverrenkungen das Bild auf der Einstellscheibe der Kamera begutachten. Soweit mir bekannt ist, werden Projektive mit negativer Brennweite heute nur von PZO gebaut und von Göke geliefert.

Anstelle eines Original-Kameraobjektivs kann sich im Strahlengang zwischen Okular oder Projektiv und der Filmebene ein zusätzliches Linsensystem, z. B. eine Großfeldlinse befinden, das als Kameraobjektiv fungiert. Es verringert den Übertragungsfaktor, d. h. den Abbildungsmaßstab auf dem Film. In den meisten Fällen ist das durchaus erwünscht, weil man sonst mit der beim Kleinbildformat immer notwendigen Nachvergrößerung oder Projektion auf eine Leinwand die förderliche Vergrößerung des Endbildes leicht erheblich überschreitet. Außerdem läßt sich das geebnete Zwischenbild eines Planobjektivs besser nutzen. Göke bietet eine solche achromatische Großfeldlinse von 63 mm Brennweite an, die sich in den ebenfalls von ihm gelieferten Mikrofotowischentubus schrauben läßt. Die Linse hat eine Fassung, in der sich zwei einander gegenüber liegende Löcher befinden. Man kann dort die Enden einer spitzen Zange einstecken und durch Drehen der Fassung diese Linse etwas fokussieren. Technisch notwendig ist aber eine solche Großfeldlinse nicht.

Ein wichtiges Maß ist die optische Kameralänge, das ist die Entfernung der Filmebene von der Austrittspupille des Mikroskops oberhalb des Fotookulars. Sie soll mindestens 125 mm betragen, weil sich sonst sphärische Bildfehler stärker bemerkbar machen können. "Wird eine Entfernung des oberen Tubusrandes zur Filmebene von 147 mm eingehalten, so können ohne wesentliche Einbußen an Bildgüte bei der Mikrofotografie sowohl stärkere Okulare herkömmlicher Bauart als auch spezielle Projektive verwendet werden. Offensichtlich aus Unkenntnis der optischen Gegebenheiten bauen die meisten Kamerahersteller ihre Mikrozwisehenstücke zu kurz." (GÖKE, G.: *Mikroskop und Kamera. Aufbau einfacher mikrofotografischer Einrichtungen*. In: MIKROKOSMOS 70 (1981) 118-126.).

Die von Göke damals genannten 147 mm kamen einfach dadurch zustande, daß weit verbreitete Okulare eine "Schulterhöhe" von etwa 22 mm hatten:  $125 + 22 = 147$ . Da aber inzwischen Okulare mit einer Schulterhöhe von bis zu 50 mm auf dem Markt sind, muß man wohl die 147 mm auf 175 mm korrigieren, um generell "auf der sicheren Seite zu liegen"!

Anstatt dieses „sichere“ Hilfsmaß zu verwenden, halte ich es aber für besser, die Lage der Austrittspupille selbst festzustellen. Das kann man nämlich mit der notwendigen Genauigkeit, wenn man die Mikroskopbeleuchtung am Trafo etwas stärker aufdreht und über das Okular ein Stück Pergamentpapier, ein "Mattfilter" oder etwas anderes, was als Mattscheibe dienen kann, mit der matten Seite nach oben über das Okular hält. Man sucht dann diejenige Höhe, bei welcher der auf der Mattscheibe sichtbare Lichtfleck seinen kleinsten Durchmesser hat – dann ist er auch am hellsten. Das ist der RAMSDENSche Kreis, dort liegt die Austrittspupille. Von dort sollten es also mindestens 125 mm zur Filmebene sein. Das ist die kürzest-vernünftige Distanz. Es darf gerne weiter sein, viel weiter sogar. Doch wird dabei die optische Kameralänge nicht nur unhandlich, sondern sie macht mit jedem zusätzlichen Zentimeter den gesamten Aufbau auch vibrationsanfälliger. Außerdem kann es bei (zu) kleinen Kameralängen vorkommen, daß der Verstellbereich von Okularen mit Einstellfassung zum Scharfstellen der Okularstrichplatte oder (beim anderen Okular) zum Ausgleich des Sehschärfeunterschiedes beider Augen nicht ausreicht.

Sich an die Mindestentfernung von 125 mm zu halten, ist also keine Prinzipienreiterei, sondern einfach praktisch. Noch mehr Praxis: 125 mm ist die Hälfte von 250 mm, der Bezugsentfernung für die Vergrößerungsangaben von Okularen. Man kann alle entsprechenden Berechnungen mit dem Faktor 0,5 machen, einfacher geht es nicht. Näheres dazu bei GÖKE (2001).

## (2.2) Die Voraussetzungen der Anpassung von Mikroskop und Kamera

Die folgenden Teile müssen vorhanden sein.

### (2.2.1) Tubus

Binokularer Fototubus (Trinokularer Tubus), mit oder ohne Stützen mit Einstellfassung. Aber auch ein monokularer Fototubus mit eigenem Fotoausgang ist erhältlich: Er hat einen Schrägeinblick für das Auge, ein Umlenk- und Teilerprisma und ein senkrecht Tubusrohr für die Kamera; das ist wesentlich billiger als ein Tri-Tubus. Auch die Abstimmung ist dann einfacher. (Göke, Hagen, bietet einen solchen Mono-Fototubus mit Teilungsverhältnis 50:50 an.)

### (2.2.2) Beobachtungsokular(e)

Zwei Okulare mit Fokussierfassung. Das Okular ohne Formatstrichplatte kann auch durch einen fokussierbaren Okularstützen im Tubus eingestellt werden, für ein Okular mit einer Format- oder anderen Strichplatte braucht man aber die Fokussierfassung. Mit ihr verstellt man die Augenlinse oder – bei Kompensationsokularen nach dem orthoskopischen Typ, bei denen die gesamte Linsengruppe vor der Sehfeldblende des Okulars liegt – die gesamte Linsengruppe. Sind weder Okulare noch Tubus fokussierbar, kann man sich mit O-Ringen aus dem Baumarkt behelfen, runden Gummi-Dichtungsringen für Installateure. Man nimmt z. B. solche mit 23 mm Durchmesser und zieht sie über die Okulareinsteckfassung. Obwohl sie stramm sitzen, kann man sie in der Höhe leicht verstellen, weil sie sich "rollen" lassen. Auf diese Weise kann man einen Abgleich vornehmen, bis visuelles und fotografisches Bild gleichzeitig scharf sind. Natürlich kann man die Okulare auf diese Weise aus der Normalstellung nur anheben, nicht absenken, aber in den meisten Fällen kommt man damit zum Ziel.

### (2.2.3) Formatstrichplatte

Formatstrichplatte für Kleinbildformat 24 x 36 mm in einem der beiden Okulare. Näheres dazu in Abschnitt 3. Der Bildausschnitt auf der Strichplatte und das tatsächliche Filmformat stimmen in der Regel nur überein, wenn vom Mikroskophersteller eine entsprechende Einrichtung, bestehend aus Fototubus, Beobachtungs- und Fotookular, abgestimmt wurde. Die Formatstrichplatte kann sich nur auf ein bestimmtes Fotookular beziehen, das dann immer verwendet werden muß. Das ist sehr komfortabel. Doch man muß eine andere Methode wählen, wenn man mehrere Okulare oder Projektive mit unterschiedlichen Vergrößerungen benutzen will. Man kontrolliert dann den tatsächlichen Bildausschnitt im Kamerasucher und verzichtet auf eine Strichplatte im Beobachtungsokular. Statt dessen kann man ein Okularmikrometer (oder eine beliebige andere Strichplatte) ins Okular einlegen. Das empfiehlt sich besonders für jüngere Menschen, damit ihre Akkomodation unterbunden wird, das Auge nicht ständig zwischen einem Nah- und einem Fernpunkt pendelt und dem Hirn auf diese Weise eine Bildschärfe vortäuscht, die in Wirklichkeit nicht vorhanden ist.

Mit welchem Auge soll scharfgestellt werden, für welches Auge ist die Formatstrichplatte bestimmt? Die meisten Menschen werden sich spontan für das rechte Auge entscheiden, es ist nämlich in den weitaus meisten Fällen das sogenannte "Leitauge". Auch bei Linkshändern ist es meistens das rechte.

### (2.2.4) Okular oder Projektiv für die Fotografie

- Normales Okular, das im Fototubus angehoben werden muß. Oder:
- Fotookular: ein Okular von normalem optischem Aufbau, z. B. ein Kompensations- oder komplanatisches Okular, dessen "Schulter" jedoch so hoch gebaut ist, daß es dadurch bereits "angehoben" ist. Die Bezeichnung Fotookular kann nur der Mikroskophersteller vergeben.
- Projektiv: ein Projektionsokular, das für eine bestimmte optische Kameralänge  $k$  berechnet ist – meist 125 mm. Die vorgesehene optische Kameralänge muß nicht übertrieben genau eingehalten werden, weil die große bildseitige Schärfentiefe hier eine Ungenauigkeit kompensiert.

Ein 10faches Okular wirkt wie ein 5faches Projektiv, ein 20faches wie ein 10faches usw.

Zwar kann im Fototubus ein beliebiges Okular verwendet werden, doch sollte es für die Fotografie qualitativ hochwertig sein, damit es nicht zusätzliche Bildfehler verursacht. Allerdings muß dann der Fototubus

um einen gewissen Betrag verlängert werden, damit das Okular ein scharfes Bild auf der Filmebene entwirft. Die Verlängerung geschieht auf einfache Weise durch einen kleinen "Kragen", einen Zwischenring, den man einfach auf die Einsteckfassung des Okulars schiebt, so daß er es um das notwendige Maß anhebt. Auch ein O-Ring ist gut verwendbar. Die notwendigen Verlängerungen bei einer Kameralänge von 125 mm sind: bei einem Okular 6,3 x → 12,6 mm; 8 x → 8 mm; 10 x → 5 mm; 12,5 x → 3,2 mm; 16 x → 2 mm.

Für andere Kameralängen berechnet man die notwendige Verlängerung der mechanischen Tubuslänge (Betrag der Okularanhebung) wie folgt:

$$\Delta t_m = f^2_{Ok} : k.$$

$$\Delta t_m = f^2_{Ok} : k.$$

$f$  ist die Brennweite des Okulars. Man errechnet sie, indem man die Bezugssehweite von 250 mm durch die Okularvergrößerung teilt. Ein 12,5faches Okular hat also die Brennweite von 20 mm.  $k$  ist die optische Kameralänge, die man mißt, wie unter 2.1 erklärt ist.

Wenn möglich, sollte man lieber ein Fotookular oder ein Projektiv verwenden, das für die Fotografie optimiert ist. Das Fotookular ist mechanisch (Schulterhöhe) und das Projektiv optisch auf eine bestimmte optische Kameralänge berechnet. Besonders die Verwendung von Projektiven hat Vorteile.

In allen Fällen achte man darauf, daß es sich um ein Okular oder Projektiv handelt, das für die Kombination mit den verwendeten Objektiven von deren Hersteller ausdrücklich empfohlen wird, weil es ja bei herkömmlicher Endlichoptik Restfehler der Objektive korrigiert und bei neuer Unendlichoptik die Korrektur von Objektiv + Tubuslinse zumindest nicht verschlechtern soll.

### (2.2.5) Mikrozwisehenstück und Einstellschnecke

Zwischentubus zum Befestigen am senkrechten Fotoausgang des Trinokulars. Kann das Mikrozwisehenstück nicht mit einfacher Tubusklemme in seiner Höhe auf dem Tubus verschoben werden, so muß man auf andere Weise für eine Möglichkeit der Höhenabstimmung sorgen, zum Beispiel mit einer Einstellschnecke, wie sie von der Firma ZÖRKENDÖRFER in München geliefert wird. Die ist jedoch recht teuer. Bastler können auch auf einer Fotobörse für wenig Geld ein altes Fotoobjektiv erwerben und die Linsen und die Blende entfernen. Auf diese Weise entsteht eine brauchbare Einstellschnecke. Problematisch sind die Gewindeübergänge bzw. Gewintheadapter. Doch helfen bei solchen Anpassungen Umkehrringe, die man in das Objektiv-Filtergewinde schraubt, ein "Mikrofreund mit Drehbank" oder eine Tube Metallkleber. Der Metallkleber bewährt sich auch zur Fixierung einer Einstellschnecke, wenn man bei der Abstimmung die endgültige Längeneinstellung gefunden hat (siehe unten). Andernfalls ist es lästig, wenn man die Längenabstimmung bei jeder Verwendung der Mikrokamera von neuem machen muß, weil man nie sicher sein kann, daß man die Gewindeschnecke nicht versehentlich verstellt hat.

### (2.2.6) Kleinbild-Spiegelreflexkamera

Kleinbild-Spiegelreflexkamera (SLR) 24 x 36 mm. Welche geeignet sind, wurde bereits früher in  $\mu$  in zwei Aufsätzen beschrieben: *Was muß und sollte meine Mikrokamera können?* in  $\mu$  2/1999 (Juni) und *Die ideale Kamera für die Mikrofotografie?* in  $\mu$  16 (Sept. 1999). Diese beiden Aufsätze sind auch auf der MVM-Homepage.

### (3.) Die visuelle Abstimmung

Es ist günstig und erspart Probleme, wenn der Mikroskophersteller das Mikrozwisehenstück mitsamt Kamerabajonett und eventuellem Spezialobjektiv und Fotookular (oder Projektiv) komplett liefert und abstimmt und dabei das Auflagemmaß der Kamera berücksichtigt. Sonst muß man sich selbst darum kümmern. Auflagemmaß: Die "Dicke" des Kameragehäuses, und zwar die Entfernung der Filmebene von der Objektivauflagefläche des Objektivanschlußbajonetts. Dieses Maß ist bei den meisten Kameras unterschiedlich; Beispiele: Leica M: 27,8 mm; Leica Gewinde: 28,8; Leica R: 47; M42- Pentacon: 45,5;

Canon: 42; Exakta: 44,7; Minolta: 43,5; Nikon: 46,5; Olympus OM: 46,0; Pentax: 45,5; Revue/Porst: 45,5; Petri/Ricoh: 44,5; Yashica/Contax: 45,5; Bronica 6x6: 86; Hasselblad: 74,9; Rollei: SL66 102,4, Rollei SLX: 74; Mamyia 4,5x6: 63,5.

Für Mikroskope mit einem Fototubus, der in dem üblichen Okulartubus mit 25 mm Außendurchmesser endet, liefert Göke ein Mikrozwisehenstück, das mit einer Tubusklemme am Okularrohr befestigt und auf das die Kamera mit einem T2-Adapter aus dem Fotohandel gesetzt wird. Auch eine Großfeldlinse kann in das obere Ende des Mikrozwisehenstücks eingeschraubt werden. Die genannten Teile sind massiv gefert-

tigt (in Deutschland) und erschwinglich. Zirkapreise in Euro: Zwischenstück und Tubusklemme je 26, Großfeldlinse 98. Ein T2-Adapter kostet im Fotohandel je nach Kameratyp zwischen 20 und 30 Euro. Ein Fotookular 10x/SZ, 1,5 aus Japan, das Göke für diesen Fotoansatz vorsieht: 100 Euro. Das Mikrozwi-  
schenstück ergibt eine etwas geringere optische Kameralänge als 125 mm, was bei dem genannten Oku-  
lar berücksichtigt ist. Wenn ein anderes Okular verwendet werden soll, kann ein längeres Mikrozwi-  
schenstück angefertigt werden. Die fehlende Distanz kann aber auch mit einem Kamera-Zwischenring o. ä.  
überbrückt werden. (Ein ähnlicher Ansatz ist für Stereomikroskope erhältlich.)

Wegen der massiv-schweren Ausführung der Tubusteile ist ihre Anbringung gem. Bild 1.a bei vielen klei-  
neren, leicht gebauten Mikroskopen weniger empfehlenswert.

Auch ASKANIA Rathenow (Adresse am Schluß) liefert verschiedene Zwischentuben.

Ist das alles technisch zufriedenstellend bewerkstelligt, kommt die visuelle Abstimmung des Mikroskops.

Keinerlei Probleme bereitet die Abstimmung nach Bild 1.a und 1.b. Hier ist lediglich dafür zu sorgen, daß  
ein normales Okular um den Betrag angehoben wird, der der jeweiligen Kameralänge entspricht. Siehe  
(2.2.4).

Etwas mehr ist zu justieren, wenn ein monokularer Schrägtubus mit senkrechtem Fototubus oder ein  
binokularer Fototubus (Trinokulartubus) verwendet wird. Dazu ist die Reihenfolge der weiteren Schritte  
einzuhalten.

(1) Brillenträger müssen ihre Fernbrille aufsetzen, die Abstimmung könnte bei Fehlsichtigkeit sonst fehl-  
schlagen, besonders bei großem Sehstärkeunterschied beider Augen. Die Folge wären unscharfe Auf-  
nahmen bei Scharfstellung durch die Beobachtungsokulare.

(2) Man beginnt bei einem **Trinokulartubus** mit der Abstimmung der richtigen mechanischen Tubuslän-  
ge. Bei einem Tubus mit Knickbrücke nach Siedentopf (nach Art eines Feldstechers) ist nach der Augen-  
abstandseinstellung dazu nichts weiter notwendig. Bei einem Schiebetubus mit automatischem  
Längenausgleich, bei dem der Augenabstand eingestellt wird, indem die beiden Okularstutzen auf einer  
Schiene gegeneinander verschoben werden, ist nach der Augenabstandseinstellung ebenfalls nichts  
weiter notwendig.

Anders jedoch bei einem Schiebetubus ohne automatischen Längenausgleich. Man liest an einer  
Plus/Minus-Skala am Tubuskopf (meist ein graviertes Rädchen) ab, wie man die Okularstutzen an ihrer  
Strichskala zum Ausgleich der Längenverstellung einstellen muß, damit die vorgesehene mechanische  
Tubuslänge stimmt. Diese Einstellung muß man sorgfältig machen, wenn die Kameraeinstellung richtig  
sein soll.

(3) Jetzt legt man ein Präparat mit kontrastreichen Objektdetails von geringer Tiefenausdehnung (z. B.  
ein Objektmikrometer) unter ein Objektiv mittlerer Stärke, am besten ein 40er, und stellt es scharf ein. So-  
dann wird die Formatstrichplatte oder eine andere Strichplatte im Okular des „Leitauges“ durch Drehen  
der Okulareinstellfassung (nicht des evtl. verstellbaren Okularaufnahmestutzens!) scharf gestellt, so daß  
z. B. alle Linien des Doppelfadenkreuzes sauber getrennt, scharf und kontrastreich zu sehen sind. Wir  
machen das mit entspanntem Auge, und zwar mit demjenigen, das auch hinterher in dieses Okular sehen  
soll. Am besten ziehen wir dazu das Okular aus dem Tubus und halten es wie ein Fernrohr vor das Auge,  
während wir den Kopf aufrecht halten und uns vorstellen, wir blickten auf ein weit entferntes Gebirge. Bei  
Augenfehlern, wie Astigmatismus, kann es vorkommen, daß wir die senkrechten und die waagerechten  
Fadenkreuzlinien nur mühsam oder gar nicht gleichzeitig scharf sehen, zumindest nicht mit gleich gutem  
Kontrast. Keine Panik, das ist nicht schlimm, bleibt in der Praxis fast immer unmerklich und strengt das  
Auge nicht an. Das Okular dann, ohne es zu verstellen, in den (meist rechten – s. o.) Okularstutzen des  
Tubus stecken. Wenn der verstellbar ist, soll er bei Tubusköpfen mit automatischem Längenausgleich  
dabei auf "Null" stehen – nicht das soeben eingestellte Okular!

(4) Schärfe kontrollieren: Scharf eingestellt ist, wenn sich bei leichter Kopfbewegung das Objekt gegen-  
über dem Fadenkreuz nicht verschiebt. Wie man das richtig macht, siehe Aufsatz *Das Luftbild im Faden-  
kreuz* in  $\mu$  2/1999 (Juni), Abschnitt "Die Kontrolle auf Parallaxe". (Aufsatz ist auf der MVM-Homepage.)

Bei dieser Einstellung sollte das freie andere Auge offen, aber abgedeckt sein. Grundsätzlich soll-  
ten alle Justierarbeiten am Mikroskop nicht mit einem zugekniffenen Auge gemacht werden, damit  
sich die Muskelanspannung nicht auf das geöffnete Auge überträgt und eine unerwünschte Akko-  
modation bewirkt.

(5) Nun decken wir das Einstell-Auge ab, blicken mit dem anderen durch dessen Okular und gleichen einen eventuellen Sehstärkenunterschied beider Augen mit dem Okular ohne Strichplatte durch Drehen an dessen Fokussierfassung aus.

(6) Jetzt kommt die Abstimmung der optischen Kameralänge. Wir haben die Kameralänge nachgemessen, wie oben beschrieben. Falls ein normales Okular im Fotostutzen benützt wird, ist es um den entsprechenden Betrag gem. Punkt (2.2.4) zu verlängern.

(6a) Am einfachsten gelingt die Abstimmung, wenn die Kamera mit einer Klarscheibe ausgestattet ist. Ist das nicht möglich, müssen wir sehen, wie wir zurecht kommen. Eine Prismeneinstellscheibe ("Mattscheibe"), mit zwei halbmondförmigen Meßkeilen in der Mitte, ist für diese einmalige Einstellung ebenfalls brauchbar. In diesem Fall müssen wir für das Auge oberhalb des Kamerasuchers eine günstige Position suchen, damit wir einen der beiden Halbmondkeile hell und klar sehen können. (Warum nicht beide gleichzeitig hell sind, wenn die Kamera auf dem Mikroskop befestigt ist, erklärt der schon erwähnte Aufsatz Das Luftbild im Fadenkreuz in  $\mu$  Nr. 20.) Wir bringen jetzt das mit dem Strichplattenokular scharf eingestellte kleine Objekt in die Mitte des hellen Meßkeils und halten dabei vorsichtshalber die Hände von den Einstelltriebknöpfen des Mikroskops fern, damit wir nicht in Versuchung geraten, instinktiv an ihnen zu drehen. Die Scharfstellung im Kamerasucher muß jetzt nämlich durch Heben oder Senken des Fototubus mit der Kamera geschehen. Sollte die Einstellung von vornherein stimmen, wäre das ein Wunder. Wenn der Kamerazwischentubus eine Höhenjustage durch eine veränderbare Klemmposition oder durch eine Justierschraube ermöglicht, ist die Sache wiederum einfach. Beim Verändern der Klemmposition achte man darauf, daß dabei nicht das Fotookular versehentlich aus seiner vorgesehenen Position angehoben wird.

(6b) Wenn der Kameratubus selbst keine Justiermöglichkeit hat, in der Höhe also nicht verändert werden kann, hilft – wie oben bereits ausgeführt – eine Einstellschnecke. Andernfalls müssen wir umgekehrt vorgehen:

Das Präparat mit dem Feintrieb im Kamerasucher scharfstellen. Sodann das Objekt im Strichplattenokular scharfstellen, indem man die Einstellfassung des Okularstutzens (nicht am Feintrieb!) dreht. Hat der Tubus nur starre Stutzen, muß man das Okular auf andere Weise verstellen. In den meisten Fällen wird das Bild scharf, wenn das Okular im Stutzen etwas angehoben wird. Die Höhe wird dann mit einem Zwischenring oder mit einem O-Ring fixiert. Anschließend wird die Strichplatte mit Okular durch Drehen an der Einstellfassung der Okularlinse scharf gestellt. Dann das andere Okular.

(7) Zu Kontrollzwecken wechselt man nun zu einem anderen Mikroskopobjektiv und prüft, ob die Einstellung von Kamera und Beobachtungsookular bei ihm ebenfalls einwandfrei ist. Wenn nicht, hat man ein Problem. Man darf, besonders bei schwächeren Objektiven, nie vergessen, die Parallaxenprobe mit dem Fadenkreuz zu machen! Vorher kann man nie sicher sein, ob wirklich scharf eingestellt ist. Besonders jüngere Menschen haben bei der Einstellung mit schwächeren Objektiven Probleme. Ihre Augenlinse ist nämlich noch in weiteren Grenzen akkomodationsfähig und gleicht eine Fehleinstellung oftmals weitgehend aus. Dann merkt man gar nicht, daß die Einstellung nicht "scharf" ist. Aber der Film in der Kamera registriert es unbarmherzig.

(8) Wenn diese Prüfung einen perfekten Abgleich der beiden Einstellebenen von Okularen und Kamera ergeben hat, ist die reine Justage beendet. Es ist nun zweckmäßig, diese Einstellung so zu "sichern", daß eine versehentliche Verstellung unter normalen Bedingungen auszuschließen ist. Es ist durchaus möglich, daß sie niemals wiederholt werden muß. Aber das ist nicht sehr wahrscheinlich. Notfalls werden unscharfe Aufnahmen einen Hinweis geben, ob sie überprüft werden muß.

(9) Wenn der Fototubus in der Höhe verstellbar ist, kann schon einmal eine Dejustage vorkommen. In diesem Fall geht man bei der **Justierkontrolle** so vor:

Kamera abnehmen, so daß das Fotookular zugänglich ist. Fadenkreuzokular auf das Fadenkreuz scharf stellen. Auf ein Objekt in derselben Ebene scharfstellen und Parallaxenkontrolle mit der Strichplatte machen. Fotookular aus dem Fotostutzen ziehen. Fadenkreuzokular aus dem Tubus ziehen und in den Fotostutzen stecken. Hat das Okular einen Orientierungsstift, mit dem es in eine Kerbe am Stutzen eingeschoben wird, muß dieser Stift zuerst eingeschoben werden, weil ja der Fotostutzen keine Kerbe hat. Bildscharfe mit dem Strichplattenokular, ohne dieses zu verstellen (!), im Fototubus kontrollieren. Wenn das Bild unscharf ist, Fototubus in der Höhe so verstellen, daß das Objekt im Okular scharf ist. Dann die Okulare wieder dort einstecken, wohin sie gehören, und die Kamera wieder aufsetzen.

(10) Es ist nicht sinnvoll, die Strichmarkierungen an den Okularen für deren Einstellung auf die eigenen Augen zu kennzeichnen, damit man die Einstellung schnell wiederherstellen kann, wenn sie einmal ver-

stellt sein sollte, z. B. für einen anderen Benutzer. Die "Sehstärke" unserer Augen verändert sich nämlich im Laufe des Tages, je nach Ermüdung. Deshalb muß man die Einstellung der Okulare stets von neuem überprüfen, sobald man sich ans Mikroskop setzt. Wer das nicht tut und längere Zeit mikroskopiert, riskiert Kopfweh. Und nie vergessen: Wer eine Fernbrille hat, sollte sie für die Justierarbeiten und die Beobachtung am „Foto-Mikroskop“ stets verwenden.

#### Dank

Ich bedanke mich bei Gerhard Göke von der Mikroskopischen Arbeitsgemeinschaft Hagen für seine Geduld bei meinen vielen Fragen und für die zugesandten Unterlagen.

#### Literatur

Michel, K.: Die Mikrofotografie. 3. Aufl., Springer-Verlag, Wien 1967.

Göke, G.: Mikroskop und Kamera. Mikrofotografie und Videomikroskopie. 3. Aufl., Hagen 2001. Preis DM 10, zu beziehen durch Firma R. Göke - Mikroskopie, Am Widey 7, 58095 Hagen, Tel. und Fax 02331 3 17 54.

**Anschrift** von „Askania“: Mikroskop Technik Rathenow GmbH, Grünauer Fenn 40, 14712 Rathenow; Tel.: ++49 (0)3385 53710 --- Fax: ++49 (0)3385 537122; Internet: <http://www.askania.de> ---- eMail: [mikro.ra@t-online.de](mailto:mikro.ra@t-online.de)

### 4.4.3 Filme für die Mikrofotografie und ihre Belichtung

#### Schwarzweiß?

Ich selbst würde für die meisten Aufnahmen, besonders aber solchen von ungefärbten Objekten („Plankton“) einen niedrigempfindlichen Schwarzweißfilm nehmen, z. B. den *Agfapan 25* (APX 25), den Kodak *Technical Pan*, den Ifford *Pan F* oder gar einen Dokumentenfilm. (Als ich das niederschrieb, gab es den APX 25 noch!). Ich würde in *Agfa-Rodinal* entwickeln, einem Negativ-Entwickler, der seit 100 Jahren unverändert geliefert wird. Das machte ich auch gelegentlich so. Meine Negative würde ich dann auf *Record Rapid* Barytpapier von Agfa vergrößern, in *Neutol* entwickeln und kalt auf Hochglanz trocknen. Müßte ich beruflich Mikrofotos von Diatomeen und ähnlichem anfertigen, wäre das die einzige vernünftige Methode, die allerhochwertigste Bilder ergäbe. Die Nachteile von einfachen achromatischen Objektiven können bei der Verwendung von Schwarzweißfilm auf einfache Weise ausgeschaltet werden. Man legt ein strenges Grünfilter in den Strahlengang (Schott VG 9, 3 mm stark). Es beseitigt die Farbsäume an den Objektkonstrukturen. Farbreinheit, Konturenschärfe und Auflösungsvermögen sind dann wie bei einem Apochromaten mit gleicher Apertur.

Aber machen wir uns nichts vor. Schwarzweiß ist heutzutage die teuerste Methode, um zu guten Fotos zu kommen. Man kann einen Schwarzweißfilm mit mikroskopischen Motiven nicht beim Fotohändler abgeben. Belichtungszeit, verwendeter Entwickler, seine Verdünnung, Temperatur und Zeit beim Entwicklungsvorgang und die folgende beabsichtigte Arbeitsweise beim Vergrößern müssen wir in vielen Versuchen selbst aufeinander abstimmen. Den Schwarzweißfilm ins Großlabor zum Vergrößern geben? Die dortigen Automaten, „wissen“ nicht, wie der Kontrast sein soll, man bekommt flauere und graue Aufnahmen zurück. Ins Fachlabor für 15 bis 30 Mark für eine einzelne Vergrößerung im Format 18 x 24 cm?

Nein, ohne Selbstvergrößern geht das nicht. Aber dazu fehlt mir die Zeit, ich schaue lieber ins Mikroskop als in der Dunkelkammer Entwickler- und Fixierbaddunst einzuatmen, vom essigsaurigen Stoppbad ganz zu schweigen.

Schwarzweiß-Diafilm ? Auch das war einmal, früher. Der einzige jetzt auf dem Markt (Agfa *Scala*) kostet inklusive Entwicklung etwa 18 Euro für 36 Aufnahmen, zuzüglich Hin- und Rückporto. Ein Agfa-Farbdiafilm dagegen kostet bei Quelle mit Entwicklung knapp 3,50 Euro. Porto fällt dabei nicht an.

Machen Sie es wie ich: Nehmen Sie einen Diafilm, kalkulieren Sie etwa 15 – 20 Cent für ein Farbdia aus dem Großlabor über ihren Fotohändler, einschließlich Selbst-Rahmen mit *Hama* DSR-Rähmchen, anstatt 1 – 1,50 Euro für eine wundervolle Schwarzweißvergrößerung, bei der Sie die zeitfressende Arbeit auch noch selbst machen müssen. Aber die Diskussion darüber ist müßig. Das hat mit Mikrofotografie nur am Rande zu tun und eigentlich mehr mit dem Spaß des Fotofreundes in der Dunkelkammer.



### Ein brauchbarer Farbdiafilm für die Mikrofotografie

Zum Schluß noch ein heißer Tip für Plankton-Fotografen. Amateure, die ihre Spiegelreflexkamera über dem Mikroskop montiert haben, pflegen sie hin und wieder abzuschrauben (abzubajonettieren), um mit ihr auf der Urlaubsreise zu fotografieren oder um ein Familienfoto anzufertigen. Da trifft es sich dann gut, wenn eine Art Universalfilm in der Kamera ist, der sowohl den Schiefen Turm in Pisa als auch ein Rädertier oder eine Amöbe zufriedenstellend abbildet.

Das kann nun freilich nicht jeder Film. Deshalb ziehen es manche Mikroskopiker vor, für ihre Mikroaufnahmen, speziell Aufnahmen von kontrastarmen Organismen, wie sie gerade typischerweise im Wasser vorkommen, einen Schwarzweißfilm zu verwenden, wie zum Beispiel den AgfaPan 25, und ihn in Rodinal auf kontrastreich (hart) zu entwickeln. Bislang hatte das auch den Vorteil, daß solche Aufnahmen für den Druck (z. B. in der Zeitschrift MIKROKOSMOS) besser und kontrastreicher verarbeitet werden konnten. Inzwischen ist es dank digitaler Bildverarbeitung möglich, auch von farbigen Diapositiven gute und kontrastreiche bzw. gut durchgezeichnete Druckvorlagen herzustellen wie jetzt jedes Mikrokosmos-Heft aufs neue beweist. Deshalb wäre ein Farbfilm ideal, der kontrastschwache Planktonobjekte und normale Fotomotive gleich gut wiedergibt.

Ein sehr guter Kompromiß ist der *AgfaChrome* 100 CTx (oder die Vorgänger-Emulsion CTi, die noch gelegentlich im Handel auftaucht) aus dem Amateurfilmsortiment. Er ist schon seit längerem der am kontrastreichsten arbeitende Allround-Diafilm auf dem Markt, für die kontrastlosen Planktonorganismen gerade richtig. Man belichtet ihn normal. Er ist weder der allfeinkörnigste noch der allerschärfste 100er Diafilm. Doch bei einer Vergrößerung bis 18x24 cm vom Kleinbild (24x36 mm) merkt man davon überhaupt nichts, auch kaum beim Projizieren. Für Abbildungen im Mikrokosmos reicht es allemal. Kein anderer Farbdiafilm auf dem Weltmarkt hat eine ausgeglichene, harmonischere, natürlichere Farbwiedergabe.

Foto-Quelle verkauft denselben Film unter der Handelsmarke Revue Dia 100 C. Der Preis inklusive Entwicklung ist recht günstig, etwa 3,50 Euro. Da es Foto-Quelle-Agenturen in jeder Kleinstadt gibt, braucht man meistens nur „um die Ecke zu gehen“, um sich einen billigen Fünferpack zu besorgen. Zwar bieten die großen Foto-Versender den Agfachrome 100 im Zehnerpack ebenfalls günstig an (um Euro 3,00 ohne Entwicklung), wer aber die Dia-Entwicklung (ohne Rahmung) lieber am Wohnort besorgen läßt, bezahlt dafür nicht selten mehr als für den Film selbst. Der Preisvergleich zwischen der Originalmarke Agfa und Quelle lohnt sich.

Schließlich wäre noch der Preis anzuführen. Ein Kodak *Ektachrome* 64T kostet einschließlich Entwicklung über 10 Euro. Der von mir verwendete *Agfachrome*, ebenfalls mit Entwicklung, 4 Euro. Für diesen Preisunterschied riskiere ich schon einmal ein nicht ganz optimales Ergebnis. Bei der mikroskopischen Jagd auf bewegliche Ziele (bewegliche Algen, Räder- und Wimpertiere etc.) ist der Filmverbrauch sowie so höher als beim geruhsamen Austüfteln von Beleuchtung und Belichtung samt Farbkorrektur durch Filter bei einem farbigen Schnittpräparat. Deshalb achte ich auch immer darauf, daß mein Umkehrfilm preiswert ist, damit mir die Lust am Mikrofotografieren nicht vergeht.

#### 4.4.4 Digitale Fotografie und Videotechnik



Baustelle

##### **Anmerkungen zur Mikrofotografie mit der Digitalkamera**

Nachdem inzwischen die Elektrofirmen die Einführung von Kühlschränken planen, die Butter und Bier, Käs und Kotelett elektronisch-automatisch beim Lebensmittelhändler nachbestellen, wenn der Vorrat zur Neige geht, ist es auch für Hobby-Mikroskopiker an der Zeit, über digitale Mikrofotografie nachzudenken. Doch hier wie da ist das theoretische Konzept bald ausgedacht, dann kommen die praktischen Probleme der Durchführung.

Am sinnvollsten ist es, von den bewährten Anordnungen von Mikroskop und Kamera so wenig wie möglich abzuweichen. Das wäre: Kleinbildkamera ohne Objektiv, Film- bzw. Chip ebene 125 mm oberhalb der Austrittspupille des Mikroskops. Dazwischen ein spezielles Kameraobjektiv („Großfeldlinse“), damit eine möglichst große Fläche des Zwischenbildes auf den Chip kommt.

Doch Digitale Spiegelreflexkameras sind teuer, für manchen Amateur unerschwinglich, und die Digitalen mit festeingebautem Zoomobjektiv führen zu manchem Verdruß. Nur ganz wenige sind wegen der tief im Objektivinneren liegenden Eintrittspupille, die ja mit der Austrittspupille des Mikroskops zusammenfallen soll, von vornherein ungeeignet. Andere verursachen wegen des rationellen *Spin Casting* ihrer Objektivlinsen Artefakte im Bild.

Firmen die Kameraadapter für die Mikrofotografie herstellen, schießen weltweit geradezu aus dem Boden. Ihre Produkte sind trotz hoher Preise technisch leider nicht über jeden Zweifel erhaben.

Da nimmt es nicht wunder, daß manche Mikroskopiker zur Selbsthilfe greifen. Bisher hat sich das hauptsächlich auf den Selbstbau von Adaptern beschränkt. Aber auch die Kamera selbst rückt ins Blickfeld. Warum sollte man eigentlich eine teure Superkamera aufs Mikroskop setzen, wenn doch in der Mikrofotografie die Kamera eigentlich nur den Zweck hat, den Film zu halten und eine Bildlänge weiter zu transportieren. Ist es denn bei einer digitalen Kamera wesentlich anders? Wozu also eine Super Digital Camera?

Auf der Homepage der MVM ist unter *Aufsätze* nachzulesen, wie sich eine preiswerte Digitalkamera für 99 Euro auf sehr einfache Weise zu einer automatisch arbeitenden Mikrokamera umbauen läßt. Der Autor Ralf Nötzel hat es ausgetüftelt und beschreibt es mit anschaulichen Bildern so, daß es Jedermann nachmachen kann.

99 Euro, und die Aufnahmen können sich jederzeit mit solchen messen, die mit zehnmal so teuren Kameras gemacht werden!

## 4.5 Zubehör basteln

### 4.5.1 Allgemeine Hinweise

In verschiedenen Bastelanleitungen, sei es für eine Dunkelfeld-Zentralblende oder einen Schieber für schiefe Beleuchtung o. ä. wird mitunter empfohlen, ein Stück steife Pappe zurechtzuschneiden. Man nimmt besser anderes Material, Pertinax oder ein Stück Kunststoff, das man aus einem Plastik-Schnellhefter herausschneidet, oder ein dünnes Alublech. Der Möglichkeiten gibt es viele, aber Pappe sollte man meiden, sie greift sich ab und produziert winzige Abriebkrümel, die sich als Staubpartikel oder gar als Staubschicht auf Kondensorlinsen usw. legen. In den ersten Monaten, wenn die Mikroskopoptik noch sauber ist, neigt man gerne dazu, solche Vorsichtsmaßnahmen für übertrieben zu halten, nach Jahren allerdings nicht mehr. Da wundert sich mancher, wodurch das ungleichmäßig helle Bild entsteht, oder daß die Empfindlichkeit des Lieblingsfilms auch nicht mehr zu sein scheint, was sie früher war: Ein Blick auf den Lampenkolben oder die Kollektorlinsen könnte dann ernüchtern: eine am Glas regelrecht auf- oder eingebrannte Staubpartikelschicht verdunkelt das Bild und macht es ungleichmäßig. Fazit: Jegliches Material, das bei längerem Gebrauch Abrieb von sich gibt, wie Papier und Pappe, gehört nicht ans Mikroskop oder in seine Nähe.



Baustelle

### 4.5.2 Blenden und Filter

#### 4.5.2.1 Schiefe Beleuchtung

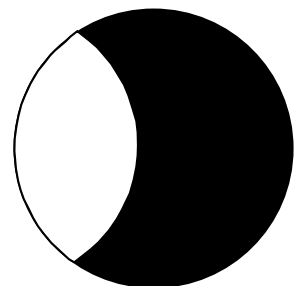
##### **Mattscheibe nach Martin KREUZ**

Mitunter können schon einfache Veränderungen an einer Methode zu einer wesentlichen Verbesserung führen. Auch die schon seit den Anfängen der Mikroskopie bekannte schiefe Beleuchtung bietet in dieser Hinsicht noch Möglichkeiten. Bisher wurden hauptsächlich zwei Verfahren angewandt:

1. Die Verwendung einer Lochblende,
2. Das Dezentrieren der Aperturblende.

Bei beiden Methoden kommt es allerdings zur Bildung eines ausgedehnten Schattens bei undurchsichtigen Objekten und zu einer starken Gradientenbildung im Bildfeld. Um überhaupt ein homogenes und ausreichend helles Bildfeld erzeugen zu können, muß man mit geköhlerter Beleuchtung arbeiten. Dadurch gerät der Kondensor in Stellungen, in denen man seine volle Apertur nicht mehr nutzen kann. Das ist aber bei schiefer Beleuchtung erwünscht, damit der Lichteinfallswinkel möglichst schräg ist.

Es wäre also anzustreben, die maximale Apertur des Kondensors bei allen Objektiven (außer Lupenobjektiv) zu nutzen, gleichzeitig ein gradientenfreies Bildfeld mit gemildertem Schattenwurf trotz starken Reliefeffekts zu erhalten. Das kann mit einer einfachen Anordnung erreicht werden. Dabei erhält ein herkömmlicher Mattfilter eine schwarze Blende mit kreisförmigem Ausschnitt, so daß eine linsenförmige Fläche frei bleibt. Die genauen Maße hängen vom Bau des Kondensors ab, man muß es ausprobieren. Die schwarze Abblendung muß auf die matte Seite des Mattfilters geklebt werden, und diese Seite muß im Strahlengang oben liegen.



Die Beleuchtung muß nun nicht mehr geköhlet werden, da die Lichtquelle durch das Mattfilter praktisch in die Ebene des Filterhalters gelegt ist. Der Kondensor wird zunächst in die oberste Stellung gebracht, durch vorsichtiges Heben und Senken stellt man dann den optimalen Reliefeffekt ein. Die Blende soll ca. 70 % des Bildfeldes einnehmen (Blick durch den Tubus, siehe Bild). Eine Niedervoltleuchte von 15 W ist ausreichend hell. Beim Objektivwechsel muß man Filter oder Kondensor nicht mehr nachjustieren oder neu einstellen. Mit einem Griff, am fertigen Filter angeklebt, z. B. aus Holz oder Aluminium, können wir es bequem im Filterhalter drehen und auf diese Weise nach und nach das Objekt allseitig schräg beleuchten.

Das Filter funktioniert in allen Mikroskopen mit einem mindestens zweilinsigen Kondensator, am besten jedoch mit Kondensoren der Apertur 1,2 oder 1,3, mit solchen von 0,9 weniger ausgeprägt, weil bei ihnen infolge der geringeren Apertur die Randlichtstrahlen nicht schräg genug von unten auf das Objekt fallen. Bei Kondensoren mit ausklappbarer Frontlinse (z. B. Zeiss oder Leitz) versuche man, das Filter oberhalb der Irisblende, aber unterhalb der Klapplinse einzulegen, wenn dafür Platz ist.

#### **Eine schnelle Behelfsmethode mit der Fingerspitze oder mit der Filterfassung**

Eine provisorische, aber keineswegs sach- und fachgerechte schiefe Beleuchtung kann man ohne viel Federlesens so bewerkstelligen:

Einfach eine Fingerspitze von der Seite in den Strahlengang schieben, zwischen Leuchtfeldblende (Lichtaustrittsöffnung) und Kondensator.

Oder:

Die Filterfassung unter dem Kondensator „etwas“ aus der Mitte heraus schwenken, so daß ihr Rand in den Strahlengang gerät. Das funktioniert am besten, wenn der Filterhalter einen dicken Rand hat. Bei dünnrandigen kann man sich aber etwas ähnliches ausdenken. Es entsteht dabei kein schönes Bild, aber eventuell ein brauchbares.

#### **4.5.2.2 Polarisationsfilter selbst anfertigen**

##### **Anordnung und Fassung von Polfiltern**

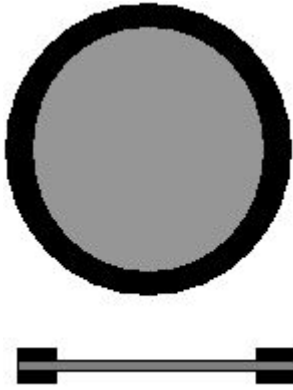
Der Polarisator wird in einen Filterhalter des Mikroskops gelegt. Mikroskope mit Köhlerscher Beleuchtung sind besonders geeignet. Das Polfilter kann dann auf der Lichtaustrittsöffnung liegen, darf aber mit seiner Oberfläche nicht direkt das Glas oder das Gehäuse der Lichtaustrittsöffnung berühren, weil es sonst durch Überhitzung zerstört würde.

Man besorge sich am besten Folien, die mit einer zusätzlichen Schutzfolie überzogen sind. So kann man sie bedenkenlos berühren und zurecht schneiden. (Siehe Bezugsquelle am Schluß dieses Kapitels.)

Zwei Glasfilter von passendem Durchmesser, zum Beispiel ein Blau- und ein Mattfilter dienen als Schneideschablone. Die Polarisationsfolie wird mit Daumen und Zeigefinger fest zwischen die beiden Glasfilter gepreßt, dann umfährt man das Ganze mit einer scharfen (!) Rasierklinge, am besten mit einer steifen Industrieklinge. Damit das Glas-Filter-Glas-Sandwich nicht verrutscht und das Filter nicht unrund wird, kann man das Sandwich auch in einer kleinen Schraubzwinde fest einklemmen. Die Glasfilter müssen dabei aber geschützt werden. Am besten schneidet man sich zwei mehr oder weniger runde Pappestückchen zurecht, die im Durchmesser etwas kleiner sind als die Glasfilter. Sie bilden dann die beiden Außenschichten des nun fünfschichtigen Sandwichs. Dann die Schraubzwinde.

Bei der gesamten Prozedur ist zu beachten, daß man ein mikroskopisches Mattfilter nicht mit den Fingern auf der matten Seite berühren sollte. Nach dem Schneiden muß die Schutzfolie vorsichtig von der Polarisationsfolie abgezogen werden. Von nun an darf das Polarisationsfilter nur noch an den Kanten gehalten werden. Fingerabdrücke lassen sich nur schwer entfernen, Fingerschweiß frißt sich in den Kunststoff ein, und beim Reinigen entstehen leicht Kratzer.

Es empfiehlt sich auch, das Polfilter einzurahmen. Wer keine metallene Filterfassung auftreiben kann, muß sich selbst eine basteln. Es genügen Ringe aus Kunststoff wie Pertinax, z. B. auch Dichtringe vom Installateur, die man von beiden Seiten vorsichtig auf das Polfilter klebt, siehe Skizze Abb. 6. Je dicker die Ringe, um so besser der Schutz des Filters. Das Filter liegt dann nicht direkt mit seiner Fläche auf einer Unterlage, sondern nur mit dem aufgeklebten Randring. So wird die Filteroberfläche nicht zerkratzt, wenn man das Filter dreht. Auf Fotoflohmärkten sind für ein paar Mark auch drehbare (leere) Polfilterfassungen zu bekommen. Das Problem ist nur der passende Durchmesser. Die Polfilter für fotografische Zwecke sind ja heutzutage für die großen Durchmesser der Objektive von Spiegelreflexkameras gebaut. Aber in Leica- und Retina-Kramkisten kann man fündig werden. Fotografische Polfilter selbst sind für unsere Zwecke nicht brauchbar.



Filterfolienscheibe mit Pertinaxring zum Schutz.

Oben: in der Aufsicht.

Unten: von der Seite.

Nähere Beschreibung im Text.

### Feststellen der Polarisationsrichtung

Objektträger oder eine Glasplatte unter 50 bis 60° anleuchten. Lampe und Glasplatte so orientieren, daß der Reflex der Lampe ins Auge trifft. Das Polfilter in den Strahlengang bringen und so lange drehen, bis die Reflexion verschwindet bzw. minimal ist. Polfilter mit einem schwarzen Punkt im Süden versehen.

Nach dieser Kennzeichnung das Filter so in den Filterhalter des Mikroskops einlegen, daß im eingeschwenkten Zustand der Markierungspunkt im Süden ist.

### Herstellen und Anordnen des Analysators

Der Analysator ist bei Polarisationsmikroskopen hinter der Brennebene des Objektivs untergebracht. Er kann mittels eines Schiebers entfernt und außerdem gedreht werden. Mit einem zweiten Schieber kann man Lambda-Viertel-, Lambda-Platten oder Kompensatoren in den Strahlengang bringen. Siehe Abb. 5.

Unser Ziel ist, mit Hilfe von zwei Polfiltern die Erscheinungen der Interferenzfarben qualitativ darzustellen. Für unsere Anwendungen ist die Augenlinse des Okulars der geeignete Platz, um den Analysator unterzubringen. Wo genau, muß je nach Konstruktion des Okulars von Fall zu Fall entschieden werden. Fast immer gelingt es, das Polfilter im Innern des Okulars vor der Augenlinse zu befestigen. Dort kann er auch verbleiben, wenn normal, ohne Polarisation mikroskopiert wird. Die Filterplatte ist dann auch optimal gegen Staub und Beschädigung geschützt.

### Das erste Objekt: Die Oberhaut der Küchenzwiebel

Wir betrachten das Präparat zunächst im gewöhnlichen Hellfeld und erkennen kleine Kristalle. Nun wird das Präparat entfernt, der Polarisator eingesetzt und ohne Präparat durch Verdrehen des Okulars die Dunkelstellung gesucht. Nach Einsetzen des Präparates leuchten die Kristalle vor dem dunklen Hintergrund auf. Wenn es möglich ist, das Präparat zu drehen, dann kann man Hell- und Dunkelstellung ermitteln. Man wird dabei erkennen, daß die Kristalleinschlüsse nicht einheitlich orientiert sind und daß zwischen Hell- und Dunkelstellung das Präparat um einen Winkel von 45° verdreht werden muß. Man nennt daher die Hellstellung auch 45°-Stellung. Wir suchen nun einen Kristall und bringen ihn in die Hellstellung. Die Farbe gibt dann Aufschluß über die Dicke des Kristalls. In unserem Beispiel wird sich weiß bis hellgelb als Farbe zeigen.

### Herstellen einer Lambda-Platte

Mit einer Lambda-Platte zwischen Polarisator und Analysator im Strahlengang sind weitere Farbverschiebungen möglich. Man erhält sehr schöne und aufschlußreiche Interferenzfarben. Ohne Objekt ruft die Lambda-Platte bei richtiger Orientierung ein kräftiges Rot hervor. Die schönen Interferenzfarben eines Objekts verändern sich beim Drehen in bestimmten Grenzen. Man erhält zwei Grenzwerte. Der eine liegt im gelben Bereich, der andere bei 90°-Drehung im blauen. Dazwischen, in den 45°-Bereichen, nehmen die Kristalle die Farbe des Hintergrunds an. Auf einer Farbtabelle kann man die Differenz der beiden Farben ablesen.

Der technische Zweck einer Lambda-Platte sind jedoch nicht schöne Farben, sondern die Bestimmung der Doppelbrechung eines optisch anisotropen Kristalls nach der Formel

$$\text{Gangunterschied (in } \mu\text{m)} = \text{Dicke} \times \text{Doppelbrechung}$$

Dazu braucht man ein speziellen Mikroskoptubus mit einem Einschub oberhalb des Objektivs und einen drehbar gelagerter Analysator. Wenn es nicht um wissenschaftliche Arbeiten, sondern nur um die Darstellung der Farben und Fotos davon geht, so ist ein solcher Polarisationsstabus nicht notwendig. Es genügt, wenn anstelle des Analysators und des Lambda-Plättchens der Polarisator gedreht werden kann.

Eine behelfsmäßige Lambda-Platte kann man leicht selbst herstellen, wenn man nicht allzu große Ansprüche stellt. Tesaband eignet sich vorzüglich zu solchen sogenannten Verzögerungsfolien. Als Träger dient Glas oder transparentes Filmmaterial. Drei Lagen Tesafilm ergeben eine brauchbare Lambda-Platte. Unter den Tesafilm-Klebebändern eignet sich die transparente Qualität am besten. Probieren geht über studieren.

Wenn man von vornherein immer mit der Lambda-Platte arbeiten möchte, kann man die Tesafolie gleich auf den Polarisator aufbringen – oder auf einen zweiten Polarisator, das dürfte billiger sein, als eine passende Glasscheibe beschaffen. Bringt man die Tesafolie nur einseitig auf, dann kann man einmal den Polarisator in normaler Dunkelstellung verwenden, und wenn man ihn dreht, erhält man die Interferenzfarbe Rot für wirkungsvolle Interferenzfarben erster Ordnung. Bei dem Tesafilm, den ich selbst ausprobiert habe, genügen 3 Lagen übereinander, und man liegt in der Nähe der empfindlichen Farbe Rot. Die Ergebnisse sind kräftige Farben zwischen Gelb, Rot und Blau.

#### **Bezugsquelle für Polarisationsfolien:**

Jos. Schneider Optische Werke GmbH, Ringstraße 132,  
55543 Bad Kreuznach; Tel.: +49 (0) 671 601-0. Fax : 601-109. eMail : [filter@schneiderkreuznach.com](mailto:filter@schneiderkreuznach.com)  
<http://www.schneiderkreuznach.com/tipps/polfilter.htm>  
Datenblätter unter [http://www.schneiderkreuznach.com/pdf\\_downloads.htm](http://www.schneiderkreuznach.com/pdf_downloads.htm)

Für die Selbstanfertigung eignet sich am besten die Polarisationsfolie Typ PW 44, Stärke 0,8 mm, 5 x 5 cm. Eine Folie genügt für ein Filter von 32 mm und eines von 18 bis 20 mm Durchmesser. Das heißt dann: Die Polfolie läßt sichtbares Licht, das in seiner Polebene schwingt, gut durch und sperrt alles andere ziemlich gut ab. In der Tat die Bilder mit den kräftigsten Farben ergeben. Wegen der teilweise etwas niedrigen Transmission wird man aber wahrscheinlich eine kräftige Leuchte benötigen. Daß die Transmission nicht linear über das Spektrum verläuft, bleibt ohne Bedeutung, solange man nur bunte Bildchen machen und keine anspruchsvollen quantitativen Messungen machen will.

(Für die technische bzw. messende Polarisationsmikroskopie empfiehlt Schneider nicht Polarisationsfolien, sondern das komplette Filter KS-MIK Standard mit Floatglas geschliffen und poliert mit P-UV 2 inkl. Randlackierung.)

Wer andere Polfilterfolien verwenden möchte, beachte auf jeden Fall, daß es immer ein lineares Polfilter sein muß, zirkuläre, die wegen der Belichtungsmessung in den meisten Spiegelreflexkameras erforderlich sind, sind in der Mikroskopie unbrauchbar.

## 4.6 Die Mikroskopie und Kinder

### 4.6.1 Die ersten Fragen

#### *Frage*

Mein Neffe (7 J.) wünscht sich sehnlichst ein Mikroskop. Was können Sie für dieses Alter empfehlen?

#### *Antwort*

Sieben ist ein recht frühes Alter für ein Mikroskop, da sind die Finger noch un gelenk, und das notwendige Verständnis für Präzisionsmechanik und -optik ist noch nicht vorhanden. Das Mikroskop ist technisch kompliziert und seine Handhabung nicht weniger. Als Beispiel sei erwähnt: Der Abstand der Objektivfrontlinse bis zum Deckglas des Präparates beträgt bei mittleren Vergrößerungen etwa 0,12 bis 0,4 Millimeter. Das versehentliche Betätigen des Grob- anstatt des Feintriebs zerstört das Präparat, das Objektiv oder beide. Das kann ein teurer „Unfall“ sein. Wenn ein Mikroskop ein vernünftiges Bild liefern soll, muß man es zuvor richtig einstellen können. Sogar viele Erwachsene, die das Mikroskop im Beruf benützen, haben regelmäßig Schwierigkeiten damit.

Ein „echtes“ Mikroskop sehe ich deshalb eher für das Alter ab 14 bis 15 Jahren, früher nur ausnahmsweise. Zum Mikroskopieren gehört nämlich auch, daß man mit Verständnis die nicht immer einfache technische und biologische Anleitungsliteratur liest, sie verstehen und befolgen kann.

Dazu kommt das Sammeln von Proben mit Planktonnetz und Gläsern, ihre zweckmäßige Hälterung sowie das Herstellen und Handhaben von kleinen Präzisionspräparaten mit noch un gelenkten Fingern. Wenn sich kleine Mikroskopiker zunächst auf die Mikroskopie der Wasserorganismen beschränken, müssen sie zwar noch keine Schnitte anfertigen. Jedoch gehört danach zur mikroskopischen Grundausrüstung schon bald auch ein Päckchen Rasierklingen für Schnitte durch Pflanzenstengel und Blätter. Doch ist der Umgang damit für dieses Alter nicht empfehlenswert.

Fazit: In diesem Alter sollte man anders beginnen als mit dem Mikroskop. Siehe weitere Ausführungen in diesem Kapitel.

#### *Frage*

Meine 12jährige Tochter interessiert sich für die Mikroskopie. Was könnten Sie denn da empfehlen?

#### *Antwort*

Woher stammt ihr Interesse? Ist anzunehmen, daß es dauerhaft ist? Mikroskopieren ist eine nicht einfache technische Kunst, die viel Freude macht, aber mühsam erlernt werden muß. Das geht nicht so schnell. Wenn sich Ihre Tochter nur für „das Mikroskop an sich“ interessiert, könnte angesichts der Mühen das Interesse bald nachlassen oder von weniger mühevollen und diffizilen Beschäftigungen verdrängt werden. Anders ist es, wenn sie sich stark für die zu betrachtenden Objekte interessiert, also für Tiere und Pflanzen im Wassertropfen, den inneren Aufbau der Pflanzen und Tiere.

Um solches Interesse an Naturkunde zu fördern, gibt es mehrere Möglichkeiten, die im folgenden beschrieben werden. Man kann eine oder mehrere davon probieren, zugleich oder nacheinander.

### 4.6.2 Das Alter des Kindes

Wenn Kinder mikroskopieren, geraten sie meist auch an Anleitungsliteratur, in der einige hochgefährliche Verfahren und Rezepte mit giftigen, krebsfördernden, feuergefährlichen oder explosiven Stoffen erläutert werden, ohne daß auf die Gefährlichkeit ausdrücklich hingewiesen wird, denn diese Anleitungen sind in der Regel für den „Profi“ geschrieben, der die Gefahren kennt, er bekommt entsprechende Anleitungen in seiner Ausbildung. Auch gehören sehr scharfe Rasierklingen, Rasier- und gefährliche Mikrotommesser zum Handwerkzeug des Mikroskopikers.

Die zwingend zu benützenden Deckgläschen von 0,17 mm Dicke sind äußerst zerbrechlich, ihre Splitter bohren sich besonders gerne tief in die Finger.

Alle diese Sachen und noch einige mehr gehören nicht in Kinderhände. Erst ab einem Alter von 14 bis 15 Jahren erscheinen Verständnis und Ernsthaftigkeit ausgeprägt genug, so daß man es dann wagen kann.

Über den Wunsch des Kindes nach einem Mikroskop sollte deshalb nicht ohne einen fachkundigen Berater entschieden werden. Wir möchten an dieser Stelle nachdrücklich betonen, daß wir unter „fachkundigen Beratern“ keine Mikroskopverkäufer verstehen. Einige erste, allgemeine Ratschläge enthalten die weiteren Ausführungen dieses Kapitels.

### 4.6.3 Die Handlupe

Liegen schon Erfahrungen mit einer guten 10fachen Handlupe vor? Am häufigen und technisch richtigen Umgang mit einer solchen kleinen Einschlaglupe sind Ausmaß und Intensität des Interesses an Biologie oder z. B. Mineralien zu erkennen. Mit einer optisch guten 6- bis 12fachen, aplanatischen Lupe, die man immer mitführen kann, ist aller Anfang leicht. Zunächst reicht eine mit Glaslinsen (!) aus dem Optikfachgeschäft zum Preis zwischen 15 und 20 Euro. Besonders zweckmäßig sind sogenannte Doppeleinschlaglupen, z. B. von Carl Zeiss, mit je zwei Linsen, von denen eine 3x und die andere 6x vergrößert. Schiebt man sie übereinander, erhält man eine 9fache Vergrößerung. Auch wer einem Kind vorerst ein „echtes Mikroskop“ ausreden, aber trotzdem kein Billigprodukt schenken möchte, kommt mit einer solchen Zeiss-Lupe „voll auf seine Kosten“. Unbedingt dazu gehört aber auch ein gutes Biologiebuch zum Selbststudium. Der Biologielehrer sollte für diesen Zweck eines empfehlen können.

Genau wie beim Mikroskop darf man einem Kind nicht einfach eine Lupe schenken und es dann damit allein lassen. Dazu gehört auch die Beratung, was es anschauen kann und worauf dabei zu achten ist. Einfache Fragestellungen, wie sie im Naturkunde- oder Biologiebuch der Unterstufen formuliert sind, sollten „bearbeitet“ werden. Was man dabei sieht, sollte mit spitzem Bleistift in ein Heft gezeichnet und beschrieben werden.

Kann man so eine Hilfe nicht selbst geben, wende man sich an den Biologielehrer/ -lehrerin der Schule um Rat.

Die intensive Verwendung einer Lupe, sollte man nicht überspringen. Einem Kind, das sich ein Mikroskop wünscht, kann man eine Lupe durchaus schmackhaft machen. Man kann z. B. zwei Lupen wählen, eine 6- und eine 10- oder 15fache, oder eine Doppeleinschlaglupe 3 x + 6 x, zusammen 9 x von Zeiss. Auch die japanische Firma Tasco macht schöne aplanatisch-achromatische Lupen 10 x in Metallfassung mit einem stabilen Lederetui. Das ganze hübsch verpackt mit einem guten Anleitungsbuch z. B. zur Botanik oder Insektenkunde, ist ein ansehnliches Geschenk.

Ein Praxis-Tipp für die Lupe. Die meisten Menschen schauen „instinktiv“ auf falsche Weise durch eine Lupe. Vielleicht haben sie einmal gesehen, wie die Oma eine Leselupe handhabt: Sie hält sie möglichst weit vom Auge weg. Eine zehnfache Lupe ist aber nicht einfach ein Leseglas. Man macht das so: Rechtshänder nehmen sie in die rechte Hand, halten sie zwischen Daumen und Zeigefinger. Dann stützen sie den Handrücken an der rechten Wange ab und schauen mit dem rechten Auge durch die Linse. Die linke Hand hält das zu betrachtende Objekt und nähert es der Lupe so weit, daß man ein scharfes Bild sieht. Mit etwas Geschick kann man die linke Hand auch noch am ausgestreckten Mittel- oder Ringfinger der rechten Hand so abstützen, daß man eine insgesamt „zitterfreie“ Anordnung hat. Oberste Regel ist jedenfalls: die Lupe so nahe wie möglich ans Auge, jedoch nicht so weit, daß die Wimpern die Linse berühren und einfetten!

### 4.6.4 Das Stereomikroskop

auch Präpariermikroskop, Binokular- oder Stereolupe genannt.

#### **Warum sollten Kinder lieber mit Lupe und Stereomikroskop beginnen?**

Es ist für das kindliche Vorstellungsvermögen von großem Vorteil, wenn man mit Lupe oder Stereomikroskop stärker vergrößert sieht, was man soeben noch in der Hand gehalten und mit bloßem Auge betrachtet hat. Man sieht das Objekt aufrecht und seitenrichtig, nicht seitenverkehrt und auf dem Kopf stehend wie im Mikroskop! D. h. wenn man das Präparat auf dem Objektstisch des Stereomikroskops nach links schiebt, geht die Bewegung im Bild ebenfalls nach links. Das ist für Kinder vorteilhaft. Ein Präparat für das echte Mikroskop muß zudem in der Regel erst mühsam so vorbereitet werden, daß es mit der gepflückten Blüte, dem Pflanzenstengel oder dem hübschen Käfer keinerlei Ähnlichkeit mehr hat. Zwar kann man auch entsprechende Fertigpräparate kaufen, sie jedoch nur verstehen und interpretieren, wenn man weiß, auf welche Weise und mit welchen Methoden sie entstanden sind. Der eigentliche Sinn des Mikroskopierens, das Lernen durch Selbermachen, fehlt dann völlig. (Da könnte man sich auch gleich ein Biologiebuch mit guten farbigen Abbildungen kaufen oder Diapositive von mikroskopischen Präparaten, dann bräuhete man das schwierig zu handhabende optische Instrument überhaupt nicht ...)

Biologische Mikroskope sind nur für völlig durchsichtige Objekte gedacht, was nicht durchsichtig wie Glas ist, muß so dünn geschnitten oder geschliffen werden, daß es vom Licht der Mikroskopbeleuchtung leicht durchstrahlt wird, wie ein Diapositiv vom Licht des Diaprojektors. Dann muß es in eine Einschlußmasse, z. B. Wasser oder Glyzerin oder Glyzerin-gelatine gebracht werden, ohne daß dabei Luftblasen entstehen,



und dann mit einem Deckgläschen von ziemlich genau 0,17 mm Dicke kunstvoll bedeckt werden. Die Objekte wirken aber in aller Regel sehr abstrakt, entweder durch die Schneidetechnik oder durch die geringe Schärfentiefe des Mikroskops, die meist nur zwischen 1/100 bis 1/1000 Millimeter liegt und immer nur eine hauchdünne Ebene des Präparats scharf abbildet. Eine gewisse Ahnung von dem, was man da eigentlich sieht oder sehen könnte, muß man bei biologischen Objekten schon haben. Selbst erwachsenen Anfängern mit einem durchschnittlichen Sinn für dreidimensionale Körper fällt es oft schwer, sich in ein botanisches oder zoologisches Schnittpräparat hineinzudenken. Auch die Abbildungen und Texte in geeigneten Lehr- oder Praktikumsbüchern sind meist abstrakt und setzen die Biologiekenntnisse der entsprechenden Schulklassen voraus. Das ist für Kinder noch nichts.

Unter einem Stereomikroskop hingegen sind die Objekte technisch viel leichter zu beobachten als mit einem Mikroskop, bei dem die Vergrößerungen bei 30- bis 50fach erst beginnen. Für Kinder ab etwa 9 bis 14 Jahren empfiehlt sich auch deshalb eher ein Stereomikroskop, weil es ein plastisches, räumliches, d. h. tatsächlich dreidimensionales Bild zeigt; mit vernünftigen Vergrößerungen etwa zwischen 6- und 60fach. Vorteil: große Arbeitsabstände zum Hantieren mit den noch etwas ungeschickten Fingern.

Auch wenn später zusätzlich ein echtes Mikroskop angeschafft wird, bleibt das Stereomikroskop ein oft benütztes Instrument. Man braucht es, um Objekte auszuwählen und zu präparieren, aber auch für größere Objekte im Auflicht (die also nicht vom Licht durchleuchtet, sondern von oben beleuchtet werden).

Man kann einen Käfer und andere Insekten und kleine Tiere oder beispielsweise eine Blüte komplett unter ein Stereomikroskop legen und studieren. Die wären für ein richtiges („zweistufiges“) Mikroskop viel zu groß, da muß man bei Insekten oder Blüten „anatomisch“ arbeiten, sie mit Nadel und Skalpell regelrecht sezieren und die Teile in dünne Scheibchen von etwa 5/100 Millimeter Dicke schneiden. Für empfindsame Kinder ist aber das gezielte Töten und Zerschneiden von Lebewesen oder das Beobachten ihres Sterbens unter dem Deckglas kein besonders anziehendes Hobby.

#### 4.6.5 Das Mikroskopier-Set

Zusätzlich, nach oder anstelle eines Stereomikroskops

Häufig geben Eltern dem Drängen ihrer Kleinen nach und kaufen ein „Mikroskop“ im nächsten Kaufhaus. Solche Dinger sind meist recht klein, haben aber enorme Vergrößerungen (bis 1000fach und mehr). Sie werden meist in einem Set mit viel „Zubehör“ angeboten, das völlig unbrauchbar ist. Diese „Mikroskope“ sind so schlecht, daß man den Kindern damit das Interesse an der Mikroskopie und der Mikro-Welt ein für alle Male gründlich verleidet.

Gelegentlich werden vom Spielwarenhandel, in „Naturkundegeschäften“ oder auch beim Versanddienst eines Naturschutzverbandes komplette Mikroskopier-Sets angeboten. Die früheren vom Verlag Franckh-Kosmos, Stuttgart, waren nicht ganz schlecht, vor allem wegen des ausgezeichneten Anleitungsbuches. Das enthaltene Kleinmikroskop war auch etwas besser als die in anderen Kästen.

Solche Set-Mikroskope sollten durch ein besseres ersetzt werden, z. B. durch das Kleinmikroskop KMC von ASKANIA (Link in der MVM-Homepage), das mechanisch und optisch ausgezeichnet ist und sich viele Jahrzehnte lang bestens bewährt hat. Das frühere Mikroskopierset von Kosmos enthielt ein ganz hervorragendes Anleitungsbuch, das alle angehenden Mikroskopiker, kleine und große, gründlich durchgearbeitet haben sollten. (Der Kasten (Pappkarton) hieß Kosmos Mikroskopie, *Biologie-Praktikum*. Bestell-Nr. 62 3411. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart.) Es gibt ihn nicht mehr, aber manchmal findet man irgendwo einen Restposten oder ein gut erhaltenes, komplettes Set auf dem Flohmarkt.

Man könnte dem/der angehenden Mikroskopiker/in als zusätzlichen Anreiz ein „echtes Mikroskop“ in Aussicht stellen, sobald alle Experimente und Beobachtungen des Anleitungsbuches durchgeführt und die Ergebnisse ordentlich in einem Heft aufgeschrieben sind.

Es gibt auch andere Mikroskopiersets, mit Mikroskopen von 600facher, manchmal sogar 2000facher Vergrößerung, mit Zoom-Okular, einem Holzkasten und gänzlich unbrauchbarem Zubehör. Man sollte sich darüber im Klaren sein, daß es sich bei diesen Ausrüstungen um Spielzeug handelt, aber um kein gutes. Die Mängel solcher Mikroskope, ihre krude Mechanik und die miserable Optik verderben in der Regel die Freude am Schauen und töten die Lust zum Mikroskopieren ein für alle Mal ab, anstatt sie zu fördern. Viele Erwachsene sind noch in hohem Alter frustriert, wenn sie an die mißlungenen Bemühungen mit so einem „Mikroskop“ zurückdenken. Mit den Mini-Objektiven eines Spielzeugmikroskops kommt man niemals auch nur in die Nähe der Auflösung von üblichen Mikroskopobjektiven. Man kann sogar sagen, man

bekommt überhaupt kein brauchbares Bild. Man sieht unscharfe, dunkle Bilder mit bunten Farbrändern, kann lebende Objekte nicht verfolgen, verliert sie aus dem Gesichtsfeld, die Beleuchtung kann die Einzelheiten, die in den Bestimmungs- und Anleitungsbüchern beschrieben sind, überhaupt nicht zeigen usw.

Die Erzeugnisse auf dem Spielzeugmarkt wechseln zu rasch, als daß hier Empfehlungen gegeben werden könnten. Statt dessen machen wir einen anderen Vorschlag: Man kann sich ein solches Set selbst zusammenstellen, und zwar mit Qualitätsprodukten.

### Vorschlag für ein Mikroskopier-Set

1 Mikroskop von Mikroskop-Technik Rathenow GmbH: Askania Kleinmikroskop KMC (Link in der MVM-Homepage).

Auf ein gutes Anleitungsbuch darf man nicht verzichten. Zur Zeit kann ich das von Chris OXLADE und Corinne STOCKLEY aus dem Verlag ars Edition, München, besonders empfehlen. Solche Anleitungsbücher wie auch die folgenden Glasutensilien und Werkzeuge sind z. B. beim Biologie-Fachversand THORNS in Göttingen erhältlich (Link in der MVM-Homepage). Die folgende Aufzählung ist nur als Beispiel gedacht, damit man einen Überblick über die notwendigen Ausgaben gewinnt.

(Zirkapreise in Euro.)

10 Schnappdeckelgläser 25 ml — je 0,30  
 2 Petrischalen aus Glas mit Deckel 6 cm — je 0,95  
 2 Bechergläser 100 ml — je 1,75  
 2 Reagenzgläser Duran mit Rand — je 0,90  
 2 Uhrgläser 6 cm — je 0,95  
 10 Pasteurpipetten aus Kunststoff — je 0,05  
 2 Schachteln Objektträger 50 Stück — je 3,00  
 2 Schachteln Deckgläser 50 Stück — je 3,00  
 Pinzette, anatomisch 13 cm lang — 3,40  
 Präparationspinzette 10,5 cm, gebogen — 3,95  
 Federstahlpinzette, stumpf — 4,90  
 Deckglaspinzette gerade — 2,90  
 Präparierschere, spitz, gerade, 11 cm lang — 4,75  
 2 Präpariernadeln spitz mit Holzgriff — je 0,90  
 1 do. lanzettförmig 1,40  
 2 Präparatemappen für je 10 Präparate, mit Deckel — je 3,95  
 einige Gläser mit Etikett, z. B. gut ausgewaschene und gespülte Marmeladengläser  
 Eosinlösung, etwa 25 ml  
 Rasierklingen (möglichst steife)  
 Klingenhalter

### 4.6.6 Das „echte“ Mikroskop

Ab etwa 14 bis 16 Jahren wird dann ein echtes Mikroskop Freude machen, wenn das Interesse an Natur und Biologie nicht nachgelassen hat und voraussichtlich von einiger Dauer sein wird.

Ein Mikroskop ist immer ein komplettes System, in etwa vergleichbar mit einem Kamerasystem, bestehend aus Kameragehäuse mit 3 Objektiven, Nahvorsatzlinsen, Stativ und leistungsfähigem Blitzgerät. Auch zu einem Mikroskop brauchen wir mindestens 2, besser 3 Objektive, eine (gute!) elektrische Mikroskopierlampe, am besten eine Niedervolt- bzw. Halogenbeleuchtung, sowie einen Kondensator. Ferner ist für Wasserorganismen ein Kreuztisch oder ein ansetzbarer Objektführer unabdingbar. Diese wichtigen Ausrüstungsteile sollten von Anfang an dabei sein, nur die darüber hinausgehenden kann man nach und nach dazu kaufen.

Unsere Empfehlung beschreibt ein „richtiges“ Mikroskop, kein sogenanntes Schülersmikroskop, das man nur Schülern schenken sollte, von denen man annimmt bzw. befürchtet, daß sie es nur so lange verwenden werden, wie es im Biologieunterricht der Schule gerade zweckmäßig erscheint, und danach in die Ecke stellen. Zudem ist der Begriff Schülersmikroskop kein Standard, jeder Käufer, Händler und Hersteller stellt sich etwas anderes darunter vor.

Bei einem Mikroskop hat die Präzision und Stabilität von Mikrometer- und Tischtrieben, Objektivrevolver etc. unmittelbar Einfluß auf die Bedienbarkeit und Haltbarkeit. Das ist unter einer gewissen Preisgrenze

nicht zu machen. Für junge Anfänger darf es keinesfalls „primitiver“ sein als für Erwachsene, weil sonst die Lust zum Mikroskopieren allzu leicht von vielen unpräzisen Justierschrauben und Beleuchtungsschwierigkeiten abgetötet wird – oder, wenn die Justiermöglichkeiten überhaupt fehlen, vom schlechten Bild. Mit sehr einfach ausgestatteten Mikroskopen können meist nur erfahrene Könnern umgehen und ihnen ein behelfsmäßiges Bild entlocken. Spaß macht so ein Ding nicht, im Gegenteil. Deshalb ist ein gewisser Mindestaufwand vom Preis her nicht zu vermeiden, wenn das Instrument auch benützt werden und nicht nur in der Ecke stehen soll. Wenn der Wunsch nach einem Mikroskop groß und von der Begeisterung für die Kleinwelt des Wassers und anderen kleinen Strukturen aus dem Tier- und Pflanzenreich getragen ist, so besteht die Möglichkeit, daß der kleine Mikroskopiker oftmals recht lange vor seinem Instrument sitzt. Das ist ja an und für sich nicht schlecht. Um so mehr lohnt sich dann aber ein Instrument mit (beidäugigem) Binokulareinblick, das die normale Bauhöhe eines Labormikroskops hat, damit der junge Mikroskopiker keinen krummen Buckel machen muß und sich keine Muskelverspannungen zuzieht. Bei einem (einäugigen) monokularen Einblick hat man zwar das gleiche Bild wie mit einem Binokulareinblick, jedoch ist das langdauernde Beobachten schwieriger, weil man dabei die Kunst beherrschen muß, beide Augen offen zu halten, obwohl nur ein Auge ins einzige Okular schaut. Vielfach führt ein Instrument mit nur einem Okular rasch zur Ermüdung oder gar zu Kopfschmerzen.

Wer den Rat hinsichtlich eines Binokulartubus befolgt, bewegt sich damit wahrscheinlich bereits in der Preisregion jenseits von 500 Euro.

Die Beleuchtung sollte im Stativfuß fest eingebaut sein, und es sollte eine Niedervolt-Halogenbeleuchtung mit regelbarer Helligkeit sein. Eine Köhlersche Beleuchtung (siehe Kapitel 2.5.4 *Die Beleuchtungsanordnung nach Köhler*) ist für den Anfang nicht erforderlich, aber es ist von Vorteil, wenn sie später als Zubehörteil nachgerüstet werden kann. (Die Köhlersche Beleuchtung erkennt man daran, daß nicht nur der Kondensator unter dem Objektisch, sondern auch die Lichtaustrittsöffnung des Beleuchtungskollektors mit einer Irisblende ausgestattet, und der Kondensator mit einem feinfühligem Zahntrieb höhenverstellbar ist.

Drei Objektive genügen für den Anfang, (aber der Objektivrevolver sollte mindestens vier Objektive aufnehmen können): Ein schwaches „Suchobjektiv“ mit einem Abbildungsmaßstab zwischen 3:1 und 5:1. Ein 10:1, numerische Apertur 0,22 bis 0,30 und ein 40:1, n. A. 0,65. Ein Ölimmersionsobjektiv 100:1, n. A. 1,25 bis 1,30 ist für die ersten Jahre nicht notwendig. Es genügen einfache, preiswerte, normale achromatische Hellfeldobjektive. Objektive höherer Korrektionsstufen, wie Planachromate, Fluoritsysteme oder Achromate, sind völlig unnötig und meist auch unpraktisch, die kostbaren Fluoritsysteme und Achromate für Kinder- oder „Jugendhände“ ungeeignet. Die Okulare sollen Weitfeld- bzw. Weitwinkel-Okulare sein. Die Eignung für Brillenträger muß mit „Br“ oder dem Symbol einer Brille auf der Okularfassung graviert sein. Ein Okular ohne eine solche Gravur, ist bestimmt kein Brillenträgerokular, aber auch eines mit Gravur ist nicht immer gut konstruiert. Man verlasse sich keinesfalls auf beruhigende Hinweise des Verkäufers, sondern probiere das ausgiebig vor dem Kauf.

Phasenkontrastobjektive, die in Anfänger-Ratgebern nicht selten fälschlich empfohlen werden, sind in den ersten Jahren überflüssig, unpraktisch und zudem merklich teurer als normale Hellfeldobjektive. Aber gerade weil sie teuer sind, werden sie von den Verkäufern gerne empfohlen.

Das Mikroskop sollte mit sogenannter Normoptik ausgestattet sein, d. h. die Objektive sollen das übliche Gewinde der *Royal Microscopical Society* haben: 0,8“ x 1/36“ (Zum Nachmessen: ca. 20,32 mm x 0,705 mm.) Die Okulare sollen den Norm-Einsteckdurchmesser haben: Durchmesser der Einsteckfassung 23,2 mm. (Wenn man ein neues, modernes Mikroskop mit Unendlichoptik erwirbt, kann es allerdings Abweichungen von diesen Maßen geben.)

In Abstimmung mit den bisher beschriebenen optischen Komponenten sollte der Kondensator (unter dem Objektisch befestigt) eine numerische Apertur von 0,9 haben. Auch eine n. A. von nur 0,6 ist noch akzeptabel, sofern es dafür einen Preisabschlag gibt. Eine höhere n. A. als 0,9 ist teuer und weder notwendig noch praktisch. Aber der Kondensator sollte – am besten mit einem Zahntrieb – höhenverstellbar und mit einer Iris-(Apertur)blende und einem Filterhalter ausgestattet sein. Steckt er nur in einer Schiebehülse, in der er auf- oder abwärts gedreht werden kann, so ist er in der Regel nicht austauschbar und das Mikroskop später nicht mit höherwertigen Komponenten aufrüstbar.

Die beschriebene Mindestausstattung bieten viele Hersteller als **Kursmikroskop** an. Das Lieferprogramm sollte aber noch einige weitere Zubehörteile umfassen, z. B. weitere Okulare, Kondensoren, Tuben, Objektive, andere Beleuchtungseinrichtungen und auch einen Adapter für die Mikrofotografie.

### 4.6.7 Die Ergonomie

Wenn Kindern etwas Spaß macht, klagen sie meist nicht über ungünstige Körperhaltung. Darauf müssen die Eltern achten. Notfalls muß auch zu einem Mikroskop ein niedriger Tisch beschafft werden. Andernfalls kann es leicht zu Muskelverspannungen mit neuralgischen Schmerzen, einem krummen Rücken oder noch Schlimmerem kommen. Es genügt keinesfalls, zum Höhenausgleich einige Kissen oder Lexikonbände auf den Stuhl zu legen!

Ebenso wichtig ist die Einstellung des richtigen Augenabstandes und des Sehschärfeausgleichs an den Okularen. Dazu müssen die Eltern die Bedienungshinweise des Instruments sorgfältig lesen und es zunächst auf ihre eigenen Augen einstellen, damit sie das selbst lernen. Nur dann kann man es auch einem Kind erklären und beibringen und auch regelmäßig die richtige Einstellung kontrollieren. Andernfalls können Kopfschmerzen und Muskelverkrampfungen im Gesicht die Folge sein.

### 4.6.8 Bücher und Anleitungen für Kinder

#### Frage

Gibt es für Kinder geeignete Bücher oder Anleitungen zum Mikroskopieren?

#### Antwort

Ja, nämlich:

Rainer Köthe: *Das Mikroskop*. Ein „Was ist Was – Buch“. 48 S., 106. farb. Abb. Tessloff-Verlag, Nürnberg 1994. DM. 14,80. ----- Begeisternde Fotos und schöne Zeichnungen. Beschränkung auf das Mikroskop in der Biologie. Ausreichende Erläuterungen zum Mikroskop. Seine Handhabung und die der Präparate sind beschrieben. Fachkundige Einführungstexte in die Biologie.

Chris Oxlade; Corinne Stockley: *Das Mikroskopierbuch*. 48. S., viele Abb. arsEdition, München 1989. DM 19,80. ----- Der Unterschied zum vorher genannten Buch könnte nicht größer sein! Es besteht größtenteils aus gut gemachten Zeichnungen mit präzise hinzugeordneten kurzen Texten. Hier wird nichts beschrieben, sondern alles gezeigt, jeder Handgriff, jeder Gegenstand abgebildet und erläutert. Für finanzschwache junge Mikroskopiker gibt es einige praktische Bastelvorschläge, z. B. das selbstgebaute Handmikrotom. Selbstverständlich ist auch in diesem Werk die Biologie der Schwerpunkt, aber es fehlen weder Kristalle, Mineralien, Archäologie, Nahrung und Umwelt noch Kriminaltechnik. Die Gestaltung des Buches ist übersichtlich und augenfreundlich, ohne modische Layout-Gags. Didaktisch ein kleines Meisterwerk. So ein Praxis-Buch hätte manchem von uns manches erspart. Für Jugendliche und Kinder, aber auch für andere krasse Anfänger sehr geeignet.

Antiquarisch findet man immer wieder einmal:

Hagemann, P.; Egli, M.: *Botanik mit der Lupe. Beobachtungen und Versuche*. Kosmos-Bibliothek, Band 295. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1977.

Stehli, G.; Krauter, D.: *Mikroskopie für Jedermann. Methodische Einführung in die Mikroskopie mit praktischen Übungen*. Antiquarisch ab 20. Auflage. (Die letzte war die 22., 1969.) Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart. ---- Auch nach 70 Jahren ist dieses Buch noch immer sehr brauchbar.

Und das Anleitungsbuch (Heftform, DIN A4, Querformat) im oben genannten Mikroskopierset Biologie-Praktikum von Franckh-Kosmos, Stuttgart. Es ist genau so vergriffen wie der Kasten zu dem es gehörte, aber gelegentlich findet man es irgendwo: Zugreifen!

Diese Bücher empfehle ich zur Zeit, für den Anfang besonders das nette Buch von Oxlade/Stockley. Es gibt noch weitere, die mir aber wegen didaktischer und sachlich-methodischer Mängel nicht gefallen.

## 5 Die Mikroskopische Technik

### 5.0 Wichtiger Hinweis zum Umgang mit Chemikalien

Besonders zur Hobby-Mikroskopie stoßen oftmals Menschen aus ganz andersartigen Berufen. Und nicht selten finden sie es, wie das Mikroskopieren selbst, ebenso faszinierend, sich ihre Fixier- und Farblösungen sowie andere Gemische aus flüssigen oder pulvrigen Substanzen selbst herzustellen. Wer dabei unbedenklich mit Pülverchen in Küche, Bad oder Hobbylabor herumstäubt und die Finger in andere Flüssigkeiten als reines Wasser steckt, öfter mal wegen des interessanten Geruchs an einer Chemikalienflasche riecht oder beim Zusammenmischen von Substanzen gröblich von den gegebenen Vorschriften abweicht, gehört zu jener Gruppe von Ahnungslosen und Unwissenden, die über kurz oder lang sowieso unversehens in eine Baugrube fallen oder am beim Spaziergang im Watt von der einlaufenden Flut überrascht werden und im Meer ertrinken. Sie bewahrt selbst eine eindringliche Warnung nicht vor Unheil. Doch für alle mit der festen Absicht, ihre Umwelt und Mitmenschen, wie auch sich selbst angemessen zu schützen, seien folgende Hinweise gegeben.

Wer mit Chemikalien, Wärme oder offener Flamme bedachtsam und fachkundig umgehen möchte, beherzige den Rat, sich nicht auf seine Erinnerung an den Chemieunterricht in der Untersekunda zu verlassen. Allen, die nicht mehr genau wissen, ob man Wasser in eine Säure gießen darf, oder was ein Siedeverzug ist und wie man ihn verhindert, empfehle ich, sich ein **Laborhandbuch** oder dergleichen zuzulegen, um die wichtigsten Grundregeln nachzulesen – aber vorher! Wenn auch nur die geringsten Zweifel beim Umgang mit Chemikalien aufkommen, die ein solches Handbuch nicht beantwortet, unterbreche man die Arbeit, rufe einen erfahrenen Freund an oder suche ein einschlägiges Universitätsinstitut auf und frage dort nach. Auch wenn die für die Mikroskopie verwendeten Mengen gefährlicher Stoffe meist äußerst gering sind: Es gibt Chemikalien und Verfahren, mit denen Spaß man dennoch nicht ungestraft. Zwar muß man über Benzol und Zyankali in diesem Zusammenhang sicherlich keine Worte verlieren. Doch in Bezug auf andere Substanzen strotzt die mikroskopische Fachliteratur nicht gerade vor Warnungen, denn ihre Autoren sind Fachleute, die hauptsächlich für andere Fachleute schreiben.

Beispielhaft seien drei Substanzen erwähnt, die in Rezepten immer wieder als besonders beliebt und wirksam dargestellt werden: Osmiumdämpfe, Chromschwefelsäure, Pikrinsäure.

Die meisten Autoren der mikroskopischen Technik nennen das "Räuchern" mit Osmiumdämpfen als spezielle Art der Fixierung (genauer: Osmiumtetroxid  $\text{Os}_4\text{O}_4$ ). Für Protisten ist sie sicherlich das beste und wirkungsvollste Tötungs- und Fixiermittel, doch ist sie so giftig, daß man sie nicht ohne einen guten Abzug verwenden sollte, behelfsweise auch im Freien. Die Dämpfe sind extrem gefährlich. Eingeatmet, schädigen sie Schleimhäute und die Lungenbläschen. Auch die Hornhaut des Auges können sie zerstören. Statt mit Osmiumsäure kann auch mit Jod- oder Formoldämpfen fixiert werden. Formoldämpfe sind am wenigsten riskant, und die Ergebnisse bei robusteren Formen sind gut. Beim Hantieren mit Joddämpfen bringe man das Mikroskop und alle anderen metallenen Gegenstände sicherheitshalber außer Reichweite.

Mit der Chromschwefelsäure ist ebenfalls nicht zu spaßen. Sie ist so giftig, daß Glassachen, die mit ihr zu Reinigungszwecken behandelt werden, selbst nach gründlichster Spülung nicht mehr für Wasserorganismen verwendet werden sollten. An einigen Universitäten ist ihre Verwendung schlichtweg verboten.

Die als Bestandteil mancher Fixiermitteln beliebte Pikrinsäure (Trinitrophenol) sollte man im Heimlabor ebenfalls besser meiden. Das trockene Pulver ist hochexplosiv und wurde früher im Krieg als Sprengstoff verwendet. Die flüssige Lösung ist krebserregend und wird durch Berührung von der Haut aufgenommen und an innere Organe weitergeleitet.

Diese drei Beispiele sollen hier genügen. Ausgenommen reines Leitungswasser, sind beinahe von den Hunderten anderer Stoffe, die in der Mikroskopie Verwendung fanden und finden, nur wenige extrem giftig oder nachgewiesen krebserregend, alle anderen aber keineswegs völlig harmlos sind. Die meisten lassen sich jedoch in der „Mikroskopierstube“ gut beherrschen. Schließlich ist auch ein scharfes Mikrotommesser in ungeübter Hand ein überaus gefährlicher Gegenstand.

## 5.1 Nützliche Gerätschaften und Utensilien für den Mikroskopiker



Großbaustelle

### 5.1.1 Nützliche Werkzeuge und Utensilien am Arbeitsplatz

(ohne Schneidwerkzeug)

#### 5.1.1.1 Die Instrumentenschale

#### 5.1.1.2 Die Glassachen

Davon kann der Mikroskopiker eigentlich nie genug haben. Neben etlichen sauber gewaschenen und gründlich mit klarem Wasser gespülten Marmeladengläsern zum Wasserproben sammeln brauchen wir auch einige „professionelle“ Glassachen. Man besorge sich den Katalog einer Laborglasfabrik oder einen der Firmen Roth in Karlsruhe oder Wagner & Munz in München. Über eine Suchmaschine im Internet sind weitere Adressen zu finden. Die Kataloge sind in der Regel über 1.000 Seiten stark, schwer und teuer. Trotzdem scheue man sich nicht, einen davon anzufordern, die großen Firmen können das verschmerzen, es gibt ja nur wenige Amateurmikroskopiker. Firma Roth beliefert keine Privatpersonen, jedenfalls nicht mit Chemikalien. Besonders empfehlen möchte ich den Laborglaskatalog der Firma Hecht in Sondheim/Rhön (Marke: „Assistent“). Auch Biologie-Bedarf Thorns in Göttingen liefert Assistent-Artikel.

Bei einigen Flaschen und **Färbeküvetten**, das sind besonders gestaltete Glasbehälter mit Deckel, in die man die Objektträger mit den zu färbenden Präparaten einstellt, ist es nicht nur reine Geschmacksache, welche Form und Ausführung man wählt. Manche Färbungen macht man direkt auf dem Objektträger durch Auftropfen mit einer Pipette oder einer Injektionsspritze, das ist sparsam. Andere Farbstoffe sind so ergiebig, daß man Hunderte von Objektträgern in einem viertel Liter Lösung färben kann. In so einem Fall, wenn die Einsparung an teurer Farblösung keine Rolle spielt, ist eine Färbeküvette geeigneter.

Von den verschiedenen Formen der Färbeküvetten, SCHIEFFERDECKER, HELLEND AHL oder COPLIN, ziehe ich die letzten vor. Ihr großer, runder Fuß verleiht ihnen Standfestigkeit, während die nach Hellendahl zum Umfallen neigen. Überhaupt die Kleckserei! Es gibt große, flache **Glaswannen** aus Jenaer Glas, die man als Unterlage für viele Zwecke benutzen kann: als Sicherheitsschale beim Umgießen von Flüssigkeiten, beim Hantieren mit Pipette und Trichter usw. Solche Glaswannen lassen sich unter dem Wasserhahn leicht sauber spülen.

Werden **Pipettenfläschchen** mit einem **Holzblock** mit Bohrungen, in die man die Flaschen stellt, angeboten, sollte man beim Kauf nicht geizen. Diese Holzblöcke kann man sich so schön kaum selbst herstellen, und man braucht sie unbedingt. Besonders Pipettenflaschen mit eingeschliffenen Glasstopfen kippen leicht um, wenn mit ihnen hantiert wird. Außerdem hat jede Flasche im Holzblock ihren Platz, so daß sie nicht auf dem Tisch durcheinander geraten können.

Eine Quelle ständiger Frustration sind die opaken, gelben **Pipettenhütchen** (Gummisauger) aus Naturkautschuk. Sie werden schnell unbrauchbar, besonders auf Flaschen mit Essigsäure, Alkohol usw. Die besseren roten aus steifem Gummi, sind teuer, aber diese Ausgabe lohnt sich.

Meine braunen **Chemikalienflaschen** kaufe ich beim Apotheker um die Ecke. Sie kosten bei ihm auch nicht mehr als im Laborfachhandel, und ich muß nicht wochenlang darauf warten.

Nicht direkt zu den Glassachen gehören die Etiketten, doch sollen sie erwähnt werden. Ich drucke sie mir auf dem PC-Drucker und klebe sie mit einem breiten Tesafilmstreifen auf der Flasche fest, und zwar klebe ich mehrere lange Streifen untereinander so über das Papieretikett, daß das Papier völlig unter dem Tesafilm liegt. Wenn, was immer mal wieder vorkommt, etwas von der meist aggressiven Flüssigkeit beim Ausgießen an der Flasche herunterläuft, kann es das Papier nicht auflösen oder die Schrift verschmieren. Damit ein Tropfen sauber abläuft und nicht an einer Tesafilmkante hängen bleibt, klebt man die Tesafilmstreifen so, daß sie sich dachziegelartig überlappen, also die untersten zuerst und die oberen darüber.

**Glasglocken** sind für den Mikroskopiker, der stets einen schier aussichtslos erscheinenden Kampf gegen den Staub führt, sehr nützlich. Man kann mit ihnen optisches Zubehör des Mikroskops oder geputzte

Objektträger und Deckgläser abdecken. Geeignet ist Laborglas, aber auch eine billige Käseglocke aus dem Haushaltswarengeschäft.

Die Wärmebank

Das Spirituslämpchen

Das kleine Talglicht im Alubecher

Der Deckglastaster

Beschreibung siehe Kapitel 5.3.7.

Die Lackringdrehscheibe

Die Arbeitsleuchten

Die Papierrolle

Das Abfallkästchen und der Eimer

Der Wasserkanister mit Hahn

Nützliche Utensilien und Werkzeuge für unterwegs

Die Lupe

Das Notizheft

Die Papiertüten

Das Taschenmesser

Die Schere und die Rasierklinge

Die Blechschachtel mit AFE-Glasröhrchen

Die Wäscheklammer

Die Botanisiertrommel

## 5.2 Objekte sammeln und fixieren



Baustelle

### 5.2.1 Mikroskopischer Sammel- und Arbeitskalender

Unter diesem Titel erschienen um 1910 im MIKROKOSMOS nützliche Tips von Professor SIGMUND, von dem auch manche schöne MIKROKOSMOS-Präparateserie aus den zwanziger Jahren stammt. Seine Sammel- und Arbeitshinweise wurden bis 1942 etwa alle 10 Jahre neu abgedruckt. Wir machen nun dasselbe. Die Natur verhält sich ja heute nicht anders als 1910, so daß die praktischen Hinweise von Prof. Sigmund immer gültig sind.

### Juli und August

1. Dankbare Objekte zur Untersuchung der Schlauchsporen sind die auf faulendem Holze und auf Baumrinden erscheinenden Becherpilze, desgleichen die in manchen Gegenden häufigen Morcheln. Das Material wird in 80 – 96 %igen Alkohol gelegt, vor dem Schneiden gelangt es in Glycerinalkohol (Glyz. u. 80 – 96 %igen Alkohol zu gleichen Teilen). Dünne Schnitte senkrecht zur Becher- und Hutoberfläche lassen deutlich die mit Sporen gefüllten Schläuche erkennen. Die Schnitte können aus Glycerinalkohol direkt in Glyzeringelatine eingeschlossen werden.

2. Auf Roggenfeldern treten in den Ähren die schwarzen Sklerotien des Mutterkornes auf. Man sammelt zahlreiche von ihnen und bewahrt sie in einer Pappschachtel auf. [Anmerkung vom Verf. Der Mikrofilbel: Heutzutage ist es nicht mehr ganz so einfach, Mutterkorn "zahlreich" zu finden. Man muß genauer hinschauen als vor 75 Jahren, kann es aber durchaus entdecken, wenn auch etwas mühsamer als früher. Doch in den letzten Jahren breitet sich dieser gesundheitsgefährliche Pilz infolge biologischer Anbaumethoden ohne Pilzbekämpfung stellenweise wieder so stark aus, daß er neuerlich zu einem schwerwiegenden Problem werden könnte.] Im Frühjahr legt man sie auf feuchtes Löschpapier oder auf feuchtgehaltene Blumentöpfe. Nach wenigen Tagen erscheinen fleischrote Stielchen mit runden Köpfchen am freien Ende. In diesem Entwicklungszustande bringt man das Material in 80 – 96%igen Alkohol oder macht durch das frische Objekt Schnitte, die senkrecht zur Köpfchenoberfläche gerichtet sind. Der Querschnitt zeigt dicht unter der Köpfchenoberfläche keulenförmige Taschen, die mit Schläuchen gefüllt sind. Erst in diesen Schläuchen beobachtet man bei stärkerer Vergrößerung (etwa 300 x linear) die fadenförmigen Sporen. *Secale cornutum* eignet sich sehr für Schuldemonstrationen.

3. Die mannigfachen Formen unserer genießbaren Hutpilze, deren Hutunterseite mit radial gestellten Blättern bedeckt ist, zeigen auf diesen Blättern die sogenannten Basidien mit Sporen, das sind dünne, verzweigte oder unverzweigte Fäden, die senkrecht vom Blatte emporwachsen und an ihrem freien Ende meist vier kugelige oder eiförmige Sporen tragen. Die besten Objekte sind solche, deren Blätter sich gerade zu bräunen beginnen. Man bricht ein Blatt heraus und führt mit dem befeuchteten Rasiermesser zarte Oberflächenschnitte, die man mit dem Pinsel in den Wassertropfen des Objektträgers hineinschiebt. Gehärtetes Material ist undankbar.

4. Das Heer der Rostpilze bietet leicht zugängliches und instruktives Material.

- a) Auf den Blättern des Huflattichs *Tussilago farfara* erscheint in Form orangegelber, erhabener Flecken *Aecidium tussilaginis*, deren Sommer- oder Uredosporen als *Puccinia poarum* auf *Poa annua*, einem Unkrautgrase wüster Plätze und Straßenränder auftreten.
- b) *Aecidium euphorbiae* bedeckt die Blätter der überall gemeinen zypressenartigen Wolfsmilch *Euphorbia cyparissias* als dicht nebeneinanderstehende rote Punkte und verleiht der Pflanze, die nicht zum Blühen kommt, ein kümmerliches Aussehen. Die dazugehörige Uredosporengeneration (*Uromyces pisi*) kommt auf zahlreichen Arten von *Vicia* (Wicken) vor.
- c) Auf den Blättern des Sauerdornes *Berberis vulgaris* tritt *Aecidium berberidis* auf, gleichfalls in Form runder, erhabener Flecken von orangeroter Farbe. Seine zugehörige Uredosporenform ist der schädliche Getreiderost *Puccinia graminis*, dessen Sporenlager als schwarze Flecke die Blätter zahlreicher Grasarten bedeckt.



*Aecidium berberidis* und *Aecidium tussilaginis* sind auf der Blattober- und -unterseite verschieden ausgebildet. Die Becher der Unterseite sondern große, in Reihen angeordnete Sporen ab, die der Oberseite sind eiförmig und mit Fäden erfüllt, deren freies Ende in kleine Sporen zerfällt.

Frisches und in Alkohol gehärtetes Material gibt prächtige Querschnittpräparate, die sogleich in Glyceringelatine aufbewahrt werden können. Bei stärkerer Vergrößerung beobachtet man die Pilzfäden, die als dichtes Netz das Zellgewebe des Blattes durchsetzen, überall Saugzweige in das Zellinnere treibend.

5. Von den Peronosporen ist *Cystopus candidus* am leichtesten zu erreichen. Es überzieht Hirtentäschel und andere Kreuzblütler als weiße, polsterförmige Erhebung. Auf Querschnitten durch Stengel und Pilzlager treten die büscheligen Konidienlager hervor, deren Fäden am freien Ende Konidien (Sporen) in langer Kette absondern.

6. Die Wedel unserer einheimischen Farne bilden auf ihrer Unterseite oder auf dem Blattrande Sporenträger aus, die zu Reihen oder Häufchen angeordnet sind. Man sammle sie zu verschiedenen Zeiten, wenn sie noch grün sind, und wenn sie schon bräunen oder als schwarze, staubige Flecken die Wedel bedecken. Querschnitte zwischen Holundermark zeigen die gestielten Sporenbehälter; an reifen Sporangien kann man das plötzliche Öffnen beobachten, wenn man dem trockenen Schnittpräparate unter dem Deckglase einen Tropfen Wasser zusetzt. Es schnellt dann der dickwandige Zellring infolge hygroskopischer Schwellung seiner Zellwände zurück und reißt die dünnwandige Sporangienwand ein.

7. Fast alle einheimischen Orchideen sind zur Beobachtung der in den Fruchtknoten einwachsenden Pollenschläuche geeignet. Man gräbt ein oder mehrere noch nicht vollständig erblühte Exemplare mit dem Wurzelballen aus, wobei zu beachten ist, daß die Knollen nicht abreißen, und bringt sie in Blumentöpfe. (*Liste der geschützten Arten beachten! Orchideen sind heute alle geschützt, nicht eine einzige darf ausgegraben werden!*)

Sind die Blüten befruchtungsreif, so bleiben die Pollenpakete an einem Bleistifte, einem Stückchen Holz, das man in den Sporn steckt, von selbst hängen; ein solches Paket bringt man auf die Narbe einer zweiten Pflanze, wo es leicht haftet. Die Narbe ist der feuchtglänzende Fleck unter den Pollensäcken. Nach mehreren Tagen (bei *Epipactis palustris* z. B. nach drei bis fünf Tagen) macht man durch die Blüte mediane Längsschnitte. Man hat zu dem Zwecke zuvor alle Blütenblätter entfernt. Mit einer Nadel wird der auf dem Längsschnitt bei Lupenvergrößerung schon sichtbare Kanal, welcher von der Narbe in den Fruchtknoten führt, erweitert, und nun liegen die darin wachsenden Pollenschläuche frei. Mehrere haben gewiß schon je eine Samenanlage erreicht und sie befruchtet. (*Epipactis palustris ist heute geschützt, weil sehr gefährdet, heute aber auch im Gartenfachhandel erhältlich. – Verwendbar sind auch Orchideenarten aus dem Blumengeschäft, evtl. sogar Schnittblumen, da verschiedene Orchideen sich in der Vase recht lange halten. Dank für diesen Hinweis an U. Bayer, Potsdam.*)

8. Im Juli und August trifft man in Fichtenwäldern nicht selten eine blaßgelbe Pflanze, deren Blütenstand etwas nickt, den Fichtenspargel *Monotropa hypopitys*. Querschnitte durch den Fruchtknoten lassen die vier Fächer mit den Samenanlagen erkennen. Mit der Nadel werden die Samenanlagen vorsichtig von der Unterlage abgestreift und in den Wassertropfen des Objektträgers gebracht. Je nach der Größe und Reife der Blüte vermag man durch den freiliegenden Embryosack hindurch alle Vorgänge der Entwicklung zu studieren. Um die Zellkerne deutlicher sichtbar zu machen, setzt man dem Präparate einen Tropfen 2%-Essigsäure zu. Alkoholmaterial bräunt sich nach kurzer Zeit. Setzt man ihm aber ein bis zwei Tage vor der Untersuchung zwei Volumenteile starker (mit 1/5 Wasser) verdünnter Salzsäure zu und stellt das Gemisch bis zur Untersuchung ans Licht, so werden die Embryosäcke wieder durchsichtig. Bevor man sie unters Mikroskop bringt, sind sie mit reinem Alkohol ein- bis zweimal zu waschen.

9. Ein Stück Dachmoos ist am besten nach einem Regen in eine Glasschale auszupressen; das Wasser enthält eine Menge Amöben, Sontentierchen, Dufflugen usw. Mit Hilfe einer fein ausgezogenen Pipette (Blutpipette) fängt man sie unter der schwächsten Vergrößerung des Mikroskopes heraus und legt sie auf den Objektträger in einen Wassertropfen, den man ganz flach ausbreitet. Mit und ohne Deckglas lassen sich stundenlang Beobachtungen am lebenden Material anstellen. Zum Zwecke der Fixierung legt man den Objektträger mit dem nach abwärts gekehrten flachen Tropfen auf ein Gefäß mit 1-2 % Osmiumsäure. Die Objekte sind nach einer Minute gut fixiert und haften im flachen Tropfen am Glase. Färbungen mit Alaunkarmin und Safranin (45% alkohol. Lösung) gelingen gut und leicht. Einschließen in Glycerin oder Balsam. (Vorsicht vor Osmiumsäure, stark giftig, reizend und gefährlich).

## Oktober

1. Der Oktober ist die geeignetste Zeit für die Untersuchung pflanzlicher Reservestofflager und Speicherorgane. Die meisten Pflanzen haben ihre sommerliche Vegetationszeit beendet und ihre überschüssigen Assimilate für den Beginn der nächsten Vegetationszeit bereitgelegt.

- a) Quer- und Längsschnitte durch junge Laub- und Nadelholzweige zeigen die mit Stärke erfüllten Markstrahlen und Holzparenchymzellen.
- b) Die Wurzelstöcke zahlreicher Land- und Wasserpflanzen, wie Salomonsiegel (*Polygonatum multiflorum*), Buschwindröschen (*Anemone nemorosa*), Schwertlilien und Georginen (Dahlien), Wasser-schwertlilie und Kalmus haben neue Triebe gebildet, die mit Stärkekörnern dicht erfüllt sind; dünne Quer- und Längsschnitte geben schöne Bilder, die durch Jodlösung noch deutlicher werden. Ein Tropfen wässriger Jodlösung wird dem Präparate unter dem Deckglase zugesetzt, wodurch alle Stärke eine bläuliche Färbung annimmt. Dauerpräparate können aus Alkoholmaterial (härten in 96% Alkohol 24 bis 48 Stunden, weiter konservieren in 75% Alkohol) leicht hergestellt werden, vertragen aber keine Jodreaktion. Als Einschlußmittel eignet sich am besten Glyzeringelatine oder reines Glycerin.

Andere Reservestoffbehälter sind die Kartoffelknolle, die Sellerie, Zwiebel, Knoblauch, die Samen der Hülsenfrüchte, der Getreidearten. Die Behandlung ist die gleiche wie bei den vorher besprochenen Objekten.

2. Reiches Material bietet der Oktober in den verschieden gefärbten Früchten der Laubhölzer, des Gemüsegartens usw. Die Früchte des Pfaffenkääppchens (*Euonymus europaeus*), des Ligusters, der Rosenarten (Hagebutten), des Paradiesapfels (Tomate), des Spargels (*Asparagus officinalis*) werden am besten frisch untersucht. Dünne Oberflächen- und Querschnitte durch die farbige Fruchtschale lassen die verschieden geformten Farbstoffkörper leicht erkennen. Bei *Asparagus officinalis* z. B. sind es stark zugespitzte orangefarbene Spindeln, bei der Tomate haben sie die Gestalt der Chlorophyllkörner; Farbstoffkörper in Kristallformen finden sich im Fleische der Möhre (*Daucus carota*).

3. Farbstoffträger anderer Art bedingen die herbstliche Laubfärbung. Bei *Ampelopsis hederacea* z. B. (wilder Wein) ist der Zellsaft der tieferliegenden Blattgewebe rosarot gefärbt, bei den Ahornblättern hingegen nehmen die zerfallenden Chlorophyllkörner eine gelbe bis rote Färbung an und erzeugen dadurch die prächtigen Farbnuancen des herbstlichen Laubes. Dauerpräparate sind nicht haltbar.

4. Interessante Beobachtungen über herbstliche Gewebebildungen lassen sich an den Blattstielen der Roßkastanie *Aesculus hippocastanum* anstellen. Zum Zwecke der Untersuchung trennen wir einen Blattstiel mit etwas anhaftender Zweigrinde und führen sodann zarte Median- (Längs-) Schnitte durch das Blattstielgelenk und die anhaftende Rinde. Der Schnitt zeigt eine 6 bis 8 Zellreihen dicke Korksicht, welche das Gelenk quer durchsetzt und in die Zweigrinde übergeht. Diese Korksicht wurde schon im Sommer angelegt und ist von den Gefäßbündeln durchsetzt. Jetzt im Herbst bildet sich einige Zellreihen oben im Blattstiele eine Trennungsschicht aus gelblichen Zellen, die sich alsbald gegeneinander abrunden so außer Verband geraten. Der leiseste Windstoß bricht das Blatt an dieser Stelle ab. Der lebende Stamm ist nun nach außen an der Wundstelle durch eine Korksicht geschützt, gleichzeitig wurden die Gefäßbündel an dieser Stelle durch fett- und tanninhaltige Pfropfen verstopft. Schnitte aus frischem Material werden, bevor sie in Glyzeringelatine eingebettet werden, 15 Minuten in absoluten Alkohol gelegt. Auch das Kastanienblatt erhält seine herbstliche Färbung von den zerfallenden, gelb werdenden Chlorophyllkörnern, wovon ein dünner Blattquerschnitt leicht überzeugt.

5. Im Oktober kommen zahlreiche Algen der Bäche und Tümpel, die in der heißen Hochsommerzeit verschwunden waren, zu neuer Entwicklung. Man sammle sie und bringe sie für den Winter in Aquarien, wo sie jederzeit zu Experimenten über Zellteilung und -vermehrung zur Verfügung stehen.

(Aus MIKROKOSMOS, Jg. 3, 89ff (1909/10) und Jg. 14, 19f (1920/21))

Tabelle siehe nächste Seite.

Januar	Moosfauna (alle unter Moos lebenden Rhizopoden, Tardigraden, Infusorien und Rotatorien)	Nahrungs- und Genußmittel, konserviertes Tier- und Pflanzenmat., Zuchtmaterial	Winterplankton
Februar	Flechten und		
März	Blualgen	Kieselalgen	
April		Plankton	
Mai		Copepoden	
Juni	Pflanzenanatomie, Insektenbiologie		Rhizopoden
Juli			Infusorien
August		Plankton	Cladoceren
September			
Oktober		Kieselalgen	
November			Blualgen, Moose, Nahrungsmittel
Dezember			konserviertes Pflanzen- u. Tiermaterial, Zuchtmaterial, techn. Mikroskopie

Aus MIKROKOSMOS, Jg. 14, 19f (1920/21)

### 5.2.2 Pollen sammeln und präparieren

#### Zusammenfassung

Formenvielfalt, leichte Beschaffung und einfache Präparationsverfahren regen zur Beschäftigung mit Pollen an. Wegen ihres geringen apparativen Aufwands eignen sich besonders einige Zweige der angewandten Forschung für den Liebhabermikroskopiker, z. B.:

- **Pollenanalyse** (Wald- und Klimageschichte, geologische und archäologische Altersbestimmung),
- **Aeropalynologie**
- **Honigpollenanalyse**
- **systematische Pollenkunde.**

Auch die Grundlagenforschung bleibt dem Amateur nicht verschlossen.

Aber auch wer einfach nur schauen und sich an der Formenvielfalt erfreuen will, wird die Pollenkunde faszinierend finden.

Alle Zweige der Pollenkunde sind wegen der Kleinheit der Objekte exklusiv dem Mikroskopiker vorbehalten.

Für das Sammeln, Aufbereiten und Präparieren von Pollen hat sich eine überschaubare Anzahl von **Methoden** seit über sechzig Jahren bewährt.

Die wichtigsten werden eingehend erläutert. Alle erwähnten Rezepturen sind beschrieben.

Besonderer **Schwerpunkt** der Darstellung sind Checklisten und Handgriffe für den Anfänger.

Näheres im 17seitigen Aufsatz *Pollen sammeln und Präparieren*. Link in der Homepage der MVM unter Aufsätze.

## 5.3 Objektträger und Deckgläser

### 5.3.1 Mechanische und optische Anforderungen

An Objektträger und Deckgläser müssen heute hohe Anforderungen gestellt werden, weil die Untersuchungsmethoden anspruchsvoll geworden sind. Durchlicht-Hellfeld reicht in den meisten Fällen nicht mehr aus. Generell sollten normgerechte Deckgläser und Objektträger verwendet werden, wie sie nach DIN 58884 und anderen Normvorschriften wie TGL 18987 gefordert werden. Die äußeren Abmessungen von 76 x 26 mm und beim Gießener Format von 48 x 28 mm sind leicht einzuhalten.

In Labormaterialkatalogen werden jedoch auch Objektträger mit abweichenden Maßen angeboten, so z. B. 26 x 75 oder gar 25 x 75 mm. Oder es werden Objektträger mit solchen abweichenden Maßen einfach geliefert, ohne daß im Katalog darauf hingewiesen ist. Man verwendet solche abweichenden Objektträger in klinischen Labors u. a. für Blutuntersuchungen. Wegen ihrer Kürze fallen sie aus den Stegen in den Präparateaufbewahrungskästen, purzeln darin umher und verursachen üblen Glasbruch.

Im Vergleich zu den mechanischen sind die optischen Anforderungen noch wichtiger und schwieriger einzuhalten. Die **Dicke der Objektträger** muß so bemessen sein, daß Schnittweite und Verstellbereich des Kondensors die Abbildung der Leuchtfeldblende in der Objektebene zulassen. Für die anspruchsvolle Mikroskopie und Mikrofotografie sollten Objektträger mit möglichst geringen Abweichungen vom Normwert 1,1 mm verwendet werden. Beim Einsatz von Dunkelfeldkondensoren mit geringer Schnittweite, z. B. von Kardiodkondensoren, läßt sich bei Objektträgern mit Dicken über 1,1 mm das Dunkelfeld nicht mehr einstellen.

1,2 mm ist meist schon zu dick. Außerdem müssen sie peinlich sauber sein und sollten keine Luftbläschen oder Fremdkörper im Glas enthalten.

Mitunter ist die erforderliche Objektträgerdicke auf dem Dunkelfeldkondensator oder in seiner Bedienungsanleitung angegeben.

Die Ansprüche an die Glas- und Oberflächengüte wie Planparallelität, Homogenität und Farbfreiheit richten sich nach den Mikroskopieverfahren. Die Fluoreszenzmikroskopie verlangt Objektträger mit minimaler Eigenfluoreszenz im Anregungsbereich. Mit dem Fluoreszenzmikroskop muß man die Untergrundaufhellung des Fluoreszenzbildes beurteilen. Für polarisationsoptische Messungen, besonders bei Objekten mit geringen Gangunterschieden, müssen die Objektträger und Deckgläser frei von Spannungsdoppelbrechungen sein.

### 5.3.2 Geschnitten, feinbekantet, gefrostet?

#### *Frage*

Welche Objektträger soll ich kaufen? Ist das egal?

#### *Antwort*

Nein, das ist nicht egal. Es gibt unterschiedliche Arten:

- einfach geschnittene, mit scharfen Kanten, die bei Aufsicht auf eine Kante grünlich schimmern;
- mit geschliffenen Kanten, „feinbekantet“; die Kanten sind weißlich;
- mit aufgerauten Enden zum Beschriften mit einem Glasschreibstift.

Die einfach geschnittenen, unbekanteten und deshalb scharfkantigen Objektträger verursachen oft auf dem Objektstisch feine, mit bloßem Auge nicht sichtbare Schrammen und feinsten Abrieb, der dann als Staub auf die Gleitbahnen und in die Zahntriebe des Mikroskops gerät, dort schmirgelnd Schaden stiftet und die hauchdünnen Fettfilme im Laufe der Jahre zu einer zähen und bröckeligen Masse verklebt. Sicherer sind die feinbekanteten Objektträger.

An den scharfen Kanten der einfachen, geschnittenen Objektträger kann man sich leicht verletzen.

Gefrostete oder an einem Ende aufgeraute Objektträger braucht man nur in klinischen Untersuchungslabors, wo man schnell Notizen auf dem rauhen Teil anbringt, ein Belegfoto anfertigt und das Präparat anschließend wegwirft.

Wenn man Dauerpräparate selbst anfertigt, sollte man immer feinbekantete Objektträger wählen.

### 5.3.3 Vorgeputzte Objektträger und Deckgläser?

Auf die Deklaration, die Objektträger seien vorgeputzt und somit sauber und sofort verwendbar, verlasse man sich niemals. Es ist zwar meist kein Hüttenrauch mehr auf dem Glas, aber jede Menge Detergenzienreste von der Reinigung. Für die klinische Mikroskopie mag das ausreichen, aber vielen lebenden Mikroorganismen ist das nicht bekömmlich. Oft haften auch Einschlußmittel, Deckglaslack oder Beschriftungsetiketten nicht auf „geputztem“ Glas. Objektträger und Deckgläser müssen deshalb vor ihrer Verwendung sorgfältig gereinigt werden.

### 5.3.4 Objektträger und Deckgläser reinigen

Gebrauchsfertig vorgereinigte“ Gläser haben einen großen Vorteil: Sie sind frei von Hüttenrauch. Noch bis in die siebziger Jahre konzentrierten sich die meisten Rezepte auf die Beseitigung dieses staubig-fettig-schmierigen Belags aus der Glashütte. Gelegentlich taucht, aus einer Hinterlassenschaft oder einer „Hobbyaufgabe“ stammend, ein Sonderposten Objektträger auf, die noch Hüttenrauch aufweisen. Jeder muß dann selbst wissen, ob er in seiner wertvollen Freizeit alte Objektträger mit konzentrierter Salpetersäure, Chromschwefelsäure (Kaliumdichromat mit konz. Schwefelsäure), Natronlauge und Ammoniak reinigen möchte. Planktonfreunde, aufgepaßt: Objektträger und anderes Glas, das mit lebendem Material in Berührung kommen soll, darf nicht mit Dichromatschwefelsäure gereinigt werden, weil vom Glas absorbierte Chromsalze Vergiftungen verursachen! Der Umgang mit dieser Säure ist nicht ungefährlich. Besser wirft man alte Objektträger gleich weg.

Niemals Brennspritus zum Putzen von Objektträgern und Deckgläsern verwenden! Die Vergällungsmittel darin enthalten u. a. rückfettende Fuselöle. Für Lebendpräparate ist das nicht günstig, wenn auch manche Mikroskopiker meinen, sie hätten noch keine Nachteile bemerkt. Wimper- und Rädertiere reagieren wohl weniger empfindlich und schnell, aber Algen unter Umständen rasch.

Hier mein Rezept für die Reinigung von Objektträgern ohne Hüttenrauch.

1. Mit heißem Rei- oder Seifenwasser abwaschen, am besten Kernseife; abspülen.
2. 12 ml Frosch-Essigreiniger auf 1 Liter Wasser: Objektträger mehrere Tage einstellen (Marmeladenglas). Objektträger-Oberflächen dürfen nicht aneinanderkleben!
3. Trocken reiben und in Marmeladenglas mit dest. Wasser tauchen, dem einige Tropfen Ammoniak beigemischt sind.
4. In Marmeladenglas mit Mischung 1:1 aus Ethylalkohol 96-98 % und Äther stellen, 1 Woche.
5. Mit sauberem Leinenlappen kräftig abreiben und unter Glasglocke aufbewahren. Methode gilt auch für bereits benutzte Objektträger. Objektträger immer mit Pinzette und Leinentuch halten, nicht mit den Fingern anfassen!

So werden meine Objektträger garantiert fettfrei. Skeptiker ziehen sie kurz vor Gebrauch mit der zu benutzenden Seite kurz durch die Bunsenbrennerflamme. Dann sind sie aber wirklich fettfrei! Wichtig ist das Leinentuch, weil Baumwolltücher fusseln. Lederlappen sind ebenfalls nicht geeignet. Leinentücher werden auf Flohmärkten angeboten („noch von der Großmutter“).

Man kann (saubere) Objektträger auch in Methylalkohol stellen und sie beim Herausnehmen in dest. Wasser tauchen und anschließend gut abreiben.

ROMEIS (16. Aufl. 1968) empfiehlt: Wenn Objektträger auch nach wiederholt sorgfältigstem Reinigen Wasser nicht gleichmäßig annehmen, einen Tropfen einer 20 %igen Natronlauge auf den Objektträger setzen, ihn mit einem Wattebausch tüchtig verreiben, dann mit Wasser abspülen und mit einem Seidentuch abtrocknen. In der 17. Auflage (1989) heißt es hingegen nur noch: „Fabrikat wechseln.“

### 5.3.5 Über die richtige Deckglasdicke

Der Strahlengang eines Durchlichtobjektivs ist so berechnet, als wäre das Deckglas von 0,17 mm Dicke seine erste Linse. Dabei werden sechs Eigenschaften berücksichtigt:

- die Dicke,
- der Brechungsindex,
- die Dispersion,
- die Homogenität des Glases,
- seine Oberflächenqualität und
- der Raum zwischen Objekt (Präparat) und der Unterseite des Deckglases.

Wichtig ist auch die sogenannte hydrolytische Klasse des Glases, die angibt, wie verwitterungsbeständig das Glas ist. Deckgläser sollten zur 1. *hydrolytischen Klasse* gehören.

Besonders der Mikrofotograf muß darauf achten, Fehlerquellen in Bezug auf die Eigenschaften auszuschließen, sonst bleibt sein Bild trotz allen fototechnischen Könnens manchmal unscharf und ohne rechten Kontrast.

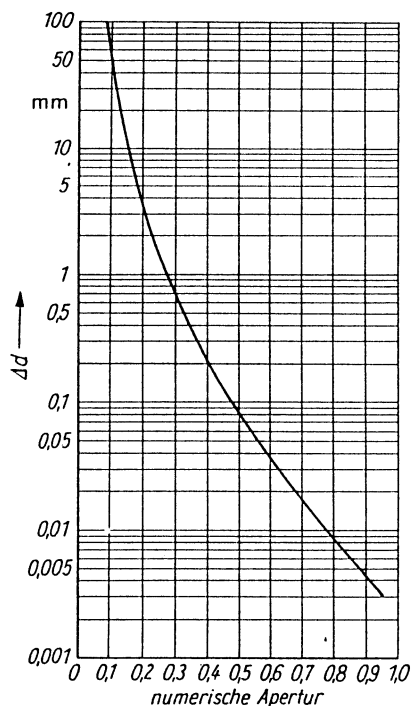
In den Normvorschriften für Deckgläser sind enge Grenzen für Brechzahl, Dispersion und Dicke gegeben. Nur für Objektive von kleiner numerischer Apertur bis etwa  $A = 0,3$  ist die Deckglasdicke für die Bildgüte gleichgültig bzw. ob das Objektiv mit oder ohne Deckglas verwendet wird. Auch bei der homogenen Immersion kann die Deckglasdicke im Bereich des Arbeitsabstandes des Objektivs vernachlässigt werden. In allen anderen Fällen wächst der Einfluß abweichender Deckglasdicke auf die Bildgüte mit zunehmender numerischer Apertur rasch an. Der durch eine abweichende Deckglasdicke erzeugte Öffnungsfehler kann als Längsaberration durch die Gleichungen dargestellt werden:

$$s' = d \left( \frac{1}{n} - \sqrt{\frac{1 - A^2}{n^2 - A^2}} \right) \text{ bei starken Objektiven oder}$$

$$s' = \frac{n^2 - 1}{2n^3} d A^2 \text{ bei schwachen Objektiven}$$

Darin ist  $d$  die Deckglasdicke,  $n$  deren Brechzahl, und  $A$  die numerische Apertur.

Auch die Dicke der Balsamschicht zwischen Deckglas und Objekt geht in die Berechnung ein.



Die nebenstehende Kurve zeigt die **zulässige Dickenabweichung** eines Deckglases in Abhängigkeit von der numerischen Apertur eines Trockenobjektivs aufgrund des entstehenden Öffnungsfehlers.

Die obige Abbildung (Kurve) zeigt deutlich, wie fließend die Übergänge zwischen den Bereichen der Tabelle sind. Auch hängt das Verhalten eines Objektivs hinsichtlich der tolerierbaren Grenzwerte auch von seinem optischen Aufbau ab.

Als allgemeine Grundregel können wir uns merken, daß Trockenobjektive mit numerischer Apertur größer als 0,65 auf Abweichungen empfindlich reagieren, um so mehr, je höher die Apertur ist. Die zulässigen Abweichungen – siehe Tabelle – sind gering, aber diejenigen der Gläser in den handelsüblichen Deckglasschachteln erschreckend hoch, dort finden sich Deckgläser bis zu 0,25 mm Dicke! Die Sache wird noch dadurch verwickelter, daß die Deckgläser in derselben Schachtel nicht nur unterschiedlich dick, sondern auch keineswegs immer plan sind! Viele sind krumm, auch solche von namhaften Herstellern. Von planparallel kann oftmals keine Rede sein. Wer einen Stapel Deckgläser hochkant auf einen Objektträger stellt und die Dicke mit einem Okularmikrometer an der Deckglaskante bestimmt, erhält mit einem hochaperturigen Objektiv auch bei vermeintlich sorgfältiger Deckglaswahl nicht unbedingt ein scharfes Bild.

Starke Trockenobjektive werden nach heutigem Standard meistens für eine Deckglasdicke von 0,17 mm berechnet. Manche Hersteller wichen zeitweise davon ab, berechneten ihre Objektive z. B. für eine Deckglasdicke von 0,18 mm. Welche Dicke bei der Objektivkonstruktion zugrunde gelegt wurde, ist an der Objektivgravur abzulesen. „160 / 0,17“ bedeutet, daß dieses Objektiv für 160 mm Tubuslänge und 0,17 mm Deckglasdicke berechnet ist und hinsichtlich der Abbildungsqualität auf Abweichungen von dieser Dicke empfindlich reagiert. „160 / -“ besagt, daß das Objektiv mit oder ohne Deckglas verwendet werden kann und „160/ o.“ oder „.../ o. D.“, daß es nur ohne Deckglas verwendet werden sollte. Manchmal bedeutet die Abkürzung „O D“ auch: Mit oder ohne Deckglas zu verwenden. Die Abkürzungen sind aber nicht einheitlich unter den Herstellern, deshalb folgt hier eine allgemein gültige Tabelle zur Empfindlichkeit unterschiedlicher Objektive auf die Deckglasdicke.

Objektivapertur (n. A.)	zulässige Abweichung vom Sollwert 0,17 in mm	Zirka-Bereich der zulässigen Deckglasdicke in mm
0,08 — 0,3		0 — 0,3
0,3 — 0,44	± 0,07	0,1 — 0,24
0,45 — 0,55	± 0,05	0,12 — 0,22
0,55 — 0,65	± 0,03	0,14 — 0,20
0,65 — 0,75	± 0,02	0,15 — 0,19
0,75 — 0,85	± 0,01	0,16 — 0,18
0,85 — 0,95	± 0,005	0,165 — 0,175

Tabelle: Optik für Mikroskope. Carl Zeiss, Oberkochen 1971.

Bei der Einbeziehung der Deckglasdicke von 0,17 mm in die Objektivberechnung geht man davon aus, daß das auf dem Objektträger eingeschlossene Objekt direkt unter dem Deckglas liegt, also dessen Unterseite berührt. Ist das aber, wie so oft, nicht der Fall, muß zur Dicke des Deckglases noch die Schicht des Einschlußmittels (Glyzeringelatine, Kanadabalsam, Malinol, Euparal etc.) zwischen dem Objekt und dem Deckglas hinzugerechnet werden, und die ist manchmal recht dick! Besser als immer wieder mißtrauisch die Frontlinse des 40ers putzen, ist es, erst einmal das Präparat selbst genau unter die Lupe zu nehmen, ob nicht Deckglas plus Einschlußmittel zusammen weit außerhalb des Bereichs der zulässigen Deckglasdicke (gemäß obiger Tabelle) liegen. In diesem Fall kann das Bild weder scharf noch kontrastreich sein.

Besonders „Planktonfreunde“, die z. B. den Feinbau einer Diatomeenschale studieren wollen, sollten darauf achten, daß sich keine wesentlich dickeren Objekte als die besagte Diatomeenschale unter dem Deckglas befinden und sozusagen als Abstandhalter wirken. Man kann einen einfachen Test machen. Oft spielt sich das Wasserleben unter dem Deckglas in mehreren „Stockwerken“ ab. Ganz oben kleine Wesen, in der Mitte andere, und unten auf dem Objektträger sammeln sich schon die Leichen. Hat das Deckglas die „vorschriftsmäßige Dicke“ von etwa 0,17 mm, so sind die obersten Organismen immer die „schärfsten“, sie sind klar und deutlich mit gutem Kontrast zu sehen, weiter unten hingegen wird es immer

trüber, je tiefer der Blick geht bzw. je weiter wir den Tisch heben oder das Objektiv absenken. Bei einem Objektiv 40:1 / n. A. 0,65, fällt das schon deutlich auf, noch viel mehr bei n. A. 0,75 oder 0,85.

Damit beim Herstellen von Diatomeen-Dauerpräparaten die winzigen Schalen direkt unter dem Deckglas liegen, läßt man die Diatomeen-Suspension auf dem Deckglas antrocknen oder bei Hitzefixierung am Deckglas ansintern. Dann dreht man es um und bettet in einen Tropfen Naphrax ein.

Ein Hinweis für Wassertropfenmikroskopiker. Gegen Deckglasdickenabweichungen weniger empfindliche Objektive bis 20:1 werden gerne zum Durchsuchen des Wassertropfens ohne Deckglas verwendet. Wenn z. B. bei kühler Temperatur die Taupunktdifferenz überschritten ist, schlägt sich bald Verdunstungswasser an der Frontlinse des Objektivs nieder. Man sollte darauf achten und es abwischen, ebenso wenn es versehentlich ins Wasser gestippt wurde. Schmutzwasser sollte nicht zwischen Frontlinse und Objektivfassung geraten.

Wenn eingangs erwähnt wurde, die Deckglasdicke könne bei der *homogenen Immersion* im Bereich des Arbeitsabstandes des Objektivs vernachlässigt werden, weil homogene Ölimmersionen gegen Deckglasdickenabweichungen nicht empfindlich sind, so ist das zwar richtig, jedoch nicht uneingeschränkt. Zwar zählt bei Immersionsobjektiven die Gesamtdicke von Einschlußmittel, Deckglas und Ölschicht als Ganzes, und die ist immer gleich dick, wenn das Objektiv richtig fokussiert ist. Doch gilt das streng genommen nur für die *homogene Immersion*, also wenn Brechzahl und Dispersion für Deckglas, Immersionsöl und Objektivfrontlinse gleich sind. Bei den heutigen Immersionen wird jedoch vom Homogenitätsprinzip nicht mehr Gebrauch gemacht, Brechzahlen und Dispersion unterscheiden sich mehr oder weniger. Wenn das Dickenverhältnis von Einschlußmittel und Deckglas zur Ölschicht stärker zulasten des Immersionsöls geht, wird die Objektivkorrektion zu sehr gestört, das Bild ist dann nicht optimal.

### 5.3.6 Deckglasdicke messen

Geübte Mikroskopiker hören schon beim Fallen des Deckglases auf eine Fliese am Klang, ob es die richtige Dicke hat. Aber nicht alle Mikroskopiker haben ein so feines Gehör, und wer hat schon immer eine Fliese zur Hand! Sicherer ist es, die Deckglasdicke exakt zu messen. Doch die praktischen Deckglastaster sind aus den Katalogen der Mikroskophersteller schon seit Jahrzehnten verschwunden, selbst EUROMEX in Arnheim und *Northern Biological Supplies* in Ipswich bieten keine an. Wer Wert auf den Besitz eines älteren Original-Deckglastasters legt, ist auf Flohmärkte, größere Firmen und öffentliche Einrichtungen angewiesen, die ihren Instrumentenbestand von Zeit zu Zeit erneuern.

Gegen das Ausmessen der Deckgläser werden gelegentlich zwei Argumente ins Feld geführt.

Das erste Argument: Man könne Gläser mit garantierter Dicke kaufen. Hier ein Beispiel der Stärkesortierung aus dem Katalog der Glaswarenfabrik Karl Hecht (Marke Assistent), Sondheim/Rhön:

Stärke „1“ 0,13 bis 0,16 mm und

Stärke „1½“ 0,16 bis 0,19 mm.

Wenn ich auf die Stärke 0,16 abziele, muß ich also damit rechnen, daß mein Deckglas bis zu 0,03 mm zu dick oder zu dünn ist. Bei dieser Toleranz kosten 100 Stück im Format 18x18 mm 1,90 €.

Daneben werden noch Deckgläser mit „korrigierter Dicke“ angeboten, zum Beispiel 18x18 mm, Dicke  $0,17 \pm 0,01$ . Ziele ich hier auf 0,16 mm ab, bekomme ich also, statistisch gerechnet, Gläser, die in 30 % der Fälle 0,01 mm und in weiteren 30 % bis zu 0,02 mm zu dick sind. Doch steigt durch diese etwas engere Toleranz der Preis um mehr als 300 % auf 6,40 €. Diese Deckgläser, ebenso die oben genannte „Stärke 1½“, sind zudem Sonderanfertigungen und deshalb oft nur à 1000 Stück erhältlich.

Die Normalstärke bei Hecht ist Nr. 1 mit 0,13 bis 0,16 mm. Andere Glashütten konfektionieren in anderen Stärken, aber alle tun es nicht sehr zuverlässig, auf die Angaben ist in aller Regel kein Verlaß.

Bei solchen Toleranzen trifft man die gewünschte Deckglasdicke selbst bei den teuren, sortierten Konfektionierungen eher durch Zufall. Da ist es allemal zweckmäßiger, die billigen zu wählen, ihre Dicke selbst zu messen und die Ausreißer wegzuwerfen.

Das zweite Argument: Falsche Deckglasdicke könne man durch Veränderung des Tubusauszuges korrigieren. Das hört und liest man zwar unentwegt, doch wird es dadurch nicht sinnvoller. Seit über 50 Jahren werden keine Mikroskope mit Ausziehtubus mehr gebaut, jedenfalls nicht in Europa. Bei unseren üblichen Mikroskopen könnte man ein Okular höchsten etwas anheben, z. B. um festzustellen, ob ein falsches Deckglas die Unschärfe verursacht. Auf diese Weise kann man aber nur ein zu *dünnes* Deck-



glas feststellen. Ein zu dickes entdeckt man nur durch eine Tubusverkürzung, die bei einem festen Tubus nicht möglich ist. Doch war das Argument des Tubusauszugs schon „damals“ schwach, als es noch ausziehbar Tuben gab. Die zum Ausgleich falscher Deckglasdicke notwendige Auszugänderung ist nämlich ganz beachtlich. Sie ergibt sich nach einer Faustformel von LIHOTZKY (Leitz Wetzlar), die MICHEL (1967) angibt:

$$\Delta t_m = 0,4 \cdot \Delta d \cdot M_{\text{Obj}}^2 \text{ [mm]}$$

Für ein Objektiv mit 40facher Eigenvergrößerung ergibt das bei 0,02 mm Deckglasdickenabweichung:

$$\Delta t_m = 0,4 \cdot 0,02 \cdot 1600 = 12,8 \text{ [mm]}$$

Bei 0,03 mm Abweichung sind es danach bereits 19,2 mm Tubuslängenänderung, fast 2 Zentimeter! Dazu kommt, daß durch den Auszug die Objektiv-Einzelvergrößerung verändert wird:

$$\Delta M_{\text{Obj}} = \frac{\Delta t_m}{f_{\text{Obj}}}$$

Im obigen Fall:  $12,8 : 4,6 = 2,78$ . Die Brennweite von 4,6 mm ändert sich also um  $\pm 2,78$  mm! Eine Tubuslängenänderung von 12,8 mm kann aber das Bild eines ordentlich korrigierten Objektivs mit hoher numerischer Apertur völlig verderben.

Beim Arbeiten mit Objektiven, die eine Korrektrionsfassung haben, ist es angenehm, die Dicke des benutzten Deckglases zu kennen, weil dann der Korrektrionsring nur auf den bekannten Wert eingestellt werden muß. Ist sie unbekannt, muß man den Ring während der Beobachtung hin und her drehen, bis das Bild am besten ist – ein sehr umständliches und unsicheres Verfahren, vor allem wenn eine größere Anzahl von Präparaten in rascher Folge durchgesehen werden muß. Dem Amateur stehen Objektivs mit Korrektrionsfassung wegen des hohen Preises im allgemeinen nicht zur Verfügung.

Also: Deckgläser ausmessen! Aber womit?

Eine oft genannte Hilfsmethode ist, ein einzelnes Deckglas oder einen ganzen Stapel hochkant auf einen Objektträger zwischen zwei Klötzchen zu stellen und sie dann mit einem Okularmikrometer auszumessen. Da ich diese Methode selbst einige Zeit angewandt habe, möchte ich davon lieber abraten. Mit so einem Deckglasstapel ist nicht leicht zu hantieren, und das Aufsammeln der weitverstreuten Deckgläser vom Fußboden mühsam und zeitraubend.

**Ein Deckglastaster** löst das Problem.

Wer nach alten Instrumenten sucht, könnte einen der zahllosen Deckglastaster finden, die in den zwanziger bis vierziger Jahren gebaut wurden. Damit man so ein Instrument überhaupt als Deckglastaster erkennt, falls man zufällig einen sieht, sind hier zwei abgebildet. Es sind mehr oder weniger normale Mikrometerschrauben, und zwar mit Standfuß, damit eine Hand frei bleibt, um das Deckglas zwischen die Meßbolzen zu halten.

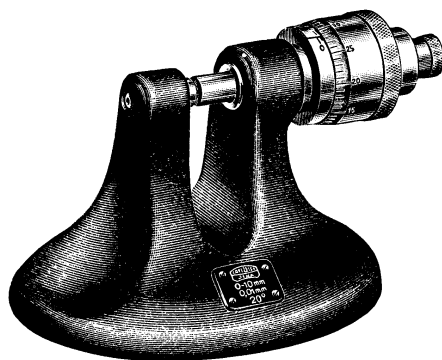
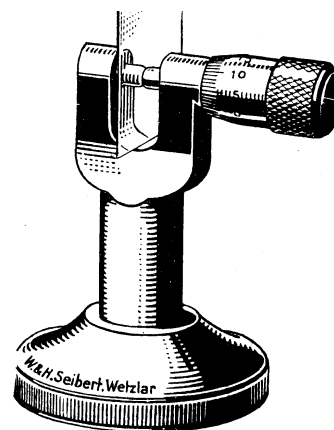


Abb. 21, etwa  $\frac{1}{2}$  nat. Größe  
Deckglas-Taster

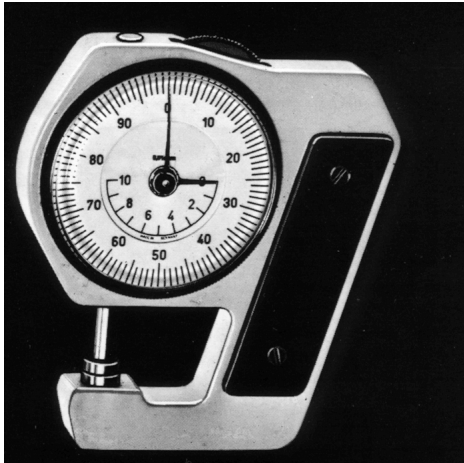


Das Gerät von Zeiss Jena hat einen schweren Fuß. Abbildung aus: Anleitung zum Gebrauch und die Behandlung der ZEISS Mikroskope. (Mikro G 11-105-1 (421), 1942.)

Das kleine Gerät von Seibert Wetzlar hat niedrige und glatte Haltebacken, so daß das Deckglas dort von alleine stehen kann. Abbildung aus: Mikrokosmos 18 (1924/25), 90.

Wer ein wenig basteln möchte, kann sich ein solches Gerät, das professionellen Ansprüchen durchaus genügt, selbst bauen. Das kleine Seibert-Instrument zeigt deutlich, daß es sich eigentlich nur um eine Mikrometerschraube mit Standfuß handelt. Eine Mikrometerschraube aus Fernost zu knapp 15 Euro wird auf einen Holzklötzchen entsprechender Größe fest montiert, damit eine Hand beim Schrauben frei bleibt für das Deckglas. Es ist billig und durchaus fachgerecht – vorausgesetzt, die Mikrometerschraube mißt präzise und ist gut ablesbar. Aber das kann man selbst prüfen. Bei einer normalen Mikrometerschraube kann man am Nonius auf 1/100 mm genau ablesen. In Werkzeuggeschäften bekommt man auch Mikrometerschrauben mit Standfuß in unterschiedlicher Preislage.

Ein andere Lösung sind die hübschen Meßuhren von Käfer Meßuhrenfabrik in Villingen. Ich habe mir die abgebildete angeschafft. Die deutliche Rundskala kann genau abgelesen werden.



#### Modell J 15.

Skalendurchmesser 40 mm, deshalb gut ablesbar.  
 Skalenteilungswert: 0,01 mm;  
 1 Zeigerumdrehung 1 mm.  
 Meßspanne 10 mm.  
 Meßkraft ca. 1 N.  
 Kunststoff-Griffschalen zur Isolation der Handwärme.  
 Öffnen durch Abheberad oben.  
 Nullstellen durch Rändelring am Skalenrand.  
 Mit Kunststoffetui ca. 81 Euro.  
 Elegantes Lederetui zusätzlich 5,10 Euro.  
 (Abb. in Originalgröße.)

Herr SCHLENKER von der Meßuhrenfabrik Käfer empfiehlt für Deckgläser jeglicher Größe den normalen Meßeinsatz „flach 6,35“, mit dem die Dickenmesser immer dann ausgestattet werden, wenn bei der Bestellung nichts Gegenteiliges erwähnt ist. Gewölbte oder halbkugelige Meßeinsätze sind schwieriger im Gebrauch, man kann durch Verkanten des Deckglases leicht zu falschen Messungen kommen. Ich glaube nicht, daß sich eine Mikrometerschraube genauer ablesen läßt als das präzise gebaute Zeigerinstrument. Beide zeigen ja Hundertstel Millimeter an.

Hier die Adresse des Herstellers: Käfer Messuhrenfabrik GmbH & Co. KG, Postfach 3380. 78022 Villingen-Schwenningen. Tel. 07720 / 8341-0, Fax 2 18 68; eMail: info@kaefer-messuhren.de.

#### 5.3.7 Was von Deckgläsern sonst noch wissenswert ist

Deckgläser werden übrigens erst seit einigen Jahrzehnten als Flachglas maschinell gewalzt und gezogen, das Verfahren wurde von Johannes RÖDER im Institut für angewandte Silikatforschung der Deutschen Akademie der Wissenschaften in Berlin entwickelt (Patent 1955). Die Glashütte in Ilmenau wandte das Verfahren zuerst an. Davor wurden **Deckgläser mit der Glasmacherpfeife am Mund geblasen**. Der Glasmacher entnahm mit ihr einen Glasklumpen aus dem Schmelzofen, blies ihn zu einer Kugel von fast einem Meter Durchmesser auf und rollierte die Pfeife, so daß eine flache Halbkugel entstand, von der nur der „ebene“ Boden als Deckgläschenglas verwendet werden konnte. Er wurde herausgeschlagen und zerfiel in unterschiedlich große Flächen, die auf Schneidbrettern mit dem Diamanten in die entsprechenden Größen geschnitten wurden.

Es ist bei dieser Technik nicht verwunderlich, daß manche Deckgläser alles andere als plan waren. Da konnte es schon passieren, daß ein Präparat je nach Wölbung des Deckglases an der einen Stelle scharf und kontrastreich im Bild erschien, an der anderen aber weniger, weil dort erheblich mehr Kanadabalsam darunter war.

Bei dem geringen Preis für Deckgläser sollte man **nur neue** verwenden. Bei alten kann, je nach früherer Lagerung, das Glas bereits verwittert sein, so daß sie auch durch Putzen nicht mehr klar werden. Alte Deckglasschächtelchen aus Pappe sollte man deshalb höchstens als Erinnerungsstücke aufheben, aber die alten Gläser nicht mehr verwenden

## 5.4 Präparate einbetten und schneiden,

### 5.4.1 Einbetten: Vorbereiten zum Schneiden



Baustelle

In manchen Universitätspraktika wird feinporiges Styropor als Einbettmittel für den Handschnitt verwendet. Andere Praktiker warnen davor, weil es Klängen aller Art schon nach ganz wenigen Schnitten stumpf mache. Ich habe selbst noch kein Styropor benützt, gebe aber die Warnung hier weiter.

### 5.4.2 Schneiden

#### 5.4.2.1 Handschnitte

In Amateurreisen findet sich oft die falsche Vorstellung, daß Handschnitte mit dem Rasiermesser oder -klinge nur ein Notbehelf seien, wenn man sich kein Mikrotom leisten kann. Doch Handschnitte, die früher auch für Profis ganz selbstverständlich waren, haben erhebliche Vorteile:

- *Einfachheit*: unkompliziertes Verfahren.
- *Schnelligkeit*: der Schnitt kann sofort betrachtet werden.
- *Übung* im Umgang mit dem Rasiermesser oder der Klinge. Wem das Fingerspitzengefühl für das Rasiermesser fehlt, der wird in der Regel auch keine guten Schnitte mit dem Hand-, Tisch-, Rotations- oder Schlittenmikrotom zuwege bringen. Ein Mikrotom erzeugt zwar meist dünnere, aber nicht automatisch die besseren Schnitte!

Vielfach wird als Mangel empfunden, daß Handschnitte nicht hauchdünn sind, sondern eher zwischen 50 und 25 µm. Das ist aber ein gutes Ziel, zumindest für botanische Schnitte. Dünner muß kein Schnitt sein, wenn er einen Überblick über den Zellaufbau geben soll. Daß man durch mehrere Zellschichten hindurch fokussieren kann, ist meist sogar ein Vorteil, weil sich auf diese Weise eine Vorstellung von der räumlichen Struktur des Objektes gewinnen läßt.

Brauchbare **Rasiermesser** für mikroskopische Schnitte liefern z. Z. Thorns (Göttingen), Windaus (Clausthal-Zellerfeld), Northern Biological Supplies, Ipswich. Empfehlenswert sind Rasiermesser, die auf der Oberseite der Klinge leicht gekehlt und auf der Unterseite plan sind. In Ipswich bekommt man solche Messer sogar für Linkshänder, sie sind auf der anderen Seite plan.

Schneidet man mit **Rasierklängen**, so sind die steiferen Industrieklängen empfehlenswert, z. B. von den Firmen Lutz oder Martor (Beermann) in Solingen. Man bekommt sie in „Technischen Handlungen“ oder Werkzeuggeschäften.

#### 5.4.2.2 Mikrotome, Messer, Klängen

Eine wichtige Anmerkung vorab:

Manche Menschen haben Schwierigkeiten, einen haltbaren Knoten in ihre Schnürsenkel zu knüpfen. Anderen zerbricht regelmäßig die Glühbirne beim Auswechseln. Es fehlt ihren Händen einfach eine gewisse Art Geschicklichkeit. Halten Sie ein Mikrotommesser stets außer Reichweite solcher Hände.

Wann immer Sie selbst mit einem Mikrotommesser hantieren: Sorgen Sie dafür, daß Sie nicht abgelenkt werden. Stellen Sie durch Information der Anwesenden sicher, daß niemand zur Tür hereinstürzt, wenn Sie einen solchen Gegenstand in der Hand halten. Konzentrieren Sie sich ausschließlich auf das scharfe Messer, auf nichts anderes! Ruhen Sie nicht, bevor es wieder fest und wackelfrei in seinem Aufbewahrungskästchen verstaut oder im Mikrotom eingespannt und dieses mit einer Schutzhülle versehen ist.

Sollte Ihnen je ein Mikrotommesser aus der Hand fallen, so haben Sie hoffentlich Schuhe aus dickem, steifem Leder an – oder möglicherweise einen Zeh weniger.

Wegen ihrer enormen Schärfe und ihres hohen Gewichts durchtrennen Mikrotommesser Sehnen, Blutgefäße und Muskeln auf das leichteste. Der Schnitt ist tief, schmerzt und kostet viel Blut. War das Messer nicht ganz sauber, so kommen weitere Sorgen hinzu.

### 5.4.2.3 Messer abziehen und schärfen



#### Baustelle

Alle mikroskopischen Messer müssen regelmäßig in kurzen Abständen auf einem Leder abgezogen werden. Dazu verwendet man spezielle Abziehleder, die auf dicke, *nicht biegsame* Holzleisten aufgezogen und eventuell mit bestimmten Abziehpasten eingerieben sind. Aufgespannte oder aufgehängte Riemen, wie sie der Friseur für das Schärfen des Rasiermessers benützt, sind für Mikrotom- und mikroskopische Rasiermesser ungeeignet. Die Messer erhalten mit ihnen eine abgerundete Fase, mit der man mikroskopische Objekte nicht schneiden kann.

Das Abziehen auf Stein nennt man auch Schärfen. (*Geschliffen* wird ein Messer nur bei der Herstellung in der Fabrik auf einem runden, rotierenden Stein.) Man braucht besondere Wetzsteine aus Belgien, Arkansas oder Japan für das Schärfen von Mikrotom- oder mikroskopischen Rasiermessern. Sie sind teuer. Niemals darf ein normales Küchen- oder Taschenmesser auf ihnen geschliffen werden, das macht sie unbrauchbar.

In Universitätsstädten gibt es oft Spezialfirmen, die Mikrotommesser schärfen. Erkundigen Sie sich genau bei deren Kunden, wie sauber und fachgerecht Mikrotommesser dort geschärft werden. Erhält das Messer nämlich bei Schärfen einen falschen Fasenschliff oder wird die Schneide gar durch Schleifen an einem Stein enthärtet, so ist es unbrauchbar geworden. Eine solche fachunkundige Behandlung kann nur der Messer- oder Mikrotomhersteller wieder korrigieren, und zwar durch Anschleifen einer neuen Fase, wobei die Klinge aber schmaler wird. Besser ist es deshalb, das Messer gleich an den Hersteller zu schicken, z. B. an die Firma Jung, Nußloch bei Heidelberg (gehört zu Leica Microsystems, Bensheim). Das Schärfen eines Messers kostet etwa zwischen 20 und 50 Euro. Und es muß recht oft geschärft werden! Deshalb sollte man das lieber selbst lernen. Details dazu später in diesem Kapitel.

## 5.5 Präparate färben und eindecken



Baustelle

Dieses Kapitel ist noch nicht einmal Baustelle. Bebauungsplan steht aber schon. Baubeginn 2004.

Hier sollen weniger Rezepte als vielmehr praktische Hinweise gegeben werden. Die Rezepte selbst findet man in Büchern und auch in anderen Homepages, zum Beispiel hier:

<http://www.aeisner.de/www.aeisner.html>

Zum Abwiegen von Farbstoffen in Pulverform sind die kleinen gläsernen Wägeschiffchen mit einer Ausschütt-Tülle sehr praktisch.

Wer Färbeküvetten aus Glas verwenden will, findet in den Angeboten der Versender oft nur die nach HELLEND AHL – mit oder ohne „Erweiterung“ im oberen Teil des Troges. Die sie sind lange in Europa üblich gewesen, haben eine kleine, schmale, rechteckige Aufstellfläche, deshalb fallen sie leicht um. Die Färbetröge nach COPLIN, die in England und USA gebräuchlicher sind, haben eine große, runde Aufstellfläche, stehen wesentlich stabiler. Man braucht bei ihnen auch weniger Farblösung. In die *Hellendahl*tröge passen Rücken-an-Rücken 2 x 8 Objektträger, in die von *Coplin* 2 x 5.

Färbetröge nach Coplin und alle anderen Glassachen für Mikroskopiker liefert die Laborglasfabrik Hecht in Sondheim/Rhön (Marke *Assistent*) und das Glaswerk in Wertheim. *Thorns* in Göttingen (Link in der MVM-Homepage) kann alle Hecht-Erzeugnisse innerhalb von 10 Tagen besorgen und schicken.

### 5.5.1 Schnitte aufkleben

Je nach den Stufen der Vorbehandlung neigen Schnitte dazu, bei ihrer Behandlung auf dem Objektträger abzuschwimmen. Beim Versuch, sie zu retten, werden sie dann oft beschädigt und unbrauchbar. Wer eine größere Menge Schnitte, z. B. für die Teilnehmer eines Kurses, auf den Objektträger kleben will, meidet verständlicherweise besondere, zeitintensive Arbeitsverfahren und klebt z. B. Paraffinschnitte aus dem Wasser direkt auf den Objektträger – und hofft, daß sie bei den anschließenden Prozeduren nicht abschwimmen, sondern ordentlich kleben bleiben. Es gibt zahlreiche Rezepte für das Aufkleben, manche von ihnen sind so alt wie die Mikroskopie selbst. Doch wenn für einen so einfachen Vorgang so viele Rezepte existieren, ist der Verdacht nicht unberechtigt, daß sie allesamt entweder nicht einfach sind oder nicht richtig funktionieren. Erfahrene Mikroskopiker schwören oft auf die Mischung Hühnereiweiß-Glycerin oder Hühnereiweiß alleine.

#### 5.5.1.1 Handschnitte

Auf dem Mikroskopiekursus 1999 in Inzigkofen haben Dr. Dieter KRAUTER und Dr. Heinz STREBLE zum ersten Mal eine Methode vorgestellt, die an und für sich nicht neu ist, aber von den beiden so abgewandelt wurde, daß sie jetzt – nach vielen Jahrzehnten – endlich sowohl zuverlässig als auch einfach funktioniert. Sie kleben seit einiger Zeit mit bestem Erfolg sowohl Handschnitte als auch Paraffinschnitte mit

#### Glyzeringelatine

auf. Die Methode mit Eiweißglycerin bzw. reinem Hühnereiweiß war ja noch nie jedermanns Sache, es verdirbt rasch, und das Ei-Aufschlagen gelingt manchem nur unvollkommen.

Der Vorteil des gut erprobtem *Glyzeringelatinegemischs nach Dr. Krauter* ist, daß es einfach herzustellen und anzuwenden ist, zuverlässig wirkt und daß man alle Bestandteile im Regal des nächstgelegenen Lebensmittelgeschäftes und in der Apotheke findet. Giftige Substanzen, wie Phenol, werden nicht verwendet.

Zuerst wird die Methode dargestellt, anschließend folgen die einfachen Rezepturen.

#### Die Methode im Detail

1. **Zwei Objektträger säubern.** Sie müssen wirklich mit Alkohol blitzblank abgerieben und fettfrei sein – keine neue Forderung beim Aufkleben von Schnitten.
2. Auf einen davon gibt man ein linsengroßes Bröckchen aus dem Vorratsglas der speziellen **Glyzeringelatine** und schmilzt es über einer Flamme (z. B. mit dem Gasfeuerzeug). Nicht kochen ! Wenn das Glyzeringelatineklümpchen geschmolzen ist und eine halbkugelige Form angenommen hat (in Au-

genhöhe auf dem Objektträger gut sichtbar), ist genug erhitzt. Enthält die Glyzeringelatine Stückchen, die nicht recht schmelzen wollen: verdorben, weg damit.

3. Das geschmolzene Tröpfchen mit der Kuppe des Zeige- oder Ringfingers berühren und die anhaftende Glyzeringelatine auf dem zweiten Objektträger **dünn ausstreichen**. Herr Dr. Krauter gibt an, die Schicht sollte zwar dünn, aber doch etwas dicker sein als diejenige, die wir von der Eiweißglyzerin-Methode gewöhnt sind.
4. Einen Augenblick warten, bis die Schicht etwas angetrocknet ist, dann gibt man einen Tropfen **destilliertes Wasser** (entmineralisiertes aus dem Super- oder Baumarkt genügt) in die Mitte des Objektträgers.
5. Dort hinein kommt nun der Schnitt. Warten bis sich der Schnitt ordentlich **gestreckt** hat – ihn notfalls „entwirren“ – und bis er auf die Glyzeringelatineschicht abgesunken ist. Die hält ihn jetzt fest.
6. **Wasser ablaufen** lassen. Wer wissen will, ob die Glyzeringelatine den Schnitt wirklich festhält, kann das Wasser mit ein paar kräftigen Handbewegungen abschleudern. Sie hält. Vom Abtupfen möchte ich abraten, weil die Gg. alle Stäubchen, Haare, Fasern, Fussel des Tuches oder Papiers bombenfest klebt.
7. Der Objektträger wird jetzt hochkant in eine **formolfeuchte Kammer** gebracht. Eine fest definierte Vorschrift für die feuchte Kammer gibt es nicht. Dr. Krauter gießt im Normalfall eine dünne Schicht von einigen Millimetern Höhe **unverdünntes Formol** (Formaldehydlösung, 36- bis 40 %, aus der Apotheke) in ein Glasgefäß mit dicht aufliegendem Deckel. Herr Dr. Streble verwendete in Inzigo-Kofen Glaskästen mit Schliffdeckeln, in die Objektträgergestelle aus Edelstahl gestellt wurden. Sie sind recht teuer. Herr Dr. Krauter benützt Färbeküvetten mit Falzdeckeln. Solche Kästen, z. B. die nach Hellendahl und nach Coplin oder auch einen, in den man ein Objektträgergestell aus Edelstahl oder Glas einstellt, kann man abdichten, indem man eine Aluminiumfolie über den offenen Kasten deckt und dann den Falzdeckel fest aufsetzt; das dichtet sicher ab und die Formoldämpfe bleiben im Glase! Wer viele Präparate auf einmal anfertigt, kann mit Erfolg eine entsprechende Glaswanne mit Objektträgergestell verwenden, in der die Objektträger senkrecht stehen. Bei weniger großen Mengen genügt eine kleine Färbeküvette beliebiger Bauart. Eine große Petrischale, die man als feuchte Kammer gerne verwendet, ist ebenfalls denkbar. Man kann das Formol auch verdünnen, z. B. auf 20 % oder noch weniger, darauf kommt es wohl nicht an, der Erfolg ist der gleiche, wenn der Aufenthalt des Objektträgers im Formoldampf entsprechend verlängert wird. Ferner kann man, wie bei feuchten Kammern üblich, den Gefäßboden mit einem saugfähigen Papier auslegen, und das Formol darauf gießen; noch weitere Varianten kann man sich einfallen lassen.
8. Beim **Einstellen des Objektträgers** trifft man organisatorische Vorkehrungen, damit man beim Herausnehmen nicht die beschichtete mit der blanken Seite verwechselt – banal, aber seit über hundert Jahren eine Quelle des Kummers für Mikroskopiker. Der Objektträger bleibt nun mindestens 1 Stunde in der feuchten Kammer. Längere Zeit schadet nicht, je länger desto sicherer wirkt die Methode. Der Schnitt kann durchaus für 1 bis 2 Tage im Formolkasten bleiben. Die Formoldämpfe härten die Glyzeringelatine und machen sie unlöslich. Das braucht seine Zeit, deshalb sollte man die Mindestzeit von einer Stunde nicht abkürzen. Dennoch kann die Glyzeringelatineschicht danach noch etwas verquellen, was wichtig ist. Sie klebt den Schnitt unlöslich fest. Der Wasseranteil im Formol hält den Schnitt währenddessen feucht, das ist ein wesentlicher Effekt dieser Methode.
9. Nach dem Herausnehmen aus der Formolkammer gibt man mehrmals einige Tropfen **Aqua dest.** auf den Schnitt, um das Formol gründlich auszuwaschen. Wasser abtropfen lassen, abschleudern (oder abtupfen, aber siehe 6).
10. Jetzt kann man nach beliebiger Vorschrift (z. B. nach Etzold) **färben**, anschließend gut auswaschen und entwässern.
11. Danach **einschließen**, z. B. in einen Tropfen Euparal – schon fertig!
12. Wenn die Glyzeringelatineschicht auf dem Objektträger neben dem Deckglas stört, kann sie entfernen. Mit einer Rasierklinge oder einem Skalpell schneidet man sie rund um das Deckglas ein und zieht oder schabt sie von Objektträger ab. Meist gelingt das.

### Zwei Vorsichtsmaßnahmen

Die Erste: Während der gesamten Prozedur darf das Präparat niemals austrocknen. Bearbeitet man mehrere Präparate gleichzeitig, muß man darauf achten, daß während der Bearbeitung eines Präparates nicht die anderen austrocknen. Am besten wird jedes im Anschluß an Ziff. 8 separat weiter behandelt.

Die Zweite: Niemals mit Formol arbeiten, wenn Glyzeringelatine offen steht. Selbst Formoldämpfe, die wir als schwach empfinden und die fast immer im „Labor“ des Mikroskopikers vorhanden sind, härten die Glyzeringelatine unrettbar! Sie kann dann nicht mehr geschmolzen werden.

### Rezept von *Krauters Glyzeringelatine* und Anmerkungen dazu.

- 0,1 g Nipagin (Nipagin M), das zur Konservierung von Marmelade verwendet wird, in  
 50 g Aqua dest. lösen; schwer löslich, rühren; kann dauern.  
 In der kalten Lösung läßt man  
 3,5 g Gelatine (normale Haushaltsgelatine!) 10 Minuten quellen.  
 Gemisch dann erwärmen bis Gelatine vollständig gelöst. Nicht kochen, 60° C ausreichend.  
 Mit Glasstab rühren, vorsichtig, damit sich keine Luftblasen bilden.  
 15 g Glycerin hinzugeben, verrühren.

Diese Glyzeringelatine hält nicht ewig, entgeht auf Dauer der Verpilzung nicht. Dann muß sie in die Abfalltonne. Bei Dr. Krauter hat sie sich zwischen zwei und fünf Jahre gehalten. Die Rezeptur hat sich unter verschiedensten Umständen gut bewährt.

Entwickelt hat Krauter sein obiges Rezept ursprünglich für Mikrotom-Paraffinschnitte. Es enthält deshalb viel Gelatine und wenig Glycerin. Bei dickeren Handschnitten sollte aber etwas mehr Glycerin genommen werden, sie kleben damit sicherer. In Inzignofen haben aber auch Handschnitte tadellos auf der obigen Glyzeringelatine geklebt. Offenbar kommt es nicht sonderlich auf die Glycerinmenge an.

Als Haushaltsgelatine verwendet Krauter *Dr. Oetkers Gelatine, gemahlen, weiß*. Ist sie im Kaufmannsladen gerade nicht vorrätig, kann man auch die gewöhnliche Blattgelatine nehmen. Auch die handelsübliche Glyzeringelatine zum Eindecken von mikroskopischen Präparaten ist verwendbar, jedoch ist davon abzuraten. Sie enthält einen nicht unerheblichen Anteil *Phenol* zur Konservierung, das man nicht freiwillig berühren sollte. Es schadet der Haut, und nicht wenige Menschen reagieren kräftig, bisweilen allergisch auf Hautkontakt mit Phenol.

Streble verwendet ebenfalls *Dr. Oetkers Gelatine*, gibt aber kein Konservierungsmittel hinzu, sondern erhöht den Glycerinanteil auf 50 : 50. Diese Mischung hält sich aber nur wenige Tage, ist unter Umständen schon nach 2 Tagen verpilzt und muß dann verworfen werden. Deshalb sollte man bei dieser Variante lieber jeweils eine sehr kleine Menge ansetzen, weil die Mischung wegen der größeren Glycerinmenge teurer ist – und noch teurer, wenn man sie bald wegschütten muß.

### 5.5.2 Die ETZOLD-Färbungen *FSA* und *FCA* für botanisches Material

Die Etzold- oder FSA-Färbung (**F**uchsin-**S**afranin-**A**strablau) ist ausführlich beschrieben in der Zeitschrift *MIKROKOSMOS*, und zwar den folgenden beiden Artikeln:

Etzold, H.: Eine kontrastreiche, simultane Mehrfachfärbung für pflanzenanatomische Präparate. Fuchsin – Safranin – Astrablau. 72 (1983) 213-219.

Krauter, D.: Erfahrungen mit Etzolds FSA-Färbung für Pflanzenschnitte. 74 (1985) 231-233.

Daher hier nur das Wesentliche. Eine sehr ausführliche Arbeitsanleitung von Herrn Dr. Etzold für seine Variante mit *Chrysoidin* (*FCA*) findet sich am Schluß dieses Kapitels. Die Färbung kann für jedes pflanzliche Material verwendet werden. Obwohl eigentlich für Handschnitte entwickelt, eignet sie sich auch für Mikrotomschnitte. Ihre Bedeutung und Beliebtheit beruht hauptsächlich auf fünf Vorteilen:

- Simultan-Mehrfachfärbung, man hat nur eine einzige Farblösung.
- Die Bestandteile sind preiswert.
- Hat man mit Alkohol, Eisessig oder Formol bzw. einer Kombination dieser Stoffe fixiert, z. B. der bekannten AFE (AEF, FAE)-Lösung, so kann man danach die Schnitte sofort in die Farblösung bringen, braucht die Fixierlösung nicht auszuwaschen.
- Die Färbeprozedur ist sehr einfach und schnell.
- Last not least: Die Färbung ist schön.

**Nach Fixierung der Handschnitte:** Evtl. Zellinhalt herauslösen. Eau de Javelle oder Reinigungsmittel Klorix 1:5 bis 1:3 verdünnt, bis alle Inhaltsstoffe aus den Zellen entfernt sind. Bei dünnen Schnitten: 15 Minuten oder länger, bei dicken Handschnitten evtl. 3 bis 4 Tage. Frische, unfixierte Schnitte nur 1 - 2 Minuten, sonst zerfallen sie. Sorgfältig mit Aqua demin. mindestens 3 Minuten auswaschen. Die Schnitte werden zwar klarer, doch geht mit dem Zellinhalt auch „Information“ verloren.

#### Herstellen der Farblösung

- (1) 50 ml demineralisiertes Wasser. Darin durch Rühren und Kochen lösen:
- (2) 10 mg basisches Fuchsin. Es genügt das gewöhnliche; das teure für Schiffsches Reagenz ist nicht notwendig.
- (3) Wasser demin. hinzugeben, d. h. auf 100 ml auffüllen. Abkühlen lassen.
- (4) Unter Umrühren darin lösen:  
40 mg Safranin, 150 mg Astrablau, 2 ml Eisessig.
- (5) Anschließendes Filtrieren ist vorteilhaft.
- (5) Die Lösung ist jahrelang (!) haltbar.

Etzold hat seine obige ursprüngliche Färbevorschrift FSA in den letzten Jahren an der Universität Erlangen nicht mehr angewandt, sondern das *Safranin* durch *Chrysoidin* ersetzt. Diese Färbung beschreibt er in einer ausführlichen Anleitung weiter unten in diesem Kapitel.

Eine besonders schöne Variante hat Karl BRÜGMANN, Hannover, in seiner Präparierwoche auf dem Wohldenberg vor einigen Jahren vorgestellt: Er ersetzte das etwas „kühle“ Astrablau durch das ihm verwandte *Alciangrün*. Diese Färbung wirkt bei Pflanzenteilen mit hohem Chlorophyllanteil, wie Blättern und Stengeln, sehr „natürlich“ und schön.

**Färbeprozess**, hier für frische unfixierte oder in AFP/AFE fixierte Handschnitte – siehe Arbeitsschema unten.

Wechseln der Lösungen auf Objektträger mit Pipette (oder Injektionsspritzen nach Methode GERHOLD und LUDWIG, MVM). Verwendet man eine Pipettenflasche, benötigt man nur eine Hand, um den Pipettenschliffstopfen aus der Flasche zu ziehen und einen Tropfen aufzutragen. Bei der Handhabung von Injektionsspritzen braucht man eine Hand zum Halten der Spritze und eine, um deren Kolben zu bewegen. Färbt man im Blockschälchen, so sollte man den Schnitt gelegentlich mit dem Pinsel glattstreichen, damit die Farblösung gleichmäßig einwirken kann. Bequemer ist die Färbung auf dem Objektträger, wie sie auch ETZOLD empfiehlt. Hingewiesen sei noch auf die Aufklebemethode mit Glyzeringelatine.

**Färbeergebnis** bei der Anwendung von FCA

**Verholzte Zellwände** rot. Öfter verschiedene Farbtöne: Sklerenchym purpurrot, Xylem mehr ziegel- bis gelbrot. Holz zeigen: Fasern dunkelrot, Markstrahlzellen mehr gelbrot. Oft rot bis orangene Differenzierung verschiedener Schichten einer Zellwand: jüngere rot, ältere orange.

**Cutinisierte Zellwände** gelb bis orange, manchmal auch mehr oder weniger rot.

**Unverholzte und nicht cutinisierte Zellwände** blau (grün bei FCA mit Alciangrün).

**Korkschichten** ungefärbt. Mittellamellen verkorkter Zellen oft rot, da verholzt.

**Kallose** sowie „Reservezellulose“ in Samen ungefärbt, selten auch die Zellwände gewisser Fasern in der primären Rinde ungefärbt.

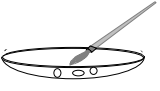
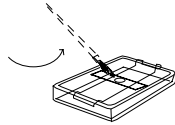
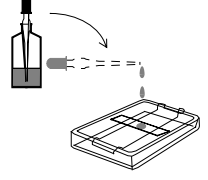
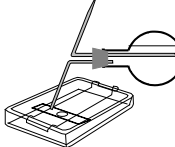
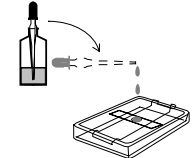
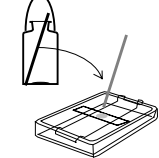
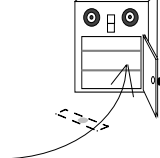
**Plasma** ist meist leicht rot gefärbt.

**Zellkerne** können rot oder blau werden.

**Chloroplasten** färben sich oft mit; dann oliv bis braun. Ihre natürliche grüne Farbe erhalten sie zurück, wenn Wasser durch das Präparat gesaugt und anschließend unter dem Deckglas kurz erhitzt wird. Dabei wird der rote Farbstoff aus den Chloroplasten, nicht jedoch aus den Zellwänden ausgetrieben.



## Die Prozessschritte der FSA-Färbung nach Etzold

1	2	3	4	5	6	7
Aqua demin.	Aqua demin.	„Etzold“	Aqua demin.	„Iso“ absolut	Euparal	Wärmeschrank
						
Schnitt durch frisches oder fixiertes Material. Wenn Fixierung mit Alkohol, Essigsäure, Formol oder AFP/AFE, ist Auswaschen unnötig. Man kann jedoch zum Entfernen von Verunreinigungen, Gerbstoffauszügen usw. waschen und das Wasser mehrfach wechseln.	Übertragen auf Objektträger in einen Tropfen Aqua dem.  (Wenn Objektträger mit <b>Glycerin-gelatine</b> beschichtet, anschließend in Formoldampf härten – siehe genaue Anleitung in $\mu$ 2 / 99)	2 – 3 Tropfen Etzold-Farblösung <b>3 – 5 Minuten</b> einwirken lassen.  Das rascheste Färbergebnis erhält man nach einmaligem kurzem Aufkochen der Schnitte unter leichtem Schwenken in reichlicher Menge Farblösung (2 – 3 Tropfen) ohne Deckglas über kleiner Flamme. Dabei müssen Objekte von Farblösung bedeckt sein; dürfen nicht auf ihr schwimmen. Dauert nur Sekunden!	Kräftig abspülen, dann so oft (ca. 2 mal) wiederholen, bis keine Farbwolken mehr abgehen.	Differenzieren mit Isopropylalkohol. 1 – 2 Mal wiederholen; richtig durchtränken. Mindestens 2 – 3 Minuten einwirken lassen.  Gehen noch rote Farbwolken ab, so ist der Alkohol zu stark durch <u>Restwasser</u> verdünnt. Dann „Iso“ schnell wechseln. Bei absolutem Alkohol wird keine Farbe mehr ausgezogen.	„Iso“ abkippen oder absaugen. Objektträgerrand und -unterseite abwischen und abtrocknen.  <b>Eindecken in Euparal.</b>  Euparal <u>sofort zugeben</u> , bevor sich durch Verdunsten des Alkohols <u>Luftblasen</u> bilden.	Trocknen bei 40 °C im Wärmeschrank bzw. waagrecht lagern.

## Die neue Etzold-Färbung

Die obige Kurzanleitung bezieht sich auf die beliebte FSA-Färbung (Fuchsin-Safranin-Astrablau), die Dr. Helmut ETZOLD 1983 im MIKROKOSMOS veröffentlicht hat. Sie enthält **Safranin**, einen schönen und – wie manche meinen – in der botanischen Mikrotechnik unersetzlichen, aber auch problematischen Farbstoff. Safranin färbt nämlich nicht nur verholzte Zellwände, wofür es ja bei botanischen Schnitten angewandt wird, sondern es färbt eigentlich alles! Es ist der Typus eines, ganz und gar unspezifischen Farbstoffes. Wenn ein Schnitt aus dem Safranin kommt, so ist *alles* rot. Vor dem Beobachten muß also differenziert werden, das heißt der Farbstoff wird aus den unverholzten Zellwänden durch irgendein Lösungsmittel entfernt. Nun besteht aber keine scharfe Grenze zwischen verholzten und unverholzten Zellwänden. Je nach Differenzierung können bestimmte Zellarten also zu der einen oder der anderen Gruppe gezählt werden. Besonders gerne sieht man die dickwandigen Bastzellen für verholzt an, hört demnach mit dem Differenzieren auf, wenn sie noch rot sind. Gerade diese Zellen sind aber typisch unverholzt. So waren Kombinationsfärbungen mit Safranin schon immer Anlaß von Irrtümern, und es hat nicht an Versuchen gefehlt, diesen an sich beliebten Farbstoff durch geeignete zu ersetzen.

Ausgezeichnet hingegen ist die Spezifität des tiefroten **Fuchsin** und des leuchtend hell- und goldgelben bis orangenen **Chrysoidin**. Die des letzten ist allerdings etwas geringer, das wird aber dadurch ausgeglichen, daß der Farbstoff in verholzten Zellwänden bedeutend stärker festgehalten wird als in unverholzten. Er ist also sehr spezifisch für verholzte Zellwände und zieht auf nur schwach verholzte gar nicht erst auf.

Sonja TÜRLER aus Zürich berichtete zuerst über die Kombination Astrablau-Chrysoidin für Pflanzenschnitte. Auch Etzold hat Astrablau und Fuchsin nun mit Chrysoidin kombiniert und nach eingehenden Versuchen eine Methode entwickelt, die für Universitätspraktika zweckmäßig, nämlich einfach und schnell ist. Er erhielt die Anregung dazu durch einen Hinweis von Dieter GERLACH, dem Verfasser von *Botanische Mikrotechnik*, der mit Chrysoidin schon in den fünfziger Jahren experimentiert hatte, nachdem er eine „schnelle“ Holz-Zellulose-Doppelfärbung mit Hämatoxylin-Chrysoidin in KRAUTERS *Mikroskopie im Alltag* kennengelernt hatte.

Herr Dr. Gerlach machte mich auf diese neue Variante der Etzoldschen Simultanfärbung aufmerksam und teilte dazu mit: „*Herr Dr. Etzold ... sagte mir, daß er das Rezept mit dem Safranin inzwischen als überholt betrachtet. Wie er jetzt vorgeht, ersehen Sie aus der neuen Kursanleitung, die wir hier [in Erlangen] verwenden ... Die Mixtur mit dem Chrysoidin ist wirklich ausgezeichnet, und man erhält damit zum Beispiel an der Cuticula von Xerophyten-Blättern eine sehr deutliche, dunkle Gelbfärbung, die ganz ausgezeichnet mit den blauen Zellulosewänden kontrastiert. Man kann die Lösung übrigens bei CHROMA fertig kaufen.*“

Da ich die Farbstoffe vorrätig hatte, habe ich die Färbung gleich an rostpilzinfizierten Blättern ausprobiert. Sie ist ausgezeichnet und gefällt mir wesentlich besser als die bisher allgemein bekannte „Etzold-Färbung“ FSA mit Safranin. Da ähnlich wie Kursleiter und Studenten auch Hobbymikroskopiker bei ihren abendlichen Zusammenkünften an einer farbschönen, einfach herzustellenden und anzuwendenden Simultanfärbung interessiert sind, veröffentliche ich die ausführliche **Arbeitsanleitung** in der Mikrofibel und bedanke mich für die ausdrückliche Genehmigung dazu bei Herrn Dr. Etzold.

Das obige grafische Arbeitsschema der FSA-Färbung muß für die FCA-Färbung lediglich in Schritt 3 entsprechend modifiziert werden. Schritt 5 und folgende entfallen ganz, wenn ein wasserlösliches Einschlußmittel verwendet wird, wie es Dr. Etzold empfiehlt. Man kann aber auch Euparal oder – nach Isoopropanol- und Xylopassagen – *Malinol* verwenden.

Für den Farbstoff **Chrysoidin** hat auch unser ehemaliger Ehrenvorsitzender der MVM, Prof. Dr. Helmut THALER, immer wieder einmal eine Lanze gebrochen. Er schätzte dessen Kombination mit *Kernschwarz*, mit *Hämalaun*, besonders aber mit dem ihm verwandten Farbstoff *Benzoazurin*. Allerdings ist die Färbzeit mit diesem herrlich-leuchtend blauen Farbstoff sehr lang. Hätte er damals das *Astrablau* schon gekannt, wäre er wohl auch begeistert gewesen. Thaler machte in einem Vortrag in der MVM 1953 darauf aufmerksam, daß der Effekt der Doppelfärbung physikalisch und nicht chemisch bedingt ist. Herr Dr. Etzold teilte mir dazu ebenfalls mit, das Astrablau habe recht große Moleküle und könne deshalb in die dichte Struktur der verholzten Zellwände nicht eindringen. Deren Micellen und Fibrillen liegen so dicht gepackt (wie ein Stapel Baumstämme auf dem Holz-LKW), daß die groben Astrablaumoleküle sich nicht dazwischen drängen können, wohl aber die kleineren von Fuchsin und Chrysoidin.

## Die FCA-Färbung für Pflanzenschnitte

Von Dr. Helmut Etzold

### (1) Schneidetechnik

Feste und dickere Objekte werden mit der Rasierklinge ohne Einbettungshilfe geschnitten. Schnittfläche frischer Objekte stets naß halten (Wassertropfen), Holz mit Glycerin anfeuchten. Braucht man einen dünneren Schnitt, so läßt man ihn „auskeilen“.

Dünne und weiche Objekte in Holundermark, Polyurethan (blau) oder Styropor einbetten. Klinge auf dem Einbettmittel in Objektnähe aufsetzen, leicht eindrücken und ziehend, evtl. auch sägend schneiden. Schnittfläche bei frischen Objekten auch hier naß halten.

### (2) Farbstoffe und Rezeptur

Fuchsin (basisches Fuchsin, Diamantfuchsin, Neufuchsin oder Fuchsin; nicht Säurefuchsin!) Chrysoidin. Astrablau.

In 1 Liter Wasser lösen:

Eisessig	1:50 (2 %)	=	20,0 ml
Fuchsin	1:10000	=	0,1 g
Chrysoidin	1:7000	=	0,143 g
Astrablau	1:800	=	1,25 g

### (3) Färben

#### (3.1) Das Schnellverfahren: Aufkochen

Schnitte in reichlich Farblösung einlegen (ca. 3 Tropfen), nicht oben schwimmen lassen. Präparate nicht in der Mitte des Objektträgers, sondern – wegen besserer Handhabung beim Erhitzen – einem Ende genähert anlegen.

Über kleiner Flamme (Sparflamme des Bunsenbrenners, Spiritusbrenners oder Gasfeuerzeugs) erhitzen unter leichtem Schütteln des Objektträgers (gute Durchfärbung, Verhindern des Siedeverzugs) und ein- bis zweimal *kurz* aufkochen. Die Farblösung darf dabei nicht stark eindicken oder gar eintrocknen!

Dicke und große Schnitte brauchen längere Färbezeit als kleine und dünne; ggf. vor dem Auflegen des Deckglases Kontrolle auf gute Durchfärbung unter dem Mikroskop. Ggf. noch einmal aufkochen, vor allem wenn die Blaufärbung nicht ausreichend ist.

Deckglas auflegen. Überschüssige Farblösung absaugen.

Eine Überfärbung findet auch bei langer Betrachtungszeit unter dem Mikroskop nicht statt.

#### (3.2) Das schonende Verfahren: Erhitzen

Wie beim Schnellverfahren, jedoch Schnitte nur erhitzen, ca. 40 Sekunden über kleiner Flamme. Dabei immer wieder Handkontrolle: Temperatur des Objektträgers sollte beim Auflegen auf den Handrücken gerade noch auszuhalten sein.

Die Stärkekörner bleiben erhalten, beim Kochen hingegen lösen sie sich auf. Anschließende Stärkefärbung mit Lugolscher Lösung ist möglich.

Bei diesem Verfahren ist die Differenzierung zwischen cutinisierten und verholzten Schichten meist deutlicher, und es ergeben sich im verholzten Gewebe noch weitere farbliche Differenzierungen (siehe Ergebnis Ziffer 4). Darum ist diese Methode vielfach vorzuziehen.

#### (3.3) Das Kaltverfahren: Kalt färben

Schnitte in eine größere Menge FCA-Farblösung einlegen (z. B. in Hohlschliffobjekttäger, Uhrgläschen), gelegentlich bewegen, mindestens 5 min färben; auch über Nacht ist das möglich. Hierbei gelingt bei den wenigen schwierigen Objekten eine gute Durchfärbung parenchymatischer unverholzter Zellwände, z. B. Mesophyll.

#### (4) Ergebnis

**Verholzte Zellwände** rot. Öfter treten verschiedene Farbtöne auf: Sklerenchym purpurrot, Xylem mehr ziegel- bis gelbrot, so z. B. in Querschnitten durch Pinusnadel und Hakea-Blättern. Im „gemischten Ring“ oder gesprengten Sklerenchymring in der primären Rinde von Bäumen wird das Sklerenchym purpurrot, die eingewachsenen Steinzellen orange. Querschnitte durch Holz zeigen oft deutliche Differenzierung: Fasern dunkelrot, Markstrahlzellen mehr gelbrot. Gute Ergebnisse erhält man aber meist nur, wenn man, statt die Schnitte zu kochen, das schonende Verfahren anwendet oder sie unter gelegentlichem Schwenken auf dem Objektträger etwa 5 min kalt mit FCA behandelt. Schnitte jedoch nicht zu lange liegen lassen, da sich im Laufe der Zeit die Färbung des Xylems dem des Sklerenchyms angleichen kann. Evtl. Kontrolle unter dem Mikroskop.

Oft ist auch eine rot / orange Differenzierung verschiedener Schichten einer Zellwand zu beobachten: jüngere Schichten rot, ältere orange. Weitere deutliche Verstärkung dieser Kontraste bei Verwendung eines blaugrünen Filters Schott BG 38, 3 mm stark. Filter auf die Leuchtfeldblende oder in den Filterhalter unter dem Kondensator legen.

**Cutinisierte Zellwände** gelb bis orange, manchmal auch mehr oder weniger rot. Die Kontraste zu verholzten Zellwänden sind aber offenbar nur dann ausgeprägt, wenn die Schnitte erhitzt oder gekocht wurden. Das Chrysoidin wird sonst vom Cutin nur schwer aufgenommen. Wesentlich besserer Kontrast auch hier mit Schott-Filter BG 38.

**Unverholzte und nicht cutinisierte Zellwände** blau.

**Korkschichten** ungefärbt. Dagegen **Mittellamellen** verkorkter Zellen oft rot, da verholzt.

**Kallose** sowie „**Reservezellulose**“ in Samen ungefärbt, selten bleiben auch die Zellwände gewisser Fasern in der primären Rinde ungefärbt.

Die Färbung dieser wie auch der übrigen verholzten Zellwände läßt sich wesentlich intensivieren, wenn die Schnitte vorher in Eau de Javelle aufgehellt werden (Natriumhypochlorit; auch die Reinigungsmittel Klorix oder Domestos sind verwendbar); anschließend jeweils etwa 5 min in 10 %iger Essigsäure und dann in reichlich Wasser (im Uhrglas oder Blockschälchen) auswaschen. Holzschnitte kann man auch anstelle Kaltbehandlung einmal kurz in Na-Hypochlorit aufkochen. Lebende Gewebe werden bei dieser Behandlung mazeriert. Die oben erwähnte Differenzierung der verholzten Zellwände von Sklerenchym, Xylem und Steinzellen bleibt aber nach dieser Behandlung aus.

**Plasma** ist meist leicht rot gefärbt. **Zellkerne** können rot oder blau werden.

**Chloroplasten** färben sich oft mit und erscheinen dann oliv bis braun. Ihre grüne Farbe erhalten sie zurück, wenn Wasser durch das Präparat gesaugt und anschließend unter dem Deckglas kurz erhitzt wird. Dabei wird der rote Farbstoff aus den Chloroplasten, nicht jedoch aus den Zellwänden ausgetrieben.

#### (5) Dauerpräparate — Einschlußmittel

##### (5.1) Einschluß in Karion und Phytohistol

Diese Einschlußmethode ist von Vorteil, weil im Gegensatz zum Harzeinschluß bei ihr die Plastiden und Öltröpfchen in den Zellen in Form und Farbe erhalten bleiben.

„Karion flüssig, nicht kristallisierend“ von Merck, Darmstadt, kristallisiert oft doch nach gewisser Zeit in Form von feinen Nadeln aus. Die Kristalle lassen sich durch leichtes Erhitzen der Präparate (Heizung oder Sparflamme des Bunsenbrenners bzw. Gasfeuerzeugs) auflösen, schmelzen. Die Präparate bleiben danach wieder längere Zeit klar.

Besser ist jedoch eine Mischung aus 2 Teilen Karion und 1 Teil Phytohistol (Firma Roth, Karlsruhe). Das vermeidet Auskristallisieren und Auswaschen des Fuchsin in reinem Phytohistol.

Schnitte vor dem Auflegen des Deckglases in Aqua dest. übertragen: Farblösung erst absaugen oder ablaufen lassen, dann Präparat in einen Wassertropfen hinüberschieben oder mit Pinsel übertragen, oder auch Wasser aufgeben, absaugen und wieder Wasser aufgeben. Dann Deckglas auflegen. Kleine Deckgläser verwenden: 18 oder 10 mm ! Sonst dringt das Einschlußmittel schlecht ein, und es bilden sich mehr Luftblasen. Falls das Deckglas bereits aufliegt, genügt es meist, wenn Wasser durchgesaugt wird. Dabei darauf achten, daß die Chloroplasten ihre natürliche Farbe behalten; wenn nicht: kurz unter dem Deckglas erhitzen. In manchen Fällen wird es nötig sein, das Deckglas mit der Rasierklinge abzuheben.

Nach dem Absaugen des überschüssigen Wassers wird ein Streifen des wasserlöslichen Einschlußmittels an einer Deckglaskante angebracht. Es darf nicht die Kante sein, die dem Objektträger aufliegt oder

eine zu geringe Distanz zu ihm hat. (Das Deckglas liegt meist mehr oder weniger gekippt, da das Objekt sich nicht in der Mitte befindet.) Zur Fixierung kann das Deckglas an den beiden dem Streifen gegenüber liegenden Ecken mit je einem Tropfen Lack befestigt werden, evtl. auch an den übrigen Ecken. Dies kann das Entfernen des Einschlußmittels (siehe unten) erleichtern und verhindert auch ein „Auftreiben“ des Deckglases bei zu reichlicher Dosierung des Einschlußmittels.

Robuste Objekte wie Schnitte durch Holz und fixierte harte Sprosse können nach dem Waschen auch direkt in das Einschlußmittel übertragen bzw. mit einem Tropfen davon bedeckt werden. Dann Deckglas auflegen.

Präparat täglich kontrollieren, evtl. Einschlußmittel nachgeben. Falls zu viel davon aufgegeben wurde, kann es notwendig sein, das Deckglas anzudrücken, um überschüssiges Medium wegzupressen. Auch leichtes Beschweren hilft.

Luftblasen unter dem Deckglas können entfernt werden, indem man das Präparat erhitzt. Auch Kochen ist möglich, wenn das Medium nicht bereits zu sehr eingedickt ist. Oft entweichen die Blasen dabei bereits. Wenn nicht, anschließend mit einem „Saugfinger“ unter der Wasserstrahlpumpe evakuieren. Präparate dabei schräg halten, damit die Luftblasen entweichen können.

Nach 7 bis 10 Tagen kann das überstehende Einschlußmedium mit einem nassen Pinsel oder unter Einlegen des ganzen Präparats in eine Schale mit Aqua dest. und Verwendung eines Pinsels abgewaschen werden. Dann wieder antrocknen lassen oder abtupfen.

Lackrand anbringen, trocknen lassen, zweite Lackschicht auftragen.

#### (5.2) Einschluß in Euparal (Brechungsindex 1,53)

[Als alternative Methode schlägt Etzold den Einschluß in Euparal vor: Schnitte aus Wasser in 100 %igem Isopropanol, zweimal wechseln. Lose, nicht aufgeklebte Schnitte wellen sich meist im Einschlußmedium. Das kann durch Beschweren des Deckglases (z. B. mit einer Schraube) verhindert werden, bis das Harz einigermaßen trocken ist.]

#### (6) Färben mit Sudan-Farbstoffen

Zum Nachweis von cutinisierten und verkorkten Zellwandschichten ist Sudangelb, Sudangrün oder Sudanschwarz geeignet, gelöst in Alkohol oder Alkohol und Glycerin — siehe bei GERLACH, *Botan. Mikrotechnik*.

Schnitte in Wasser unter dem Deckglas. An den Rand etwa die gleiche Menge Sudanlösung zugeben, so daß sie unter das Deckglas kriecht. Erhitzen und kurz aufkochen, dabei durchmischen sich die beiden Phasen, und die betreffenden Zellwandschichten werden gefärbt. Dann Schnitte in Wasser übertragen, eventuell nochmals erhitzen.

Wenn Cutin und Kork nicht deutlich gefärbt sind, Vorgang wiederholen und evtl. mehr Sudanlösung verwenden.

Etwa dasselbe Ergebnis erzielt man, wenn man die Schnitte zuerst in Sudanlösung unter das Deckglas bringt und dann die gleiche Menge Wasser am Deckglasrand hinzufügt, das sich beim Kochen wieder mit der Sudanlösung mischen muß.

Anschließend ist Färbung mit FCA möglich. Die Sudanfärbung geht dabei nicht verloren. Die umgekehrte Reihenfolge, also zuerst FCA und dann Sudanlösung, ist jedoch nicht möglich, weil der Alkohol die Farbstoffe der ersten Färbung teilweise wieder herauslöst.

Die cutinisierten Schichten und vor allem die Korkschichten heben sich nun meist deutlich besser ab. Manchmal stört ein Niederschlag von ausgefallenem Sudanfarbstoff, der sich aber durch richtige Dosierung des Mischungsverhältnisses Wasser / Sudanlösung wohl vermeiden läßt.

#### (7) Aufhellen in Chloralhydrat und Natriumhypochlorit

Besonders klare Zellwandbilder, z. B. bei der Pinusnadel, erhält man, wenn man dünne Schnitte vorher in Chloralhydrat aufhellt. Anschließend in reichlich FCA etwas länger kochen und gleichzeitig darin auswaschen und färben.

Schnitte oder dünne Totalpräparate von unfixiertem Material, wie Blattstücke, dünne Wurzelspitzen u. a. in Chloralhydrat bringen, mit Deckglas abdecken. Über der „Sparflamme“ einige Male kurz aufkochen, bis

das Präparat durchsichtig ist. Zum Betrachten in Chloralhydrat lassen! Bei Zugabe von Wasser trübt das Präparat sofort ein.

Eine anschließende Färbung gelingt besonders bei dünnen Schnitten nach Auswaschen in Wasser oder auch in reichlich Farblösung (FCA, Sudanfarbstoffe u.a.) bei gleichzeitiger Färbung (kochen). Schnitte dazu mit Pinsel oder zugespitztem Papierstreifen vom Chloralhydrat in Farblösung übertragen.

Sehr zarte Objekte, z. B. Tentakel von *Drosera*: Chloralhydrat kalt einwirken lassen oder nur erwärmen.

Fixiertes Material läßt sich mit Chloralhydrat nicht aufhellen. Dazu wird Natriumhypochlorit (Eau de Javelle, *Klorix* oder *Domestos*) verwendet: Kalt ca. 5 min, dann Essigsäure 10 % ca. 2 min. Anschließend in reichlich Wasser im Schälchen ca. 5 min ausspülen.

Noch bessere Aufhellungsergebnisse bei Kombination von Chloralhydrat und Na-Hypochlorit: Chloralhydrat, dann Ethanol oder Aceton, dann Na-Hypochlorit kalt ca. 5 min, dann 10 % Essigsäure ca. 2 min; in reichlich Wasser im Schälchen ca. 5 min auswaschen.

### (8) Literaturhinweise

Etzold, H.: Eine kontrastreiche, simultane Mehrfachfärbung für pflanzenanatomische Präparate.

Fuchsin – Safranin – Astrablau. In: *Mikrokosmos* 72 (1983) 213-219.

Gerlach, D.: *Botanische Mikrotechnik*. 2. Aufl. G. Thieme Verlag, Stuttgart 1977.

Krauter, D.: Erfahrungen mit Etzolds FSA-Färbung für Pflanzenschnitte. In: *Mikrokosmos* 74 (1985) 231-232.

Schubert, M.: Färbungen i. d. Mikroskopie. Teil 2: Praktische Anwendungen.  $\mu$  Nr. 16, Sept. 1999, 5-9.

Türler, S.: Chrysoidin-Astrablau-Färbung für Pflanzenschnitte. In: *Mikrokosmos* 68 (1979) 366.

### 5.5.3 Eindecken, einschließen



Baustelle

#### 5.5.3.1 Wie man ein Deckglas auflegt. Der Einschluß eines Schnittes in Balsam

(Zitat aus: Donald Alexander JOHANSEN: *Plant Microtechnique*. First Edition, fourth printing. McGraw-Hill Book Company, Inc., New York 1940. Übersetzung K. Henkel.)

Wir nehmen den Objektträger mit dem aufgeklebten und gefärbten Schnitt aus dem Gefäß mit Xylol, wischen seine Unterseite mit einem sauberen, trockenen, fusselreifen Tuch ab und ebenso die Umgebung des Schnittes (achten aber sorgfältig darauf, daß wir ihm nicht zu nahe kommen), damit, falls wir versehentlich zu viel Balsam auftragen, dieser nicht aufgelöst wird und über das ganze Glas läuft. Dann setzen wir einen kleinen Tropfen dünnflüssigen Balsams auf den Schnitt oder links neben ihn. (Linkshänder anpassen: immer anders herum!).

Eine komplette Schachtel voll Deckgläser sollten wir auf einmal putzen und in eine leere Deckglasschachtel legen: Deckglas in eine Mischung von gleichen Teilen 95 %igem Ethylalkohol und Xylol tauchen, an ein Papiertaschentuch halten, um überschüssige Flüssigkeit abzusaugen, dann rasch mit einem peinlichst sauberen Tuch polieren (Anm. d. Übers.: Leinen, Baumwolltücher fusseln immer!).

Wir halten das Deckglas so, daß sich die Pinzette auf der rechten Seite befindet, und stellen (legen) es mit der linken Kante auf den Objektträger, links neben den Schnitt, halten es aber mit der Pinzette weiterhin an der rechten Kante fest. Wir senken es ganz allmählich, geben dem Balsam Zeit, an die gegenüber liegenden Ecken zu fließen und drücken ihn vorwärts nach rechts, indem wir das Deckglas immer weiter senken. Manchmal hilft ein leichter Druck mit dem linken Zeigefingernagel auf das Deckglas, besonders wenn Blasen eingeschlossen sind.

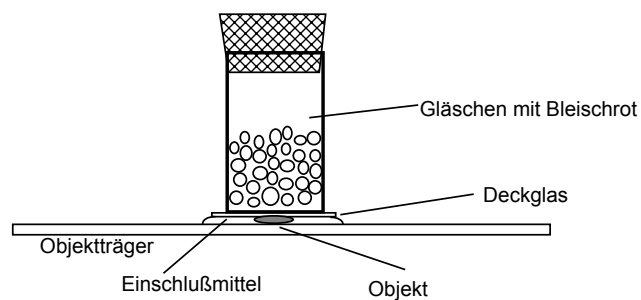
Sobald sich der Balsam zur Hälfte unter dem Deckglas ausgebreitet hat, dürfen wir es auf keinen Fall mehr anheben. Ist er dann zu dreiviertel darunter, ziehen wir die Pinzette zurück (ebenso den Finger, wenn wir ihn verwendet haben), damit der Balsam durch das Gewicht des Deckglases auch auf die noch unbedeckte Fläche kriecht.

Die richtige Größe des Balsamtropfens ist Erfahrungssache; sie wird erstens bestimmt durch die Konsistenz, die Dickflüssigkeit des Balsams selbst und zweitens durch die Dicke des Schnittes. Dünne Schnitte brauchen weniger und dünneren Balsam. Die Größe des Deckglases spielt bis zu einem gewissen Aus-

maß keine Rolle, es sei denn, der Balsam ist ziemlich dünnflüssig. Dicker Balsam sollte für Schnitte von mehr als 20  $\mu$  Dicke verwendet werden, unabhängig von ihrer Anzahl auf dem Objektträger oder von ihrer Größe. Manches Material (Schnitte durch bestimmte Pflanzenorgane) neigt dazu, das Deckglas während des Trockenvorgangs abzuheben, so daß sich Luftblasen oder Kanäle bilden können. Sie können manchmal durch sanften Druck auf das Deckglas hinausgetrieben werden, aber oftmals kann man nur Balsam an einer Deckglaskante nachgeben oder den Objektträger in Xylol legen, um den Balsam aufzulösen, das Deckglas abzuheben und anschließend von neuem einzuschließen.

Wenn das Deckglas anfänglich aufgelegt wird, sollte es bereits exakt in der gewünschten Position gehalten werden, und nachdem es vollständig aufgelegt ist, darf es nicht mehr seitlich verschoben werden, andernfalls besteht die Gefahr, die Schnitte zu beschädigen. Je weniger Balsam unter dem Deckglas ist, um so größer ist die Wahrscheinlichkeit der Beschädigung. Schnitte mit losen Zellinhalten, zum Beispiel stärkereiche Gewebe, zerreißen dabei leichter.

Die Präparate können nun trocknen, auf einer Wärmebank oder -platte oder in einem Brutschrank, bei einer Temperatur von 40 °C. Weil der Balsam sowieso erst nach mehreren Monaten unter der gesamten Deckglasfläche erhärtet, sollten die Präparate nach einem oder zwei Tagen aus der Wärme genommen werden, damit die Farben nicht leiden oder gar zerstört werden. An den Deckglasrändern ist der Balsam jetzt hart genug. Die Präparate können nun in Präparatemappen gelegt werden.



Häufig empfiehlt es sich, auf die aufgelegten Deckgläser ein Gewicht von 20 bis 30 g in Form von kleinen, mit Bleischrot gefüllten Präparategläschen zu stellen, um durch deren Druck eine möglichst dünne Schicht des Einschlußmittels zu erreichen – besonders bei sperrigen Objekten.

## 5.6 Wasserorganismen fangen und untersuchen

### 5.6.1 Plankton fangen und transportieren

(Zusammenfassung von: Klaus Henkel: Plankton fangen und transportieren. 1. Der Fang mit dem Planktonnetz. 2. Der Transport: Braucht Plankton Atemluft oder die volle Pulle? In: MIKROKOSMOS 84 (1995) 283-286 und 375-378.)

Man braucht ein **Planktonnetz**. Gut geeignet sind die kleinen „Kosmos“-Netze, Exkursionsnetze mit Wurfleine und ausziehbarer Alustange. Angelruten eignen sich nicht, denn da sie ständig naß werden, wird der Ruten-Kunststoff bald spröde und bricht - und zwar meist dann, wenn das teure Netz daran hängt. Netze gibt es in verschiedenen Maschenweiten, z. B. bei Thorns in Göttingen oder Windaus in Clausthal-Zellerfeld. Sehr gebräuchlich und geeignet ist „Nummer 18“ mit der Maschenweite von etwa 65 bis 75 µm. Nr. 12 und 16 sind für größere Tiere wie Wasserflöhe etc., Nr. 22 und 25 für kleinste pflanzliche Organismen, wie kleine Grünalgen und Diatomeen.

Ein Planktonnetz kann man auch selber herstellen. Aber die notwendige Müllergaze dazu ist nicht billig. Man kann einen Getreidemüller um ein Stück gebrauchte bitten.

Den Drahtbügel des Netzes wird direkt an die Planktonstange geschraubt. Auch die ist nicht billig. Mancher kauft deshalb im Baumarkt eine ausziehbare Alustange, die zum Fensterputzen dient und bastelt sich eine Befestigung daran. Diese Stangen sind zwar preiswerter, aber zu schwer und auch zu lang, der Hebelarm ist zu lang, die Arme ermüden rasch, wenn man eine zu lange Stange durchs Wasser zieht, denn selbst ein nur kleines „Kosmos“-Netz entwickelt einiges an Widerstand bei der Bewegung.

Die Einziehschnur an einem Wurfnetz, sollte möglichst nicht aus Perlon sein, sie verdrillt und knickt leicht. Eine dünne, gewachste Schnur ist sehr geeignet. Selbst ungewachste ist besser als Perlonschnur.

Wie das Netz im Wasser bewegt wird, ist nicht gleichgültig, denn wenn man es falsch macht, bekommt man kaum etwas ins Netz. Die Bewegung des Netzes an der Stange soll die Bahn einer im Wasser liegenden Acht nachziehen. Zu langsam gezogen, sinkt das Netz ab, zieht man zu schnell, entsteht vor ihm ein Stau, und die Organismen werden vor dem Netz her getrieben, anstatt hinein. Ist an der Wasseroberfläche vor und über dem Netzrand eine kleine Welle sichtbar, so ist die Bewegung zu schnell. Weitere nützliche Hinweise bei Streble/Krauter.

Fließgewässer haben kein eigenständiges Plankton entwickelt. Es kommt überwiegend aus stehenden Gewässern in die Bäche und Flüsse, in denen es sich aber unter Umständen noch vermehrt.

Die Hälfte des Fangs sollte man immer fixieren. Denn falls die Lebendprobe auf dem Transport verdirbt, hat man noch immer den fixierten Teil zum Untersuchen. Die einfachste Methode ist die mit Formol. Das ist Formalin aus der Apotheke, und zwar 35-40%ige Lösung des gasförmigen Formaldehyds in Wasser. In brauner Glasflasche vor Licht schützen! 4-%ige Fomollösung: einfach nach Augenmaß - dem Glas mit der Fangprobe etwa ein Zehntel seines Volumens an Formol zusetzen.

Besonders zarte Organismen überstehen den Heimtransport nicht lebend, zerfallen bereits wenige Minuten nach dem Fang. Sie lassen sich nur an Ort und Stelle mit dem Mikroskop untersuchen.

Die Probe nicht zu dicht konzentrieren. Je länger man das Netz durchs Wasser gezogen hat, mit um so mehr Fundortwasser muß verdünnt werden, weil sonst der Sauerstoff in der Fangprobe zu rasch verbraucht wird und sich die Organismen eventuell gegenseitig zerquetschen. Der Behälter mit der Fangprobe wird auf jeden Fall bis zum Rand mit Fundortwasser aufgefüllt, so daß das Wasser, wenn das Glas zugeschraubt ist, darin beim Transport nicht hin und her schlagen kann. Die meisten „Verluste“ kommen dadurch zustande, daß bei Luft im Glas die Organismen von den kleinen, peitschenendenartigen Wellen an die Glaswände geschmettert werden. Im Glas etwas „Luft“ zu lassen, damit sie atmen können, ist deshalb schädlich und auch ganz überflüssig, weil sich das Wasser auf diese Weise nicht mit Sauerstoff anreichern läßt. An einem heißen Sommertag geht es dem Plankton im verschlossenen Fangglas auch nicht schlechter als im sauerstoffarmen Teich oder im See.

Wer Wasserpflanzen mit ins Glas steckt, sollte sie daheim bald wieder herausnehmen und in einem getrennten Glas halten. sie verbrauchen nämlich durch Atmung nachts, wenn die Photosynthese infolge Lichtmangel aussetzt, den Sauerstoff genau so wie die Tiere.



Die größte Gefahr droht den Organismen im Glas durch Temperaturerhöhung. Das Fangglas also nicht in die Sonne stellen oder halten, sondern sofort in den Schatten. In nasses Zeitungspapier einschlagen, hilft wegen der dadurch entstehenden Verdunstungskälte. Auch metallene Thermosflaschen sind sehr geeignet, wenn man sie auf diese Weise kühl hält.

Wer den Rest des Tages nicht für die mikroskopische Beobachtung reservieren kann, sollte kein Plankton fangen, denn am nächsten Tag sind 80 bis 90 % der Arten abgestorben, ihre Leichen liegen dann auf dem Boden des Glases. Wenn man schon Lebewesen zum seinem Vergnügen fängt und tötet, sollte man sie wenigstens anschauen.

### 5.6.2 Plankton untersuchen

Die Probe ist durch Auffüllen mit Fundortwasser verdünnt, so daß sich nichts heraus-pipettieren läßt, höchstens wenn man wartet bis alles abgestorben ist, dann sammeln sich die Leichen am Grund. Vor dem Beobachten muß die Probe also erst wieder verdichtet werden.

Man nehme einen kleinen, runden Kaffeefilter, falte eine kleine Trichtertüte daraus. Dann gießt man einen Teil der Probe durch diesen Trichter und hält ihn dabei so in eine weite, flache Schale, daß die Spitze des Trichters, in der sich die Organismen sammeln, unterhalb der Wasseroberfläche ist und die Organismen also in etwas Wasser schwimmen. Dort kann man sie mit der Pipette herausholen.

Dann einen Tropfen auf den Objektträger und mit einem Deckglas abdecken. Das ist die kritischste Prozedur. Manche machen das zu lässig und lassen das Deckglas mehr oder weniger auf den Tropfen fallen. Viele Organismen werden dabei regelrecht zerquetscht, man sieht dann in der Probe nur noch Leichteile und Fetttropfchen herumschwimmen. Das Deckglas ganz langsam und vorsichtig (!) absenken, an einer schräg gehaltenen Nadelspitze heruntergleiten lassen. Zum Schluß die Nadelspitze vorsichtig und langsam wegziehen.

Nicht vergessen: Wasser nachführen, das Präparat nicht austrocknen lassen. Wenn die Wasserschicht durch Verdunsten zu dünn wird, drückt das Deckglas viele Organismen platt und zerquetscht sie.

Der Wassertropfen soll nicht zu groß sein, weil sonst ein großes Deckglas notwendig ist. Darunter sieht man aber selten viel, weil die beweglichen Organismen viel zu weit umherschwimmen. Ein kleines Deckglas, z. B. 15x15 oder gar 12x12 mm kann oft zweckmäßiger sein.

Beim Beobachten die Aperturblende nicht zu weit schließen! Wenn man nicht in Hektik verfällt, sondern in Ruhe und konzentriert schaut, sieht man viel mehr. Sehen Sie sich in Mikroskopieranleitungen die Vergleichsbilder „Blende zu weit geöffnet“ / „Blende zu weit geschlossen“ an. Versuchen Sie, die Blende nicht so weit zu schließen, wie es der Autor empfiehlt, dann sehen Sie mehr Feinheiten. Man darf allerdings nicht nur mit dem Auge kurz darüber schweifen, sondern muß ein Detail bewußt und intensiv anschauen.

Wenn Sie genug geschaut haben, können Sie den Wassertropfen wieder ins Vorratsglas laufen lassen oder das ganze Präparat rasch in ein Glas mit Ethyl- oder Methylalkohol stellen. Dabei werden die Organismen kurz und „schmerzlos“ abgetötet. Nur Sadisten lassen sie unter dem Mikroskop austrocknen und platzen.

Verwenden Sie keinen Brennspritus zum Reinigen der Objektträger und Deckgläser. Er enthält rücfetende Substanzen, die Ihren Organismen, den zarten Planktonwesen und besonders den zarteren Algen nicht gut bekommen. Besser ist mit Petrolether vergällter Ethylalkohol zum Putzen.

### 5.6.3 Andere Wasserorganismen

Viele Wasserwesen schweben nicht frei im Wasser wie das Plankton, sondern kriechen auf Blättern oder Steinen umher, setzen sich an verrottenden Holzstückchen und Pfählen fest, leben im Uferschlamm oder gar direkt an der Wasseroberfläche.

Steine kratzt man mit einem Taschenmesser ab; brauner Belag besteht fast immer aus Diatomeen. Auf Wasserpflanzen leben viele seßhafte Organismen, die sich mit Stielen angeheftet haben. An der Unterseite von im Wasser treibenden Blättern kriechen gerne Rädertiere und Ciliaten, die dort vor der direkten Sonne geschützt sind. An beinahe allem, was man aus dem Wasser holen kann, finden sich interessante Organismen. Alte Löffel, flache Blech- oder Plastikschaalen, Handbürsten, Pfahlkratzer und Taschenmesser sind geeignete Werkzeuge zum Sammeln. Zarte Organismen, die oftmals wie eine dünne Ölschicht

an der Wasseroberfläche von Teichen zu sehen ist, sammelt man, indem man ein Deckglas vorsichtig auf das Wasser legt. Sie haften dann an ihm, wenn man es wieder abhebt.

#### 5.6.4 Aquarien

Eine besondere Fundgrube sind Aquarienfilter. Auch hier gilt: Nach der Untersuchung die Organismen rasch in Alkohol abtöten, nicht in die Regentonne oder in den nächsten Weiher kippen. Auch tropische Aquarienpflanzen sollen nicht in einheimische Gewässer eingebracht werden, sie können dort ökologische Katastrophen auslösen.

#### 5.6.5 Weitere Werkzeuge

Die Lupe

Die Gläser und Flaschen

Die Thermosflasche

Das Taschenmesser

Der Pfahlkratzer

Die Dredge

Der Schlammheber

Die Handzentrifuge

Der Amateur braucht in der Regel keine elektrische Zentrifuge. Eine Handzentrifuge genügt für die meisten Anwendungen, oft sogar für Profi-Biologen. Man halte sich ganz genau an die Gebrauchsanleitung, um das Instrument nicht zu beschädigen. Bei ungleichmäßiger Füllung der Zentrifugengläser entstehen erhebliche Unwuchten, die die Achse beschädigen können.

Das Mikroaquarium

Das doppelseitig klebende Tesaband

## 6 Die mikroskopische Literatur

### 6.1 Vorbemerkung

Der Internet-gewohnte Mikro-Anfänger kann leicht in Versuchung geraten, alle ihm notwendig erscheinenden Erkenntnisse aus dem Internet holen zu wollen. Davor sei gewarnt. Wer nicht nur – weil es gerade Mode ist – rote Blutkörperchen im Dunkelfeld anschauen will, wer Biologie, Mineralogie oder Metallurgie mit dem Mikroskop betreiben will, kommt ohne Fachliteratur nicht weit. Damit ist nicht nur die unabdingbare Literatur zu den Untersuchungsobjekten selbst gemeint. Jeder ernsthafte Mikroskopiker muß das Bild in seinem Okular auch richtig interpretieren können. Wer nicht genug weiß, kann das aber nicht. Warum nicht? Wenn wir durch einen Feldstecher einen Hirsch anschauen, und seine Geweihstangen wie die Hörner eines Ochsen aussehen, oder sein Hinterteil wie das eines Wildschweins, dann stimmt da etwas nicht, denn wir wissen seit unserer Kindheit, wie ein richtiger Hirsch auszusehen hat. Außerdem gibt es genügend veröffentlichte Bilder von Hirschen, von denen wir eine Anzahl gesehen haben. Aber wer weiß schon, wie eine Diatomeenraphe aussehen muß, wenn er sie noch nie zuvor gesehen hat, wer kann ohne Kenntnis der Eigenart der mikroskopischen Abbildung entscheiden, ob die abgebildete Wand einer Pflanzenzelle ein-, zwei oder dreischichtig ist? Sind die Durchbrüche in der Diatomeenschale rund oder sechseckig? Warum sind sie, in Abhängigkeit von der Stellung des Blendenhebels am Kondensor, mal rund, mal sechseckig? Das könnte man sicherlich auch in der Mikrofibel mit erstklassigen Fotos anschaulich erklären, wenn sie 50 Megabyte groß sein dürfte. Die Ladezeiten für die Bilder würden sehr lang, aber selbst dann ist der Bildschirm nicht so ideal dafür. Noch immer ist ein Buch mit guten Abbildungen auf Kunstdruckpapier unverzichtbar.

Also her mit den Mikroskopie-Büchern! — Nur gemacht: es gibt keine. Zur Zeit sind alle Titel von Rang und Namen vergriffen. Es ist sehr zu empfehlen, in Groß- und besonders in Universitätsstädten die Antiquariate aufzusuchen. In einer fremden Stadt fragt man am besten in einer größeren Buchhandlung, ob und wo es im Ort Antiquariate gibt. Meist liegt dort sogar ein Merkblatt mit deren Adressen aus.

**Bücher aus der Zeit vor 1950** enthalten viele Arbeitshinweise und kleine Tricks, die noch immer gültig und wertvoll sind, aber in den neueren Praktika und Anleitungen häufig fehlen. Besonders ergiebig für Amateure sind Bücher aus der Zeit nach 1950 bis in die Mitte der siebziger Jahre. Sie enthalten Verfahren, Methoden und Rezepte, die einerseits noch nicht veraltet sind, andererseits aber noch nicht auf weitgehend automatisierten Laboreinrichtungen beruhen, die dem Amateur in der Regel nicht zur Verfügung stehen. Neueste botanische Praktika enthalten als Versuchs- und Übungspflanzen oftmals solche, die es zwar in den klimatisierten Gewächshäusern der Universitätsinstitute als „Standardpflanzen“ das ganze Jahr über gibt, aber in der freien Natur selten oder gebietsweise überhaupt nicht mehr zu finden sind. Etwas ältere Praktika sind für den Amateur deshalb oft ergiebiger. Im Gegensatz zu Lehrbüchern über die Mikroskopie und Mikrofotografie, die zur Zeit alle vergriffen sind, werden die botanischen und zoologischen Praktika und Lehrbücher ständig neu aufgelegt. Sie sind daher immer auf dem neuesten Stand, was man von anderen Fachbüchern nicht generell sagen kann, denn je nachdem, wie progressiv oder konservativ der Verfasser war, fehlen gelegentlich selbst in Neuauflagen manche Erkenntnisse der letzten 20 oder 30 Jahre. Da es für fast jedes Fachgebiet irgendeine wissenschaftliche Gesellschaft oder einen Verein gibt, ist es keine schlechte Idee, dort Rat einzuholen, bevor man die Hobbykasse für ein teures, aber veraltetes Fachbuch plündert. Mitunter gibt es aber gar keine Alternative.

Wer sich ein neues **Lehrbuch** über Biologie, Botanik oder Zoologie anschaffen möchte und dazu Rat braucht, rufe einfach eine größere Buchhandlung in einer Universitätsstadt, in der entsprechende Fakultäten sind, an und frage nach den zur Zeit gängigsten Lehrbüchern. Damit liegt man niemals falsch. Gelegentlich findet man nützliche Literatur in einer **Vereinsbibliothek**. (Anschriften in der MVM-Homepage unter Vereinsadressen.)

In den folgenden Kapiteln ist eine Anzahl von Büchern aufgelistet, darunter nicht wenige, die in den vergangenen Jahren für die Vereinsbibliothek der Mikrobiologischen Vereinigung München e. V. angeschafft wurden oder die im Bücherschrank des Verfassers stehen. Die Auswahl ist insoweit also subjektiv und nicht frei vom Zufall. Die Neuzugänge der Vereinsbibliothek wurden für die Mitglieder der MVM in den Vereinsmitteilungen „µ“ kommentiert. Diese Kommentare wurden teilweise, auch wenn sie manchmal sehr persönlich eingefärbt sind, mit in die Mikrofibel übernommen, weil sie für deren Leser von Interesse sein können.

Das **Bibliothekswesen** ist in Deutschland und den deutschsprachigen Nachbarländern hervorragend organisiert und sehr leistungsfähig. Deshalb können sich auch Mikroskopiker, die auf einer Hallig, im Oderbruch oder in einem kleinen Pfälzer Weindorf wohnen, Fachliteratur ausleihen. Über den Biblio-

theksverbund kann man die **Fernleihe** benutzen. Irgendwann ist ein Besuch auf einem Amt in der nächsten Kreisstadt fällig, da geht man einfach in die Stadtbibliothek und fordert die gewünschten Bücher an. In den Hauptstädten geht man zur Landesbibliothek, in München zur Bayer. Staatsbibliothek. Auf diese Weise lassen sich auch Werke beschaffen, die vor einem Jahrhundert erschienen sind. Die größeren Bibliotheken sind untereinander vernetzt, die Fernleihe wird durch das Internet wesentlich beschleunigt.

Allen Mikroskopikern sei auch der Bezug der **Zeitschrift MIKROKOSMOS** empfohlen. Sie bietet viele Anregungen zu eigenen Untersuchungen, enthält fachkundige Beiträge und gibt stets Hinweise auf geeignete Literatur. Auch die bisherigen 90 (neunzig!) Jahrgänge dieser Zeitschrift sind eine an- und aufregende Fundgrube, besonders für Hobby-Mikroskopiker!

In den **Literaturverzeichnissen** wissenschaftlicher Werke finden sich oftmals Abkürzungen, denen man im alltäglichen Leben selten begegnet. Hier sind einige davon:

Ders. oder ders. = Derselbe (Verfasser wie oben)

D. O. = Der Obige (Verfasser)

(Hrsg.) = (Herausgeber)

aaO oder a.a.O. = am angegebenen Ort (an derselben Literaturstelle wie schon „oben“ angegeben)

et al. (et alii) = lat. und andere (Verfasser)

Abb. i. T. = Abbildungen im Text (im Gegensatz zu Abb. auf Bildtafeln)

Z. wiss. Mikr. = Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie.

#### Und hier noch wichtige Symbole in der Bücherliste:

---- bedeutet, daß ab hier der wertende Kommentar beginnt, der in „µ“ abgedruckt war.

Am Ende eines Buchabsatzes in der folgenden Bücherliste bedeuten:

\* Das Buch ist noch nicht vergriffen, also noch im Buchhandel zu bekommen.

A Das Buch ist auch für Anfänger geeignet.

W Wichtiges und bewährtes Werk.

#### Achtung: Alle Bücherpreise sind noch in D-Mark angegeben!

Für „blutige Anfänger“: Siehe auch Bücher und Anleitungen für Kinder im Kapitel 4.6 *Die Mikroskopie und Kinder*. Auch erwachsene Anfänger sollten sich keineswegs genieren, das schöne Buch von Oxlade/Stockley aufmerksam zu lesen und die instruktiven Abbildungen zu betrachten!

## Neuerscheinung

**Bruno P. Kremer: *Das große Kosmos-Buch der Mikroskopie*.** 320 Seiten, 451 Farbfotos, 17 Schwarzweiß-Fotos, 115 Farb- und SW-Zeichnungen. Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Co., Stuttgart 2002. 39,90 Euro. ISBN 3-440-08989-4.

„Da liegt es nun also vor mir, so dick und gewichtig wie noch kein Mikroskopierbuch zuvor. Der Titel klingt verdächtig nach „Das Große Goldene Buch der Sieben Weltwunder“, doch beim ersten Durchblättern mit dem Daumen ist der hausbackene Titel schon vergessen, und man genießt Aufmachung und Inhalt. Doch der Reihe nach, von außen nach innen.

Moderner, griffsympathisch beschichteter, dicker, fester Leineneinband, stabile, sorgfältige Fadenheftung, kräftiges, schmiegsames Papier: Wo immer man das Buch auch aufschlägt, die Seiten bleiben liegen; auf diese Weise kann man mühelos damit arbeiten, jahrzehntelang. Aufgeschlagen erfreut ein modernes Seitenlayout das Auge, mit farbig unterlegten Überschriften und ebensolchen, zusammenfassenden Orientierungskästchen. Die Farbunterstützung ist dezent und augenfreundlich, drängt sich nicht auf, lenkt nicht mit Layoutschnickschnack vom Inhalt ab. Wohltuend klare Schriftarten. Hervorgehobene Kästchen am Rand verweisen auf das separate Methodenkapitel. Die vielen Farbfotos und Zeichnungen sind beim beschreibenden Text angeordnet, so daß man nicht umständlich hin und her blättern muß. Design, Layout, Lesbarkeit, Papier und Druck sowie handwerkliche Verarbeitung sind vom Feinsten, bei der **Ausstattung** hat der Verlag es an nichts fehlen lassen.

Im Einführungskapitel (10 Seiten) gibt Kremer einen knappen Abriß der Geschichte der Mikroskopie. Dieser sowie wenige Seiten im Schlußkapitel über den Umgang mit dem Mikroskop und der Erläuterung wichtigster Beleuchtungstechniken, sind sozusagen der ganze apparative Teil. Mit Bedacht hat Kremer auf eine Diskussion der unterschiedlichen Gerätetypen, ihrer Hersteller und deren aktuelles Angebot verzichtet. Das garantiert hohe Resistenz gegen rasches Veralten des Buches.

Der **Hauptteil** besteht aus den folgenden 8 Kapiteln.

- Erkundungen der unbelebten Natur (Kristalle, Mineralien, Kunststoffe und Gespinste, Schnee- und Reifkristalle; 16 Seiten).
- An der Schwelle des Lebens (Pflanzenviren, Bakterien, Cyanobakterien/Blaualgen; 17 Seiten).
- Die Zelle und ihre Bestandteile (Grundbauplan, pflanzliche Zellwand, Plastiden, Vakuolen, Chromosomen und Kernteilung, Membranen und Mitochondrien; 29 Seiten).
- Einzeller und andere Protisten (Aufwuchs und Plankton, Algen – die etwas anderen Pflanzen, Augenflagellaten, Koloniebildung bei Algen, Rindenbewohnende Grünalgen, Kieselalgen, Joch- und Zieralgen, Meeresalgen, Algen in Symbiose, Protozoen, Protistenvielfalt; 45 Seiten).
- Pilze sind ein Reich für sich (Ein- oder wenigzellige Mikropilze, Fädige Mikropilze, Fruchtkörper der Großpilze, Mehltau, Brand- und Rostpilze, Doppelwesen Flechte; 21 Seiten).
- Pflanzen – kreuz und quer (Moose, Farne, Wurzelanatomie, Leitgewebe in der Sproßachse, Aerenchyme, Holz, Laubblätter, Epidermis, Nadeln, Blüte, Pollen und Pollenanalyse, Früchte und Samen; 70 Seiten).
- Von niederen und höheren Tieren (Skelettelemente einfacher Wirbelloser, Arthropoden; Schuppen, Schilde, Federn Haare; Blutzellen und Blutgruppen, Quergestreifte Muskulatur; 23 Seiten).
- Methodisches und Techniken (Grundlegende Arbeits- und Präparationstechniken, Objekte einschließen, Färbe- und Nachweisverfahren, Beobachtungs- und Beleuchtungsverfahren, Kulturverfahren; 40 Seiten).

Die **Orientierungskästchen** in jedem Kapitel bieten durch standardisierte Angaben raschen Überblick.

**Projekt:** Was haben wir vor, worum geht es? -- **Material:** Was brauchen wir dazu? **Was geht ähnlich:** Welche anderen Objekte und Verfahren eignen sich ebenso für unser Vorhaben? **Methode:** Mit welchen Mitteln und Methoden untersuchen wir? **Beobachtung:** Was ist zu sehen, worauf sollten wir achten?

Den Schluß bilden ein fünfzehnteiliges **Literaturverzeichnis** mit etwa 750 Publikationen, eine Seite mit **Vereinsanschriften** und wichtigen Bezugsquellen, sowie ein ausführliches **Sachregister** von 9 Seiten.

Leser des „Mikrokosmos“, der früheren Zeitschrift „Kosmos“ oder „Biologie in unserer Zeit“ kennen „B. P. K.“ und seine Art zu schreiben. Er hat viele Fachartikel und Bücher veröffentlicht, Wissenschaftliches, Informatives, Populäres, und ich kann mich nicht erinnern, daß etwas davon trocken und langweilig gewesen wäre. Seine Freude am Schreiben und Formulieren bezeugt meist schon die Überschrift. Die heißt nicht schlicht Heiß- und Kaltverfahren der Schalenreinigung (bei der Diatomeenpräparation), sondern „Schalenreinigung: Fegefeuer oder Säureattacke“, „Bast und Holz: Weiche Schale, harter Kern“ oder „Kein Pils ohne Pilz“. Da weiß man, wovon die Rede sein wird. Doch sollte man sich beim ersten, raschen Durchblättern nicht von kurzweiligen Überschriften täuschen lassen, denn was auf sie folgt, ist kein Bio-Smalltalk im Plauderstil, sondern nüchtern-präzise Sachinformation zur Biologie und zur mikroskopischen Arbeitstechnik, nicht zu viel und nicht zu wenig. Eher trocken-tabellarisch geht es dann im **Methodenteil** zu. Zu den Themen „Objekte einschließen“ wie auch „Färbe- und Nachweisverfahren“ listet Kremer aber nicht einfach nur auf, sondern stellt den Verfahren stets eine kurze Charakteristik voran. Seine Auswahl aus den vielen umlaufenden Verfahren wird beiden Mikroskopikertypen gerecht, denjenigen, die nur eine bestimmte Struktur erkennen möchten, aber auch denen, die schöne „Ahh-Präparate“ anfertigen wollen. Es handelt sich um eine umfangreiche Methodensammlung, in der weder der Tuscheausstrich nach Burri fehlt, noch die einfache, aber hervorragende Färbung mit Rutheniumrot oder die komplizierte und farb-schöne Kernechtrot-Kombinationsfärbung nach Sterba/Schobess.

Solche Fülle von Informationen zu sammeln, sie übersichtlich, anschaulich und anregend darzustellen, ist Kremer zum Beruf geworden, lange Jahre hat er das auch als Hochschullehrer in Mikroskopierkursen praktiziert, an der Universität Köln im Institut für Naturwissenschaften und ihre Didaktik / Biologie. Auch daß er in Rainer Gerstle einen Verlagslektor zur Seite hatte, der sich ebenfalls seit Jahrzehnten für die Mikroskopie engagiert (z. B. als ehemaliger Redakteur der Zeitschrift Mikrokosmos), hat dazu beigetragen, daß ich dieses schon lange erwartete Buch als runde Sache empfinde. Es ist ein echtes Anleitungs- und Arbeitsbuch geworden, das man aber wohl auch gerne zum abendlichen Schmökern zur Hand nehmen wird. Und der Preis von knapp 40 Euro? Da wäre zu fragen, wo Mikroskopiker mehr oder Besseres

für dasselbe Geld bekommen. Eine auf lange Zeit lohnende Investition, für die man eine 100er Ölimmer-sion gerne noch eine Weile zurückstellt.

Keine Kritik? Nichts was zu bemängeln wäre? Nun, wer will, der findet. Mancher Leser wird ein ausführliches Kapitel über die tierische und menschliche Histologie vermissen. Ich nicht. Das dauert doch seine Zeit bis sich ein Amateur dazu durchringt, und die Profis lernen das sowieso. Mit den hervorragenden Handbüchern über medizinisch-klinische Mikroskopie, die dem studentischen Geldbeutel angemessen sind, könnte ein solches Kapitel ohnedies nicht konkurrieren. Auch hätte es mir zum Beispiel gefallen, wenn Etzolds schöne Färbung mit Chrysoidin aufgeführt wäre, anstelle derjenigen mit Safranin, die er selbst als überholt bezeichnet. Und sogar einen falsch geschriebenen Namen habe ich auf Anhieb entdeckt (Erdtman). Aber so etwas sind Kleinigkeiten für die nächste Auflage, der hoffentlich noch weitere folgen werden.

Auf beinahe jeder Seite von Kremers Buch lerne ich etwas dazu, ich mag es deshalb gar nicht aus der Hand legen. Dr. Dieter Krauter, 41 Jahre lang Herausgeber des „Mikrokosmos“ und Verfasser von drei seinerzeit äußerst erfolgreichen Mikroskopiebüchern meint, das neue Mikroskopierbuch von Dr. Bruno P. Kremer stelle eine lange vermißte Hilfe für den Mikroskopiker dar. Und: „ein anspruchsloses Hobby ist das Mikroskopieren nicht. Ohne Anleitung kann der Amateur nicht zurechtkommen.“ – Das muß er jetzt auch nicht mehr.

*Klaus Henkel (Mikrobiologische Vereinigung München e. V.)*

## 6.2 Mikroskopie, allgemein

**Adam, H.; Czihak, G.: Arbeitsmethoden der makroskopischen und mikroskopischen Anatomie. Ein Laboratoriumsbuch für Biologen, Mediziner und technische Hilfskräfte. 584 S., 283 Abb. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1964. W**

Appelt, H.: Einführung in die mikroskopischen Untersuchungsmethoden. 228 S, 16 Fototafeln und 251 Abb. i. T. Akadem. Verlagsges. Athenaion, Potsdam 1950.

Beyer, H. (Hrsg.): Handbuch der Mikroskopie. 2., stark bearb. Auflage mit 493 Bildern und 45 Tafeln. VEB Verlag Technik, Berlin 1973. A W

Burgess, J.; Marten, M.; Taylor, R.: Mikrokosmos. Faszination mikroskopischer Strukturen. Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft m.b.H., Heidelberg 1990 ----- Schöner Bildband. \* A

Czaja, A. T.: Einführung in die praktische Polarisations-Mikroskopie. Zum Gebrauch bei Untersuchungen von Lebensmitteln, Drogen, pflanzlichen Textilfasern und botanischen Objekten. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1974.

Deckart, M.: Freizeit mit dem Mikroskop. Falken-Verlag Erich Sicker KG, Niederhausen/Taunus 1972. A

Determann, H.; Lepusch, F.: Das Mikroskop und seine Anwendung. Broschüre Ernst Leitz Wetzlar GmbH (heute: Leica Microsystems, Bensheim), Liste Nr. 512-69c, II/77/FY/w., Wetzlar 1977.

Dietle, H.: Das Mikroskop in der Schule. Handhabung, Beobachtung, Experiment. Ein Arbeitsbuch für Lehrer und Schüler. Franckh-Kosmos, Stuttgart 1974. A

Dippel, L.: Handbuch der Allgemeinen Mikroskopie. Zweite umgearbeitete Auflage. 1030 S. Viele Abb. Druck und Verlag von Friedrich Vieweg und Sohn, Braunschweig 1882.

Ehringhaus-Trapp: Das Mikroskop. Seine wissenschaftlichen Grundlagen und seine Anwendung. 5. Aufl. Neubearbeitet von Dr. Lothar Trapp. B. G. Teubner Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1958. A

Françon, M.: Einführung in die neueren Methoden der Lichtmikroskopie. Braun, Karlsruhe 1967.

Freytag, K.: Molekül und Welle. Untersuchung biologischer Objekte mit dem Polarisationsmikroskop. In: Schriftenreihe zur Biologie, Heft 4. Otto Salle Verlag, Frankfurt a. M., Hamburg 1962.

Gawlitza, W.: Schülerübungen zur Mikroskopie. Einfache Schülerversuche mit einer Riesenzelle: Schleimpilz (*Physarum polycephalum*). Korrigierter Nachdruck der 1. Aufl. Leybold Didactic GmbH, Hürth 1990. A

**Gerlach, D.: Das Lichtmikroskop. Eine Einführung in Funktion, Handhabung und Spezialverfahren für Mediziner und Biologen. Thieme Stuttgart 1976. ----- Sehr verständliche Darstellung mit didaktischem Geschick, einfachen, für jedermann nachvollziehbaren Versuchen. Wer ein Mikroskop benützt, braucht unbedingt Hintergrundwissen, das nicht in der Bedienungsanleitung steht. Hier findet er es, sehr anschaulich und preiswert dargeboten. A W**

**Gerlach, D.: Einfluß des Kondensors auf die mikroskopische Auflösung. In: Mikrokosmos, 60 (1971) 212 ff.; Die Bildentstehung im Mikroskop. 1. Das primäre Beugungsbild. 2. Die Entstehung des Zwischenbildes. aaO 277 ff. und 372 ff; Die numerische Apertur von Mikroskopobjektiven. aao 144 ff.; Versuche zur Auflösung im Mikroskop. 1. Einfluß der numerischen Aperturen von Objektiv und Kondensor sowie der Lichtfarbe. aaO 78 (1989) 182 ff.; 2. Beugungserscheinungen im Mikroskop. aaO 79 (1990) 361 ff. Wissenschaftlich korrekt, trotzdem anschaulich und leicht nachvollziehbar. Gute Abbildungen. A**

Gerlach, D.: Mikroskopieren – ganz einfach. Das Mikroskop – seine Handhabung – Objekte aus dem Alltag. Kosmos-Franckh, Stuttgart 1987. ----- Vorzüglich geschrieben und bebildert. A

Göke, G.: Eingriffe in den Strahlengang des Mikroskops. Broschüre. Hagen 2001. \*

Göke, G.: Methoden der Phasenkontrastmikroskopie. Broschüre, 32 Seiten. Hagen 1999. \*

Göke, G.: Methoden der Polarisationsmikroskopie. Broschüre, 42 Seiten. Hagen o. J. \*

Göke, G.: Mikroskopie. Broschüre. Selbstverlag, Hagen 1992. \* A

**Göke, G: Moderne Methoden der Lichtmikroskopie. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1988. A W**

Hager-Tobler: Das Mikroskop und seine Anwendung. Handbuch der praktischen Mikroskopie und Anleitung zu Mikroskopischen Untersuchungen. 14., umgearbeitete Aufl., nach H. Hager, in Zusammenarbeit mit O. Appel, G. Brandes, E. K. Wolff, neu herausgegeben von F. Tobler. 370 S. mit 478 Abb. i. T. Verlag von Julius Springer, Berlin 1932.

Hansen, H.-G.; Rominger, A.; Michel, K.: Das Phasenkontrastverfahren in der Medizin. Vandenhoeck & Rupprecht, Göttingen o. J. (1952).

- Honomichl, K.; Risler, H.; Rupprecht, R.: Wissenschaftliches Zeichnen in der Biologie und verwandten Disziplinen. 88 Seiten, 56 Abb. und 11 Farbbilder. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1982. DM 39,- ----  
- Das Zeichnen am Mikroskop ist noch immer nicht überflüssig oder überholt, auch wenn das Fotografieren so einfach geworden ist. Noch immer gilt, daß man im Mikroskop nur das gesehen hat, was man auch gezeichnet hat. Manche Objekte sind zudem nur durch die Zeichentechnik gut abzubilden. Man muß nicht „begabt“ sein oder gar ein Künstler werden, die Beachtung einiger Grundregeln genügt meistens schon. Die Verfasser geben Anregungen und Hilfen mit ihrem Buch, das aus einem erprobten Kursprogramm entstanden ist. \* A
- Kapitza, H. G.: Mikroskopieren von Anfang an. Carl Zeiss, Oberkochen 1994. ---- Schöne Broschüre, gute Erklärungen, viele Farbfotos. \* A
- Kästner, F.: Einführung in den Gebrauch des Polarisationsmikroskopes. Fachbuchverlag GmbH, Leipzig 1953.
- Kremer, B. P.: Das große Kosmos-Buch der Mikroskopie. 320 Seiten, 451 Farbfotos, 17 Schwarzweiß-Fotos, 115 Farb- und SW-Zeichnungen. Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Co., Stuttgart 2002. 39,90 Euro. ISBN 3-440-08989-4. \* A W Siehe Buchbesprechung zu Beginn des Mikrofibel-Teils 6.**
- Lang, W.: Differential-Interferenzkontrast-Mikroskopie nach Nomarski. In: Zeiss-Informationen, div. Hefte. Zusammenfassung von 4 Beiträgen. Sonderdruck. Nr. S 41-210.2-5-d, MA XI/75 Noo. Carl Zeiss, Oberkochen 1975.
- Leitz, Ernst, GmbH, Wetzlar: Abbildende und beleuchtende Optik des Mikroskops. Objektive, Okulare, Kondensoren. 120 Seiten. Liste 512-99a, VI/73/CX/g. Wetzlar 1973.
- Meyer, K.: Geheimnisse des Antoni van Leeuwenhoek. Ein Beitrag zur Frühgeschichte der Mikroskopie. 647 S., Pabst Science Publishers, Lengerich. ISBN 3-931660-3. \*
- Michel, K.: 20 Jahre Phasenkontrast-Mikroskopie. Historischer Rückblick und aktuelle Sonderfragen. In: Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie und mikroskopische Technik. Band 63 (1957) H. 3, 140-155. S. Hirzel Verlag, Stuttgart. Sonderdruck.
- Michel, K: Die Grundzüge der Theorie des Mikroskops in elementarer Darstellung. 2. neu bearb. Aufl., Wiss. Verlagsges. mbH, Stuttgart 1964. – Nach der neuesten Auflage fragen! Das ist die grundlegende Darstellung. Auch exakte Ableitung und Beschreibung der Abbeschen Diffraktionsversuche. W**
- Michel, K.: Phasenkontrast. In: Zeiss-Mitteilungen 1 (1959), 7. Heft. Seiten 243-268. Nr. S 40-163-d, H XI.58 Koo. Carl Zeiss, Oberkochen 1959.
- Möllring, F. K.: Mikroskopieren von Anfang an. Carl Zeiss, Oberkochen 1980. Zeiss-Nr. G 41-100/VI-d. ---- Hervorragende Erklärungen, gute und verständliche Darstellung für den ersten Anfang.**
- Nachtigall, W.: Mikroskopieren. Geräte, Objekte, Praxis. 2. Aufl., BLV, München 1994. A W
- Neunhöffer, Reinhard: Wissenswertes über die Funktion Ihres Zeiss Mikroskopes. Carl Zeiss, Oberkochen 1984. Zeiss-Nr. K 41-006-d. ---- Auch wer kein Zeiss-Mikroskop hat, wird die technischen Erläuterungen mit Gewinn lesen. A
- Otto, L.: Das Mikroskop. 2. erweit. Aufl., Urania-Verlag, Leipzig/Jena 1957. A
- Oxlade, C.; Stockley, C.: Das Mikroskopierbuch. 48. S., viele Abb. arsEdition, München 1989. DM 19,80. \* A W**
- Patzelt, W. J.: Polarisationsmikroskopie. Grundlagen, Instrumente, Anwendungen. 120 Seiten. Laboratorium für angewandte Mikroskopie. Ernst Leitz GmbH, Wetzlar 1974. Liste 550-51, IX/74/LX/g.
- Pfeiffer, H. H.: Das Polarisationsmikroskop als Meßinstrument in Biologie und Medizin. Friedr. Vieweg & Sohn, Braunschweig 1949.
- Reinert, G. G.: Dunkelfeld- und Ultramikroskopie. Eine praktische Einführung. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co, Stuttgart 1942.
- Rieger, W.; Killermann W. (Hrsg.): Das Mikroskop als Arbeitsmittel im Biologieunterricht der Hauptschule und sein Einfluß auf Lernerfolg und Motivation. Dissertation an der Ludwig-Maximilians-Universität, München 1995-1. 98 S.
- Robeneck, H. (Hrsg): Mikroskopie in Forschung und Technik. GIT-Verlag, Darmstadt 1995. 399 S., zahlr. Abb., brosch. DM 86. ISBN 3-928865-18-8. \*
- Sauer, F.: Mikroskopieren als Hobby. Beleuchtungs- und Präparationsverfahren, Fotografie. Kosmos-Bibliothek Band 307. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co, Stuttgart 1980. A



Schild, E: Praktische Mikroskopie. 3. Neubearb. u. erweit. Aufl., Verlag f. medizinische Wissenschaften Wilhelm Maudrich, Wien-Bonn 1955.

Wild/Leitz: Einführung in die Praxis der Durchlichtmikroskopie. 35 S., viele Abb. Wetzlar 1990. ----- Aperturix stellt das Mikroskop vor, gibt wertvolle Hinweise für seine Handhabung und Rezepte für die Herstellung einfacher mikroskopische Präparate. Das Buch ist für Anfänger gedacht und wurde ehemals jedem Leitz-Mikroskop HM Lux 3 beigegeben, sozusagen als erweiterte Bedienungsanleitung. Hervorragend! Jeder Anfänger sollte es gelesen haben. A

Zeiss, Carl: Geräte für die Polarisations-Mikroskopie. Druckschrift 40-550/I-d, Scho. VII/60 Ptoo.

Zeiss, Carl: Optik für Mikroskope. 97 S. 41-101-d, W XII/71 Uto. A

Zeiss, Carl: Zeiss Mikroskope für Auflicht-Fluoreszenz. Druckschrift 41-350-d, Nachdruck. W-H.V/84 Noo., Oberkochen 1984.

## 6.3 Mikrofotografie

Bergner, Gelbke, Mehliß: Einführung in die praktische Mikrofotografie. 2. Aufl. VEB Fotokinoverlag, Leipzig 1973. Bornhardt, J. F.: Eine praktische Anleitung zu Mikrofotos mit Pfiff. Selbstverlag. J. F. Bornhardt. Oberkochen 1994.

Bornhardt, J. F.: Eine praktische Anleitung zur Mikrofotografie mit Pfiff. 58 S. Selbstverlag. 1994.

**Delly, J. G.: Photography through the Microscope. Ninth Edition, 2nd Printing, Standard Book Number 0-87985-362-X. Eastman Kodak Company, Photography Products Group, Rochester, N. Y. 1988. \* A W**

**Göke, G.: Mikroskop und Kamera. Mikrofotografie und Videomikroskopie. 3. Aufl. 54 Seiten, Broschüre, Hagen 2001. DM 10. \* A W**

Heck, D.: Mikrowelt sehen und fotografieren. Einführung in die mikroskopische Technik. Verlag Frech, Stuttgart 1977. A

Lawson, Douglas: Photomicrography. Academic Press, London and New York 1972

**Michel, K.: Die Mikrophotographie. In: Die wissenschaftliche und angewandte Photographie (Hrsg. Kurt Michel), Band 10. 3. Auflage. Mit 550 teils farbigen Textabbildungen. 736 S. Springer Verlag, Wien 1967. ---- Das Standardwerk! W**

Reinert, G. G.: Mikrofotografie. 3. Aufl. Verlag von Wilhelm Knapp, Halle (Saale) 1942.

**Schenk, R.; Kistler, G.: Mikrophotographie. Eine Einführung in die Grundlagen der Mikroskopie und ihre Anwendung in der mikrophotographischen Praxis. S. Karger, Basel 1960. W**

Schoepf, H.: Das Mikrofoto. Technik der neuzeitlichen Mikrofotografie. Die Nah- und Makroaufnahme. Wilhelm Knapp Verlag, Düsseldorf 1957.

Solf, K. D.: Fotografie. Grundlagen – Technik – Praxis. Überarb. Neuausgabe. Fischer Taschenbuch 1971.

Stade, G; Staude, H.: Mikrophotographie. 2. Aufl. Akadem. Verlagsgesellschaft Geest & Portig K.-G., Leipzig 1958.

Wild Heerbrugg AG: Praktische Makro- und Mikrophotographie. Nr. M 3 300 d. Heerbrugg 1979. A

## 6.4 Biologie, allgemein (einschließlich Mikrobiologie)

Drews, G.: Mikrobiologisches Praktikum. 2. Aufl. 230 S. 1974.

**Dunger, W.; Fiedler, H. J. (Hrsg.): Methoden der Bodenbiologie. 2., neubearb. Aufl. unter Mitarbeit von 21 Fachwissenschaftlern. 118 Abb., 17 Tafeln, 56 Tab., 540 S. G. Fischer, Jena 1997. DM 98,-.**

----- Das ist die langerwartete „Methoden-Bibel“! „Bodenmikrobiologen, -zoologen und -sanierern ebenso wie Biologen, Land- und Forstwirten, Ökologen und Bodenkundlern wird ein breites Spektrum moderner wie klassischer, aufwendiger wie einfacher Verfahren aus kompetenter Sicht geboten“, meint der Verlag im Klappentext – und die Herausgeber im Vorwort: „...Ziel, die methodischen Grundlagen der wichtigsten Arbeitsrichtungen der Bodenbiologie zu vereinen und eine begründete Auswahl geeigneter Untersuchungsmethoden für die vielfältigen bodenbiologischen Fragestellungen anzubieten. ... Gegenüber der ersten Auflage ... gründlich überarbeitet und ergänzt sowie durch neue Abschnitte über molekularbiologische und immunologische Methoden zur Bestimmung von Bodenbakterien, über Bodenenzyme, Phosphorumsatz, Beschreibung des Humusprofils als Lebensraum der Bodenfauna, Arbeiten mit Mikrokosmen und ökotoxikologische Untersuchungen mit Bodenorganismen erweitert.“ Das Buch gibt detaillierte Arbeitsanweisungen für die gemeinsame Behandlung bodenmikrobiologischer und -zoologischer Verfahren, bietet eine Methodik für alle Bodentypen, gibt exakte Anleitungen für die Planung und die statistische Auswertung der Untersuchungen, praktische Anleitungen für das Arbeiten mit allen Teilgruppen der Bodenorganismen und für das Bestimmen von Bodenbakterien und -tieren. Zur Fülle der methodischen Darstellungen kommt noch die Fundgrube der Literaturhinweise, die das Kapitel eines jeden Verfassers abschließen. Als Amateur sollte man sich natürlich nicht gerade auf Untersuchungen versteifen, die einen Gaschromatografen erfordern. Aber wenn der Autor einen Rotationsschüttler für eine Bodenprobe beschreibt, so kann man als Amateur auch mit der Hand schütteln und auf diese Weise dabei sogar seine Muskeln trainieren. Was mir in diesem Buch besonders gut gefällt: Die Funktionsbeschreibungen der technischen Geräte, nach denen man selber improvisieren kann; die praktischen, bebilderten Bestimmungsschlüssel für die Bodentiere; die umfangreichen Literaturverzeichnisse (Staatsbibliothek besuchen!); die praktische Gliederung der Kapitel mit vielen aussagekräftigen Zwischenüberschriften; der griffige Einband und die angenehme Papieroberfläche: man blättert gerne darin! Wer sich noch immer nicht so recht entschließen kann, voller Leidenschaft „Plankton“ zu fischen oder Pflanzenschnitte zu färben, sollte doch einmal dieses Buch gründlich durchsehen. Vielleicht entdeckt er dabei sein Steckenpferd, das er schon immer gesucht hat! Zum Sammeln des Untersuchungsmaterials braucht man keine Stange mit Planktonnetz, keine Batterie frisch gespülter Marmeladengläser; es genügen meist eine kleine Kinderschaukel und ein paar Plastiktüten, die man sogar auf dem Sonntagspaziergang mit der Familie mit sich führen kann. Die Ausbeute verdirbt auch nicht so rasch wie die zarten Planktonwesen, die tierischen und pflanzlichen Lebewesen des Bodens sind viel robuster als jene. Und Erdboden gibt es auf Schritt und Tritt. Man braucht sich nur zu bücken! \* A

Francé, R. H.: Das Leben im Boden. Und: Das Edaphon. Untersuchungen zur Ökologie der bodenbewohnenden Mikroorganismen. Beide Bücher in einem Band. Deukalion Fachverlag für Landwirtschaft und Ökologie, Uwe Hils Verlag, Postfach 1113, 25488 Holm, 1995. DM 29. ISBN 3-930720-02-7. Neuausgabe nach über 70 Jahren! (Das Leben im Boden nach der Auflage von 1922 (Das Leben im Ackerboden; Kosmos-Bändchen). Das Edaphon als unveränderter Nachdruck der zweiten Auflage von 1921. ---- Diese beiden Bücher hatten seinerzeit weltweites Aufsehen erregt. \* A W

Häckel, E.: Die Natur als Künstlerin. In Verbindung mit Breitenbach, W.: Formenschatz der Schöpfung. (Hrsg.: Görke). Gedächtnisausgabe. 118 S. 1929.

Hauck, A.; Quick, P.: Strukturen des Lebens. Ein Bildatlas zur Biologie und Mikroskopie der Zelle. J. B. Metzlersche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart 1986.

Jaeckle, E.: Die Alge, die den Tod erfand. Naturkundliche Meditationen. 45 Seiten, 2 Abbildungen. Calatra Press Willem Enzinck, Lahnstein 1991. DM 30,- ---- Der Autor: Jahrgang 1909, Chefredakteur der Züricher Tageszeitung Die Tat (1943-1971), Mitglied von PEN, der Paracelsusgesellschaft, Ritter des Militär- und Spitalorden St. Lazarus von Jerusalem. Conrad-Ferdinand-Meyer-Preis (1958), Literaturpreis der Stadt Zürich (1974), Bodensee-Literaturpreis der Stadt Überlingen (1977), Paracelsusring der Stadt Villach (1985), Kogge-Literaturpreis der Stadt Minden (1985), Mozart-Preis der Goethe-Stiftung (1986.) Mitglied der Mikroskopischen Gesellschaft Zürich. Auch so kann man Biologie und Mikroskopie betreiben: Meditieren, seinen Gedanken über Leben und Tod nachhängen. Eine Aphorismensammlung über Evolution, den Preis, den höhere Lebewesen für ihre erweiterten Möglichkeiten der Anpassung und des Aufstiegs zahlen. Die mikroskopische Beobachtung von Algen dominiert im

ersten Teil, im zweiten verläßt der Autor diesen direkten Bezug, seine Gedanken kreisen um den Tod und seine Bedeutung für uns Menschen. Dieses schmale Bändchen wird sicherlich etwas Besonderes in unserer Bibliothek bleiben. \* A

**Kremer, B. P.: Das große Kosmos-Buch der Mikroskopie. 320 Seiten, 451 Farbfotos, 17 Schwarzweiß-Fotos, 115 Farb- und SW-Zeichnungen. Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Co., Stuttgart 2002. 39,90 Euro. ISBN 3-440-08989-4. \* A W**

Leroy, F.: Mikrokosmos. Einblicke in die Welt der Zellen. Deutsche Ausgabe herausgegeben von Prof. Dr. Willi Ziegler, Senckenbergische Naturforschende Gesellschaft, Frankfurt a. M. 111 farbige Abb., 3 s/w Abb., 78 Seiten, Großformat. Kleine Senckenberg-Reihe Nr. 19. (Zu beziehen durch Einsendung von DM 10 im Briefumschlag an Senckenbergische Naturforschende Gesellschaft, Senckenberganlage 25, 60325 Frankfurt am Main.) Verlag Waldemar Kramer, Frankfurt a. M. 1991 DM 10,-. ----- Eigentlich ist es ein Bildband über die Zelle, mit sehr einprägsamen, dreidimensional gezeichneten farbigen Bildern und farbigen Schemata. Kurze, aber ausreichende Texte für Überblick und Einführung: Ursprung der Zelle, Molekularer und struktureller Aufbau, Sauerstoffaustausch, Energiehaushalt, Organellen der Zelle, ihre Vermehrung, Blutzellen und Immunverteidigung. Didaktisch klug gemacht. Es ist der erweiterte „Katalog“ einer gelungenen Ausstellung. Die fünf Euro, die das schöne Buch kostet, kann man nicht besser anlegen. Dafür bekommt man München heutzutage nicht einmal mehr eine schlecht eingeschenkte Maß Bier zu seiner Weißwurst. \* A

Voigt, M.: Die Praxis der Naturkunde. Zweite, erweit. Aufl. der Praxis des naturkundlichen Unterrichts. Ein Handbuch für Lehrer aller Schulgattungen, für Schülerübungen und für Sammler. Bd. I. 200 S. mit 90 in den Text gedruckten Figuren. Bd. II: 263 S. mit 143 i. d. T. gedr. Figuren. Dieterich'sche Verlagsbuchhandlung, Theodor Weicher, Leipzig 1913.

## 6.5 Limnologie, Meeresbiologie und Einzeller

**Aescht, E.: Die Urtiere. Eine verborgene Welt. Katalog zur Ausstellung im Biologiezentrum des Oberösterreichischen Landesmuseums in Linz 1994. ISBN 3-900746-63-x. ----- Das ist viel mehr als ein „Katalog“, es ist ein einmalig schönes Buch mit einmaligen Abbildungen! \* A W**

Baumeister, W.: Planktonkunde für Jedermann. Eine method. Einführung. 6. Aufl. Kosmos-Franck, Stuttgart 1972. A

**Bellmann, H.; Hausmann, K.; Janke, K.; Kremer, B. P; Schneider, H.: Einzeller und Wirbellose (ohne Weichtiere und Gliederfüßler).** Steinbachs Naturführer. Illustriert von Erika Hausmann, B. P.

Kremer, T. Steinicke und Fritz Wendler. 288 S. Mosaik-Verlag, München 1991. DM 19,90 ----- Mehrere hundert hervorragende Farbfotos, kurze prägnante Texte, mit denen in die einzelnen Organismengruppen eingeführt wird und die, unterstützt von den Bildern, die ausgewählten Einzeller und Wirbellosen beschreiben. G. Steinbach hat aus den Beiträgen von fünf Meistern ihres Faches ein wirklich schönes Buch zusammengestellt, das im Bücherschrank des Naturfreundes nicht fehlen sollte. \*

A

Bourelly, P.: Les Algues d'eau douce. (Die Süßwasseralgen.) Teil I: Les Algues vertes. 511 S., 1966. Teil II: Les Algues jaunes et brunes. Chrysophycées, Phéophycées, Xanthophyssen. 438 S., 1968. Teil III: Les Algues bleues et rouges. Es Eugléniens, Peridiniens et Cryptomonadines. 512 S., 1970.

**Canter-Lund, H.; Lund, J. W. G.: Freshwater Algae – their microscopic world explored.** Biopress Limited, The Orchard, Clanage Road, Bristol, BS3 2JX, England, 1995. Gebunden Brit. Pfund 66,00 + 4,00 Porto, ISBN 0-948737-25-5. 360 Seiten, über 600 meist farb. Abb. Hervorragende Bilder und verständlicher Text (engl), sehr teuer, aber nicht zu teuer. Das ist wohl das schönste Buch über Süßwasseralgen. ----- Endlich! Es war nicht leicht, den englischen Verlag zu erreichen, heute aber rief man aus Bristol zurück. Yes, das Buch sei noch verfügbar. Auch die telefonische Bestellung wurde gleich aufgenommen. 2 Exemplare. Eines für mich, eines für unsere Bibliothek. Die Vorfreude ist groß. Es ist das teuerste Buch, das wir je für unsere Bibliothek angeschafft haben. Es ist aber auch das schönste Buch über Süßwasseralgen, das jemals gemacht wurde, eignet sich sogar als Hilfe beim Bestimmen, weil die Fotos gut interpretierbar sind, die Aperturblende wurde beim Fotografieren nicht zu weit zugezogen, wie man leider nur allzuoft in Büchern sehen kann. Besonders beeindruckend sind die schönen und technisch hervorragenden Farbaufnahmen, viele davon in normalem Hellfeld. Die Fotografin, Hilda Canter-Lund, machte alle Aufnahmen mit einem alten Zeiss-Photomikroskop I und Elektronenblitz. Obwohl sie auch moderne Kontrastierungsverfahren, wie positiven und negativen Phasenkontrast und Differential-Interferenzkontrast nach Nomarski verwendet, verschmäht sie doch auch nicht das Dunkelfeld und die alte, einfache Färbung mit chinesischer Tusche, um die Schleim- und Gallerthüllen sichtbar zu machen. Mit dem gut gemachten Glossar kann man sogar ein wenig englischsprachige Algenbiologie lernen, wenn man will. Muß man aber nicht, denn man hat schon an den schönen Bildern seine Freude, viele Textstellen und die Bildunterschriften versteht man auch ohne große Englischkenntnisse. Für jeden Begeisterten, der dieses schöne Buch auch für eine Zierde des eigenen Bücherschranks hält und der sich durch den derzeit hohen Pfundkurs nicht abschrecken läßt, sei mitgeteilt: Noch (!) ist es available, yes! Ich habe es schon öfter bei Freunden bewundert. Endlich ist mein Buch in Händen von Dero Majestät Post Office. Ich kann es kaum erwarten. \* A

W

Drebes, G.: Marines Phytoplankton. Eine Auswahl der Helgoländer Planktonalgen (Diatomeen, Peridinieneen). 186 S. 151 Abb. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974.

Draws, R.; Ziemek, H. P.: Kleingewässerkunde. Eine praktische Einführung. 2. Aufl., 146 S., Quelle & Meyer, Heidelberg 1995. ----- Eigentlich für Lehrer und Schulpraktika geschrieben, ist dies eine gelungene Einführung in die Besonderheiten von Kleingewässern, besonders Stillgewässern und ihre Lebenswelt. \* A

Eckert, F.: Das Präparieren von Algen. Eine Gesamtdarstellung der Präparationstechnik für alle Süßwasser- und Meeresalgen. 48 S. mit 28 Abb. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1939.

Ettl, H. et al.: Süßwasserflora von Mitteleuropa. Begründet von A. Pascher. ca. 25-30 Bände. G. Fischer Verlag, Stuttgart. Preis je Band zwischen 100 und 300 DM. \*

Eyferth-Schönichen: Einfachste Lebensformen des Tier- und Pflanzenreiches. 5. Aufl., vollständ. neu bearb. v. W. Schönichen. Band I: Spaltpflanzen, Geißelinge, Algen, Pilze. 520 S. mit 426 Abb. i. T. Band II: Urtiere, Rädertiere. 522 S. mit 688 Textabbildungen und 18 lose eingelegten Bildtafeln. Hugo Bermühler Verlag, Berlin-Lichterfelde 1925 und 1927.

- Foissner, W.; Blatterer, H.; Berger, H.; Kohmann, F.:** Taxonomische und ökologische Revision der Ciliaten des Saprobiensystems. Band I: Cyrtophorida, Oligotrichida, Hypotrichia, Colpodea. Band II: Peritricha, Heterotrichida, Odontostomatida. Band III: Hymenostomata, Prostomatida, Nassulida. Band IV: Gymnostomatea, Loxodes, Suctoria. Bayrisches Landesamt für Wasserwirtschaft (Herausgeber und Verlag), München 1991 bis 1995. ----- Ein weltweit einzigartiges, unvergleichliches Werk. Die Qualität und Genauigkeit von Beschreibungen und Fotografien sind überragend. Die Qualität des Drucks beispielhaft. Je Band etwa 500 Seiten und 1300 Abb. DIN A4, Vierlochheftung im stabilen Plastikordner. Preis je Band ca. 130 DM. In Anbetracht der Einzigartigkeit des Werks, das für viele Jahrzehnte das Standardwerk bleiben wird, sehr preiswert. \*
- Fott, B.:** Algenkunde. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1959. (und neuere Auflagen) \* A W
- Göke, G.:** Einführung in die Präparation der Diatomeen. Broschüre 40 S. Veröffentlichung der Naturwiss. Vereinigung Hagen e. V., Sonderheft SM 1, Dez. 1993. \* W
- Hausmann, K.; Patterson, D.:** Taschenatlas der Einzeller. Protisten, Arten und mikroskopische Anatomie. Mit 121 Farbfotos. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co, Stuttgart 1983. \* A W
- Hoek, C. van den; Jahns, H. M.; Mann, D. G.:** Algen. 3. Neubearb. Aufl. 412 S., 235 Abb. in 1179 Einzeldarstellungen, 5 Tab. G. Thieme Verlag, Stuttgart 1992. DM 98,00. ---- Schon die erste Auflage war als „Flexibles Taschenbuch“ sehr beliebt. Die neue Auflage bietet aber Besonderes: Die molekularbiologischen, cytologischen und entwicklungsgeschichtlichen Erkenntnisse der beiden letzten Jahrzehnte haben zu einer durchgreifenden Überarbeitung des gesamten Algensystems geführt, das bisherige, klassische Konzept wurde verlassen, weil falsch. Schon aus diesem Grunde sollte der Algen- und Mikrofreund einen tiefen Blick in dieses Buch tun. \*
- Huber-Pestalozzi, G.:** Das Phytoplankton des Süßwassers. Systematik und Biologie. Viele Bände. In: Thienemann, A.: Die Binnengewässer. Einzeldarstellungen aus der Limnologie und ihren Nachbargebieten. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägeli & Obermiller), Stuttgart. \*
- Hustedt, F.: Diatomeen. In: Huber-Pestalozzi, G.: Das Phytoplankton des Süßwassers. Systematik und Biologie. 2. Teil, 2. Hälfte. (Reihe Die Binnengewässer. Einzeldarstellungen aus der Limnologie und ihren Nachbargebieten. A. Thienemann (Hrsg.)). 550 S. 202 Abb. in zahlreichen Einzeldarstellungen auf Tafeln und im Text. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Erwin Nägele), Stuttgart 1942, Unveränderter Nachdruck 1962.
- Hustedt, F.: Kieselalgen (Diatomeen). 5. Aufl. 70 S. mit 35 Zeichn. i. T. u. 97 Abb. auf 4 Kunstdrucktafeln. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1973.
- Kalbe, L.:** Kieselalgen in Binnengewässern. Diatomeen. 2. Aufl. Neue Brehm-Bücherei. 206 S. mit 466 Abb. davon 447 Originale auf 37 Tafeln und 12 Textfig. A. Ziemsen Verlag, Wittenberg Lutherstadt 1980. W
- Klee, O.:** Wasser untersuchen. Einfache Analysemethoden und Beurteilungskriterien. Biolog. Arbeitsbücher Nr. 42. 2. überarb. Aufl., 245 S., viele Abb. Quelle & Meyer, Heidelberg 1993. DM 29,80. \* A W
- Klotter, H.-E.: Grünalgen (Chlorophyceen). 76 S. mit 199 Zeichn. i. T. und auf Tafeln. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1957.
- Krammer, K.:** Kieselalgen. Biologie, Baupläne der Zellwand, Untersuchungsmethoden. Kosmos-Franckh, Stuttgart 1986. ----- Hervorragende Fotos in Gegenüberstellung von Aufnahmen mit dem Licht- und dem Rasterelektronenmikroskop. Kompetenter Textteil. Wer ein Exemplar dieses Buches irgendwo findet, sollte sofort zugreifen! W A
- Krammer, K.; Lange-Bertalot, H.:** Bacillariophyceae. (Diatomeen – Kieselalgen). 1. Teil: Naviculaceae. 876 S. 206 Tafeln mit 2976 Figuren. 1986. Teil 2: Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae. 596 S., 184 Tafeln mit 1914 Figuren. 1988. Teil 3: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. Unter Mitarbeit von H. Håkansson und M. Nörpel. 576 S., 166 Tafeln mit 2180 Figuren. 1991. Teil 4: Achnanthaceae, Kritische Ergänzungen zu Navicula (Lineolatae) und Gomphonema. Gesamtliteraturverzeichnis Teil 1– 4. 436 S., 88 Tafeln mit 2048 Figuren. 1991. In: Süßwasserflora von Mitteleuropa, Begründet von A. Pascher, Herausgegeben von H. Ettl, G. Gärtner, J. Gerloff, H. Heynig, D. Mollenhauer. Band 2/1 bis 2/4. Gustav Fischer Verlag Stuttgart und Jena. \* W
- Liebmann, H.: Handbuch der Frischwasser- und Abwasserbiologie. Biologie des Trinkwassers, Badewassers, Fischwassers, Vorfluters und Abwassers. Band I. 540 S., 436 Textabb., 5 Farb- und 13 Schwarzweißtafeln. Verlag von R. Oldenbourg, München 1951. ----- Eine „Bibel“, Standardwerk.

- Lindau, G.: Kryptogamenflora für Anfänger. Eine Einführung in das Studium der blütenlosen Gewächse für Studierende und Liebhaber. Begründet von F. Lindau, fortgesetzt von R. Pilger. Band 4.1. Die Algen. Erste Abt. 2. umgearb. u. vermehrte Aufl. von H. Melchior. 314 S. mit 489 Figuren auf 16 Tafeln und 2 Fig. i. T. 1926. Zweite Abt., d. o. 310 S. mit 467 Abb. auf 18 Tafeln u. 14 Fig. i. T. 1930. Verlag von Julius Springer, Berlin. Reprint im Verlag von Otto Koelz, Koenigstein, Taunus 1971.
- Mayer, M.: Kultur und Präparation der Protozoen. 5. Aufl. 6. Tsd., 84 S. mit 5 Zeichn. i. T. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart
- Müller, H.; Saake, E.: Mikroorganismen limnischer Ökosysteme. Einführung in Formen, Baupläne und Ökologie. Teil B. Als Manuskript gedruckt, Dortmund 1979.
- Oltmanns, F.: Morphologie und Biologie der Algen. 2., umgearb. Aufl. Band 1: Chrysophyceae, Chlorophyceae. 460 S. mit 267 Abb. i. T. Band 2: Phaeophyceae, Rhodophyceae. 440 S. mit 325 Abb. i. T. Band 3: Morphologie, Fortpflanzung, die Ernährung der Algen, der Haushalt der Gewässer, die Lebensbedingungen, Vegetationsperioden, das Zusammenleben. 558 S. mit 184 Abb. i. T. Verlag von Gustav Fischer, Jena 1923.
- Rieth, A.: Jochalgen (Konjugaten). Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1961.
- Röttger, R. (Hrsg.): Praktikum der Protozoologie.** 228 S., 462 Abb. G. Fischer Verlag, Stuttgart 1995. DM 39,00. ---- Das Buch enthält für den Ciliaten-, Amöben-, Flagellaten- Euglenen- usw.-Freund viele Anregungen und Tricks erfahrener Protozoologen. Auf so ein Buch haben wir lange warten müssen. Jetzt steht es in unserem Schrank: Zugreifen! \* A W
- Röttger, R.: Wörterbuch der Protozoologie. Protozoological Monographs, Volume 2, issued April 2001, Shaker Verlag. ISBN 3-8265-8599-2. ---- Gut und sehr preiswert (25,- DM) \* A
- Round, F. E.: Biologie der Algen. Eine Einführung. 2. überarb. u. erweit. Aufl., 342 S. 77 Abb. u. 12 Tafeln. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1975.** \* W
- Sandhall, A., Berggren H.: Planktonkunde. Franckh-Kosmos, Stuttgart 1985. ---- Ein nützliches Buch. Viele Farbfotos, so wie man sie im Mikroskop sieht. A
- Sauer, F.: Tiere und Pflanzen im Wassertropfen nach Farbfotos erkannt. Fauna-Verlag, Karlsfeld 1995. \* A
- Schmidt, E.: Ökosystem See. Der Uferbereich des Sees. 5. völlig neu bearbeitete Auflage. 335 Seiten, 84 Abb. und 26 Fotos. Biologische Arbeitsbücher; Quelle und Meyer, Wiesbaden 1996. DM 36,80. ---- Wer auch nur gelegentlich Plankton aus einem See fischt, entwickelt doch mit der Zeit eine stärkere Zuneigung zum See „an und für sich“. Da möchte man dann schon mehr wissen. Schmidts Buch will uns helfen, damit wir nicht im ökologischen Halbwissen stecken bleiben. Er meint, die derzeitige ökologische Krise verlangt von „uns“, daß wir über die Freude an der Formenmannigfaltigkeit und Vertiefung ihrer Kenntnis hinaus zur Einsicht in das komplexe Beziehungsgeflecht zwischen den Arten und ihrer Umwelt kommen sollten. Das Buch ist gründlich, nicht schwer zu lesen und enthält viele das Verständnis erleichternde Schemata. Besonders hingewiesen sei auf das umfangreiche Literaturverzeichnis. \* A
- Schussnig, B.: Grundriß der Protophytologie. 310 S. 407 Abb. i. T., VEB G. Fischer Verlag, Jena 1954.
- Schwab, Helmut: Süßwassertiere. Ein ökologisches Bestimmungsbuch. Ernst Klett Verlag, Stuttgart 1995. — Allgemeiner Teil, Info über Wasser- und Stoffkreisläufe, über Wasserläufe, Gewässertypen. Wirbellose, Kleinstlebewesen, Wirbeltiere. Methoden zum Fangen, Bestimmen, Gewässergütebestimmung. Literatur, Glossar. Üppige und gute Bebilderung. \* A
- Schwoerbel, J.: Methoden der Hydrobiologie. Süßwasserbiologie.** 4. Neubearb. Aufl., 386 S. 134 Abb. u. 39 Tab. G. Fischer, Stuttgart 1994. UTB Nr. 979. DM 36,80. ---- Der Autor beschreibt alle wesentlichen und bewährten Methoden der Gewässeruntersuchung, chemische, physikalische, biologische. Er konzentriert sich auf solche, die sich ohne großen apparativen Aufwand im Freiland durchführen lassen. Knappe Theorie, ausführliche Praxis. Gutes Literaturverzeichnis, wertvoll: Bezugsquellenangaben. \* W
- Sommer, U.: Algen, Quallen, Wasserflöhe. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 1996 ?. ---- Preiswert. \* A
- Sommer, U.: Planktologie. Mit 117 Abb., 274 S. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg 1994. DM 49,00 ---- Ein Lehr- und Lernbuch vom Plankton, das alle Aspekte der Planktologie zusammenfassend darstellt. Kein Bestimmungsbuch! Eine Besonderheit ist die gemeinsame Behandlung von Süßwasser- und Meeresplankton. Exemplarisch werden fast alle wichtigen Fragen der Ökologie abgehandelt. Viele verdeutlichende grafische Darstellungen und Schemata. \* A

Steiner, G.: Untersuchungsverfahren und Hilfsmittel zur Erforschung der Lebewelt der Gewässer. 146 S. mit zahlreichen Abb. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1919.

**Streble, H., Krauter, D.: Das Leben im Wassertropfen. Mikroflora und Mikrofauna des Süßwassers. Ein Bestimmungsbuch. 9. Aufl. Kosmos-Franckh, Stuttgart 2002. ----- Wer sich nicht nur für Pflanzenanatomie oder tierische Histologie interessiert, muß dieses Buch haben, es gibt auf der Welt nichts vergleichbares. Wenn antiquarisch angeboten, nur ab 8. Auflage kaufen wegen des neuen Kapitels „Biologische Gewässeruntersuchung und Gewässerbeurteilung“. \* A W**

Voigt, M; Koste, W.: Rotatoria. Die Rädertiere Mitteleuropas. Ein Bestimmungswerk, begründet von Max Voigt. Überordnung Monogononta. 2. Aufl., neubearbeitet von Walter Koste, Quakenbrück. Verlag Gebrüder Bornträger, Berlin, Stuttgart; 1978, im Vertrieb Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart. DM 238,-. I. Textband m. 63 Textabbildungen (VI+673 Seiten), II. Tafelband m. 234 Tafeln (476 S.) ---- (Für die Ordnung Bdelloidea (Rädertiere, die sich zusammenziehen und winden können wie die Aale), die Konrektor i. R. W. Koste nicht bearbeitet hat, verweist er auf das Werk von J. Donner: Ordnung Bdelloidea. Akademie-Verlag, 1-296, 1965.) Bei Erscheinen der ersten Auflage dieses Werkes vor 40 Jahren überschrieb ein Altmeister der Rotatorienkunde, der Jesuitenpater Josef Donner aus Wien, seine viereinhalbseitige (!) Rezension im Mikrokosmos mit dem Titel: „Das Rotatorienwerk Max Voigts: Eine neue Epoche in der Rädertierforschung Mitteleuropas kann beginnen.“ Und dann: „Könnte ich jetzt den verehrten Leser nur dazu bewegen, aus einer Institutsbücherei diese beiden Bände sich für kurze Zeit auszuleihen und durchzublättern. Er könnte einen schönen Einblick gewinnen in die bezaubernde Welt der Rotatorien und könnte ein ganz modernes, in seiner Art (bes. Tafelband) einzig dastehendes wissenschaftliches Werk kennen lernen.“ (Mikrokosmos 48, 172-176, 1958). Es war von Fachleuten und Liebhabern als Sensation bezeichnet worden. Zwanzig Jahre später kommentiert er die zweite Auflage von W. Koste: „Im Ganzen hat die Wissenschaft vom Leben wieder einen Gewinn für Jahrzehnte aus der langjährigen Mühe eines unentwegten Literaturforschers und Praktikers.“ Nach inzwischen beinahe weiteren zwanzig Jahren sind wir sicher, daß es auch in den kommenden Jahrzehnten das Standardwerk sein wird. Donner weiter: „Die Bestimmung der Rädertiere bleibt dennoch schwierig, die Technik der Mikroskopie hält den Bearbeiter am meisten in Spannung. Sie ist eine Hürde, die uns vor allem herausfordert, die aber unter bewährten Anleitungen neuerer Fachleute auch zu nehmen ist: Der Preis der Freude und Befriedigung an unseren schönen Tieren.“ Donner verweist auf: M. Voigt: Winke für die Untersuchung der Kauwerkzeuge von Rädertieren. Mikrokosmos 30, 158-163 (1937) und J. Donner: Die Rotatorien im mikroskopischen Praktikum. Mikrokosmos 45, 153-160 (1956). Wenn es nicht gerade ausgeliehen ist, findet man das zweibändige Werk von nun an in unserem Bücherschrank. Zwei Mitglieder haben es gemeinsam finanziert und gestiftet. \*

Vinyard, W. C.: Diatoms of North America. 120 S. Mad River Press, Inc., Eureka, California 1979.

Whitford, L. A.; Schumacher, G. J.: A Manual of Fresh-Water Algae. 324 S. Sparks Press, Raleigh, N. C., USA, 1973.



## 6.6 Botanik

Die Flechten findet man unter 6.8 Pilze.

- Beiderbeck, R.; Koevoet, I.: Pflanzengallen am Wegesrand. Entstehung und Bestimmung. 127 S., 110 Farbtafeln, 18 Schwarzweißzeichnungen. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1979
- Bertsch, K.: Moosflora von Südwestdeutschland. 234 S. 122 Abb. 3. Aufl. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart 1966.
- Beug, H.: Leitfaden der Pollenbestimmung. Mitteleuropa und angrenzende Gebiete. Lieferung 1. Mit 17 Abb. und 8 Tafeln. 64 S. G. Fischer Verlag, Stuttgart 1961. (Weitere Lieferungen sind nicht erschienen.)
- Bosshard, H. H.: Holzkunde. Band 1: Mikroskopie und Makroskopie des Holzes. 2., überarbeitete Auflage. 224 S. Birkhäuser Verlag, Basel 1982. DM 78,00 ---- Standardwerk der Holzkundler. Sehr viele schematische Abbildungen und Schwarzweißfotos, aufgenommen mit dem Lichtmikroskop. Wer Hölzer bestimmen will, braucht den Bosshard! \* A W**
- Bracegirdle, B.; Miles, P. H.: An Atlas of Plant Structure. Vol. 2. Heinemann Educational Books Ltd., London 1973.
- Braune, W.; Leman, A.; Taubert, H.: Pflanzenanatomisches Praktikum. G. Fischer, Stuttgart und Jena. ---- Unübertroffen in Ausführlichkeit und Anschaulichkeit. Für Amateur-Mikroskopiker hervorragend geeignet. Ständig neue Auflagen. \* A W**
- Esau, K.: Pflanzenanatomie. 596 S, 186 Abb. und 96 Tafeln. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1969. ---- Das Buch der Amerikanerin Katherine Esau ist die einschlägige „Bibel“. W**
- Eschrich, W.: Funktionelle Pflanzenanatomie. 1. Aufl. Mit 425 Abb., 393 S. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg 1995. DM 78,—. ---- Anders als andere Botaniklehrbücher! Eschrich beschreibt Anatomie, angereichert um moderne cytologische Erkenntnisse, indem er die Funktionsabläufe in der Pflanze betrachtet. Die übliche Einteilung eines Botaniklehrbuches in Sprossachse, Blatt, Wurzel usw. gibt es bei ihm nicht. Wenn er die Wasserleitungsfunktionen behandelt, zieht sich das sozusagen durch die ganze Pflanze, von den Wurzelspitzen, durch den Stamm bis zu den Spaltöffnungen in der Blattoberfläche. Viele schöne Zeichnungen für Mikroskopiker. B. P. Kremer ist von diesem modernen Buch sehr angetan. Ich auch, es ist schon daheim in meinem Schrank. \* A W**
- Esser, K.: Kryptogamen. Blaualgen Algen Pilze Flechten. Praktikum und Lehrbuch. ca. 560 Seiten. 310 Abb. 2. Aufl. Springer-Verlag, Heidelberg, 1985. DM 168,—. ---- Blaualgen (Cyanobakterien), Algen und Pilze sind allgegenwärtig. Algenliteratur, die wissenschaftlichen Ansprüchen standhält, ist in unserer Bibliothek reichlich vertreten. Aber auch über Blaualgen und Pilze ist jetzt mit „dem Esser“ etwas im Bücherschrank, was über das Niveau „Das große Buch der ...“ deutlich hinausgeht. Eschrich hat es vor 20 Jahren eigentlich für Universitätspraktika geschrieben, aber es ist mehr geworden, Lehrbuch und Anleitung zu Praktika — der „Esser“ eben. Auch wer sich für die Kryptogamen noch nicht begeistern kann, wird den Esser mit Gewinn zur Hand nehmen. \* A W**
- Faegri, K.: Bestimmungsschlüssel für die nordwesteuropäische Pollenflora. 86 S., 453 Abb. Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart 1993. \*
- Filzer, P.: Kleines Praktikum der Pollenanalyse. 14 S. Franckh, Stuttgart 1968. A**
- Gassner, Hohmann, Deutschmann: Mikroskopische Untersuchung pflanzlicher Lebensmittel. 5. Aufl., 414 S., 832 Abb. G. Fischer Verlag, Stuttgart 1989. DM 118,00. ---- Der Titel der dritten Auflage lautete noch: Mikr. Untersuchung pflanzlicher Nahrungs- und Genußmittel. Viele Untersuchungsobjekte, die „der Gassner“ behandelt, lassen sich ohne Mühe im Haushalt beschaffen. Ihre Untersuchung kann zu einem reizvollen Hobby werden. Dabei kann man auch fündig werden: Nicht immer wo xyz draufsteht, ist auch (nur) xyz drin! Ein wertvolles Arbeitsbuch für alle, die sich nicht nur für Pantoffeltiere interessieren. \* A W**
- Gerlach, D.; Lieder, J.: Anatomie der Blütenlosen Pflanzen. Bakterien, Algen, Pilze, Flechten, Moose und Farnpflanzen in 128 Farbfotos. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1982. \* A W
- Gerlach, D.; Lieder, J.: Taschenatlas zur Pflanzenanatomie. Der mikroskopische Bau der Blütenpflanzen in 120 Farbfotos. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1979. \* A W
- Hagemann, P.; Egli, M.: Botanik mit der Lupe. Beobachtungen und Versuche. 71 S., 52 Farbfotos, 6 Zeichn. Kosmos-Bibliothek. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1977. A

Heß, D.: Die Blüte. Eine Einführung in Struktur und Funktion, Ökologie und Evolution. 458 S. 1983.

Huber, B.: Die Saftströme der Pflanzen. 126 S., 75 Abb. Reihe Verständliche Wissenschaft, Band 58. J. Springer Verlag, Heidelberg 1956. A

**Jurzitza, G.: Anatomie der Samenpflanzen. 183 Abb.in 376 Einzeldarstellungen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1987. \* A**

Mägdefrau, K.: Geschichte der Botanik. Leben und Leistung großer Forscher. 2. Aufl. 360 S. mit 160 Abb. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart und Jena 1992.

Möbius, M.: Mikroskopisches Praktikum für systematische Botanik. Band I. Angiospermae. 216 S., 150 Abb. im Text. Band II. Kryptogamae und Gymnospermae. 314 S., 123 Abb. i. T. Verlag von Gebrüder Bornträger, Berlin 1912 und 1915. ----- Wer das antiquarisch findet, sollte sofort zugreifen. Ausgezeichnet zum Selbststudium.

Molisch, H.: Mikrochemie der Pflanze. 438 S., G. Fischer, Jena 1923. ----- Kommentar eines engagierten Hobby-Botanikers: „Etwas angestaubt, aber viele Rezepte und Versuchsobjekte zum Nachmachen. Unersetzlich.“ A

**Molisch.: Anatomie der Pflanze. 6. neubearb. Aufl. von Karl Höfler. 180 S., 171 Abb. i. T. G. Fischer, Jena 1954. ----- Sehr anschaulich, schöne Zeichnungen, präzise, treffsichere und lebendige Sprache. Zugreifen!**

Nultsch, W.: Allgemeine Botanik. Kurzes Lehrbuch für Mediziner und Naturwissenschaftler. 9., neubearbeitete Aufl. Mit 26seitigem Glassarium, 225 meist zweifarbigen Abb. in 584 Einzeldarstellungen. 560 + XIII Seiten. G. Thieme Verlag, Stuttgart 1991 \*

**Nultsch, W.: Mikroskopisch-Botanisches Praktikum für Anfänger. 10. Aufl., Thieme, Stuttgart 1995. ----- Ist bei Biologiestudenten beliebt und eignet sich sehr gut als Anleitung für Amateure. Mikrofotos als Illustration zeigen die Objekte so, wie wir sie im Mikroskop sehen. Sehr präzise Angaben. Sehr präzise, kurze Texte, aber nichts wichtiges fehlt. Preiswert. \* A W**

Rauh, W.: Morphologie der Nutzpflanzen. 2. Aufl. 290 S., ca. 500 Abb. Quelle & Meier, Heidelberg 1950 \* A W

Raffaelli, M., Thomas-Domenech, J. M.: Botanik. Reihe: Wissen Heute auf einen Blick. Neuer Kaiser Verlag, Klagenfurt 1992. ----- Ein sehr preiswertes Buch. Ungewöhnliche Konzeption, für den Beginn nützlich. \* A

**Sachsse, H.: Einheimische Nutzhölzer und ihre Bestimmung nach makroskopischen Merkmalen.** 1. Aufl., 160 Seiten, 326 Abb. und 62 Tab., Paul Parey, Hamburg 1984. DM 48,-. --- Dem Ziel unserer Schrift entsprechend, so schreibt der Autor im Vorwort, geht die Behandlung mikroskopisch abgebildeter Bauelemente des Holzes ... nur so weit, wie es zum Verständnis der im makroskopischen Bereich angesprochenen Merkmale erforderlich ist. Und: Die Abbildungen sind im selben Maßstab, wie der Beobachter die Merkmale am Holz bei Lupenbetrachtung wahrnimmt. Trotzdem sollte der Mikroskopiker zu diesem Buch als Bestimmungshilfe greifen! In den meisten Fällen sind die Holzstrukturen makroskopisch und mikroskopisch dargestellt. Wertvoll ist der systematische Aufbau des Werkes. Kurze Einleitungen und Erklärungen der Grundbegriffe der Holz Anatomie, eine bebilderte Bestimmungstabelle — und im Hauptteil: Je Holzart auf zwei Doppelseiten gegenübergestellt: Tabellarisch die Bestimmungsmerkmale und rechts daneben die Bilder dazu. Ein sehr nützliches Buch auch für Mikroskopiker. \* A

Sawyer, R.: Pollen Identification for Beekeepers. 111 S. 254 Abb. v. Pollen, die man im Honig finden kann. University College Cardiff Press, 1981.

Schaede, R.: Die pflanzlichen Symbiosen. 172 S., 153 Abb. Verlag von G. Fischer, Jena 1943 (neuere Auflage?) \*

Schlösser, E.: Allgemeine Phytopathologie. 280 S., 115 Abb. G. Thieme Verlag, Stuttgart 1983.

**Schömmel, F.: Kryptogamen-Praktikum. Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung und Präparation der blütenlosen Pflanzen für Studierende und Liebhaber. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1949. ----- Einmalige Bibel aller Kryptogamenfreunde. W**

Schoenichen, W.: Biologie der Blütenpflanzen. Eine Einführung an der Hand mikroskopischer Übungen. 216 S., 306 Abb. Verlag von Theodor Fischer, Freiburg i. B. 1924. A

Schorr, E.: Pflanzen unter dem Mikroskop. J. B. Metzlersche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart 1991. ----- Sehr nützlich für die ersten Schritte in Pflanzenanatomie. \* A

Stocker, O.: Grundriß der Botanik. 264 S., 303 Abb., Springer Verlag, Heidelberg 1952.

**Straka, H.: Pollen- und Sporenkunde. Eine Einführung in die Palynologie. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1975,**

Strasburger, E. (Sitte, Ziegler, Ehrendorfer, Bresinsky): Lehrbuch der Botanik für Hochschulen. 33. neu-bearb. Auflage., G. Fischer, Stuttgart 1991. ----- Einführendes Standardwerk. Immer modern in der neuesten Auflage. Für Amateure gut geeignet. \* A W

Strasburger, E.; Koenicke, M.: Botanisches Praktikum. Anleitung zum Selbststudium der Mikroskopischen Botanik für Anfänger und Geübte. Zugleich ein Handbuch der Mikroskopischen Technik. 7. Aufl., bearb. v. Max Koernicke. 884 S. 260 Abb. i. T. Verlag von G. Fischer, Jena 1923.

Strasburger, E.; Koernicke, M.: Das kleine botanische Praktikum für Anfänger. Zum Selbststudium der Mikroskopischen Botanik und Einführung in die Mikroskopische Technik. 14. Aufl., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1954. ----- Diese Auflage ist für Amateure sicherlich besser als die neuere. A W

**Wartenberg, A.: Systematik der niederen Pflanzen. Bakterien, Algen, Pilze, Flechten. Einführung für Botaniker, Mikrobiologen, Pharmazeuten und Mediziner. 2. überarb. u. erweit. Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1979. \* A W**

Weymar, H.: Buch der Moose. Standort, Morphologie und Systematik der in Deutschland verbreiteten Laub- und Lebermoose. 3. Aufl. 312 S. Mit 229 Abb. Verlag J. Neumann-Neudamm, Melsungen 1969.

Zach, O.: Die Anatomie der Blütenpflanzen. Eine Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung der höheren Pflanzen. 116 S., 154 Abb. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1954. -----

- Auch wenn hier und da etwas veraltet: Eines der hervorragenden Studienbücher aus dem ehem. Kosmos-Verlag. Hierzu gab es vom Kosmos-Service die Kosmos-Schnittreihe 2: 75 Mikrotomschnitte aus der Anatomie der Blütenpflanzen. Mit einer Anleitung zur Verarbeitung der aufgeklebten Schnitte. Aber ob mit oder ohne Schnitte: Zugreifen!

## 6.7 Zoologie

Dick, J.; Franke, G.: Haarmikroskopie. 156 S. mit 259 Bildern. VEB Fachbuchverlag, Leipzig 1974.

**Doflein, F.; Reichenow, E.: Lehrbuch der Protozoenkunde. Eine Darstellung der Naturgeschichte der Protozoen mit besonderer Berücksichtigung der parasitischen und pathogenen Formen. 6. Aufl. 1214 S. Mit 1151 Abb. im Text. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1953.**

**Donner, J.: Rädertiere (Rotatorien). 4. Aufl. 54 S. mit 35 Zeichnungen i. T. und 88 Abb. auf 4 Kunstdrucktafeln. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1973.**

Fiedler, K.; Lieder, J.: Mikroskopische Anatomie der Wirbellosen. Ein Farbatlas. 238 Seiten, 246 farbige Abbildungen. 1. Aufl. Gustav Fischer, Stuttgart, Jena 1994. DM 54,-. --- Ausgewählte Tiergruppen werden behandelt, von den Schwämmen bis zum Lanzettfischchen. Hervorragende Farbfotos von hervorragenden Mikropräparaten in hervorragendem Druck. Eine gute Orientierungshilfe gerade auch für Hobbymikroskopiker. \* A W

Fiedler, K.; Lieder, J.: Taschenatlas der Histologie für Mediziner und Biologen. Kosmos-Franck, Stuttgart 1986. \* A W

Frank, W.; Lieder, J.: Taschenatlas der Parasitologie für Humanmediziner, Veterinäre und Biologen. Mit 138 Farbfotos. Kosmos-Frankh, Stuttgart 1986. \*

Groepler, W.: Taschenatlas der Embryologie. Nesseltiere, Weichtiere, Ringelwürmer, Gliederfüßer, Stachelhäuter, Manteltiere, Wirbeltiere. 140 Farbbilder. Kosmos-Frank, Stuttgart 1989. \*

**Grospietsch, T.: Wechseltierchen (Rhizopoden). 3. Aufl. 88 S. mit 73 Zeichnungen i. T. und 51 Abb. auf 4 Kunstdrucktafeln. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1972.**

Hausmann, K.: Protozoologie. Unter Mitwirkung von Maria Mulisch und David J. Patterson. 352 S. 217 Abb. in 483 Einzeldarstellungen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1985.

Heckner, F.: Praktikum der mikroskopischen Hämatologie. 3. Aufl. 114 S. 104 Abb. in 169 ein- und 140 mehrfarb. Teilbildern. Urban & Schwarzenberg, München 1975.

**Hirschmann, W.: Milben (Acari). 76 S., mit 84 Zeichnungen i. T. und 24 Mikrofotos auf 4 Kunst-  
drucktafeln. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1966.**

Hoc, S.: Die Moostiere (Bryozoa) der deutschen Süß-, Brack- und Küstengewässer. 62 S. mit 107 Abb. Neue Brehm-Bücherei. A. Ziemsen Verlag, Wittenberg, Lutherstadt 1963.

Jacobs, W.; Renner, M.: Biologie und Ökologie der Insekten. 2. überarb. Aufl. 690 S. 1201 Abb. G. Fischer Verlag, Stuttgart 1988.

Kästner, A.: Lehrbuch der Speziellen Zoologie. Band I, Wirbellose. 1. Teil: Protozoa, Mesozoa, Parazoa, Coelenterata, Protostomia ohne Mandibulata. Neueste Aufl. \* W A

Klopstock, M.; Kowarski, A.: Praktikum der klinischen chemischen, mikroskopischen und bakteriologischen Untersuchungsmethoden. 10. umgearb. u. vermehrte Aufl. 552 S. mit 55 Abb. i. T. u. 25 farbigen Tafeln. Urban & Schwarzenberg, Berlin und Wien 1932.

**Kühn, A.: Allgemeine Zoologie. Begründet von Alfred Kühn. Neu bearbeitet von Ernst Hadorn und Rüdiger Wehner. Georg Thieme Verlag Stuttgart.**

Kühn, A.: Grundriß der Allgemeinen Zoologie. Neueste Auflage. \* W A

Kühnel, W.: Taschenatlas der Zytologie, Histologie und mikroskopischen Anatomie für Studium und Praxis. 8. überarb. und erweit. Aufl., 448 S. 552 meist farb. Abb. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1992. \*

**Krauter, D.: Mikroskopie im Alltag. Eine Einführung in die angewandte Mikroskopie auf einfacher Grundlage. 6. Aufl., Kosmos-Franckh, Stuttgart 1968. ----- Viele Anregungen, von einem kompetentem Mikroskopiker geschrieben. Praktische Untersuchung von Nahrungs- und Genußmitteln, von Bakterien und Pilzen, Schädlingen, Blut, Exkrementen, Parasiten, Textilfasern, Hölzern usw. A**

Lorenz, P. und P.: Einführung in die biologisch-mikroskopische Belebtschlammanalyse. Biologische Arbeitsbücher. 176 S., 128 Abb. Quelle & Meyer, Heidelberg 1995. DM 34,80. \*

Renner, M.: Kükenthal's Leitfaden für das zoologische Praktikum. 19. Neubearb. Aufl. 506 S, 229 Abb. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1984. \* W

Roeckl, K. W.: Das Leben der Einzeller. Ein biologisch-mikrotechnisches Praktikum. 90 S. mit 120 Abb. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1941.

Schönborn, W.: Beschaltete Amöben (Testaceae). Die Neue Brehm-Bücherei. A. Ziemsen Verlag, Wittenberg Lutherstadt 1966.

Seifert, G.: Entomologisches Praktikum. 3., neu bearb. u. erweit. Aufl. 310 Abb. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1995.

**Storch, V.; Welsch, U.: Kükenthals Leitfaden für das Zoologische Praktikum.** 22., neubearbeitete Auflage. Mit 248 Abb. 482 Seiten. G. Fischer Verlag, Stuttgart, Jena 1996. DM 72,-. ---- Die erste Auflage dieses bewährten Buches erschien vor 100 Jahren. Die neue Auflage erhielt nun eine klarere Typografie und ein modernes Seitenlayout nach der Art wie es für wissenschaftliche Lehrbücher in der DDR der Brauch war – lobenswert. Man täusche sich nicht beim oberflächlichen Durchblättern, die Abbildungen scheinen dieselben geblieben zu sein im Vergleich zum Beispiel zur 16. Auflage „Kükenthal, Matthes, Renner“. Die Beschriftung der Bilder ist größer, besser bei einem Seitenblick vom Mikroskop her lesbar. Gelegentlich taucht auch eine neue Abbildung auf, z. B. eine Zeichnung eines elektronenmikroskopischen Schnittes. Zwischen den wortgetreuen Kapiteln aus den älteren Auflagen finden sich Einsprengsel mit Erläuterungen aus neueren Forschungsergebnissen. Auch bei der Gliederung bemerkt man den Fortschritt, Stammbaum- und Verwandtschaftsbeziehungen spiegeln ebenfalls neuere Erkenntnisse wider. Das Buch gehört auf jeden Fall in unsere Bibliothek. Der Einband besteht anscheinend aus geglätteter, veredelter Pappe. Er fühlt sich angenehm an. Auf jeden Fall klebt er nicht so an den Händen wie kunststoffbeschichtetes Leinen. \* A W

Vollmer, C.: Kiemenfuß, Hüpferring und Muschelkrebs. Die Neue Brehm-Bücherei. 56 S., mit 31 Textzeichnungen. Akadem. Verlagsgesellschaft Geest & Portig K.-G., Leipzig 1952.

Wallraff, J.: Leitfaden der Histologie des Menschen. 6., überarb. u. erw. Aufl., 180 S. 209 meist farb. Abb., davon 36 im Text u. 173 auf Tafeln. Verlag von Urban & Schwarzenberg, München. \* A W

Wehner, R., Gehring W.: Zoologie. Begründet von Alfred Kühn. 23. neu bearb. Aufl., 860 Seiten, 432 Abb in 937 Einzeldarstellungen, 29 Tab, 25 Boxen. Glossar mit 730 Stichworten. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1995. DM 54,-. ---- Professor Dr. Hausmann meinte in seiner Rezension in Mikrokosmos 85 (1996), S. 254: „Was gibt es über eine bereits 73 Jahre alte, aber stets verjüngte und über all die Jahre absolut bewährte Institution noch zu sagen ? ... Es besteht kein Zweifel, daß dieses Buch weiterhin eine zentrale Rolle bei Studierenden (und auch Lehrenden) der Zoologie spielen wird. ... Gönnen Sie sich zur Aktualisierung Ihres Wissens diese 23. Auflage. Es lohnt sich!“ \* A W

Wulfert, K.: Rädertiere. Die Neue Brehm-Bücherei. 112 S, mit 40 Abb. und 13 Bildtafeln. A. Ziemsen Verlag, Wittenberg Lutherstadt 1969.

Zach, O.: Histologie für Jedermann. 130 S. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1951

## 6.8 Pilze

- Blumer, S.: Rost- und Brandpilze auf Kulturpflanzen. Ein Bestimmungsbuch für die in Mitteleuropa vorkommenden Arten. 380 S., mit 90 Abb. i. T. VEB G. Fischer Verlag, Jena 1963.
- Börner, H.; Zunke, U.: Praktikum der Phytopathologie. Ein Farbatlas für Studium und Praxis. Mit 124 Farbabbildungen auf 27 Tafeln und 124 Zeichnungen. Pareys Studentexte 75. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg 1992.
- Brandenburger, W.: Parasitische Pilze an Gefäßpflanzen in Europa. 1246 S., 403 Abb. auf 150 Bildtafeln. G. Fischer, Stuttgart 1985. \***
- Cummins, G. B.; Hiratsuka, Y.: Illustrated Genera of Rust Fungi. Revised Edition by The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota/USA 1983.
- Dittrich, H. H.: Bakterien, Hefen, Schimmelpilze. 88 S. mit 46 Zeichn. i. T. u. 23 Abb. auf 4 Kunst-drucktafeln. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1959.**
- Dörfelt, H (Hrsg.): Lexikon der Mykologie. 432 S., 198 Farbfotos auf 40 Tafeln, 217 Zeichn., 17 elektronenmikr. Aufn. 30 Tabellen. Gustav Fischer Verlag Stuttgart 1989. \* A W**
- Ellis, M. B.; Ellis, J. P.: Microfungi on Land Plants. An Identification Handbook. New Enlarged Edition. 868 S., 2208 Abb. auf 213 Bildtafeln. The Richmond Publishing Co. Ltd., Slough/England. 1997. \*
- Erb, B.; Matheis, W.: Pilzmikroskopie. Präparation und Untersuchung von Pilzen. Mit 135 Farbfotos. Franckh-Kosmos, Stuttgart 1983.
- Feige, G. B.; Kremer, B. P.: Flechten — Doppelwesen zwischen us Pilz und Alge. Vorkommen, Lebensweise, Bestimmung. Kosmos-Bibliothek Bd. 302. 72 S. 47 Farbfotos Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1972.
- Flück-Wirth, F.: Mykologie, Phytopathologie. Spezialkatalog No. 8 der Internationalen Buchhandlung für Botanik und Naturwissenschaften. Verzeichnis mit 2680 Arbeiten (Nummern) mit kurzen Inhaltsübersichten, Kommentaren und Sachregister; zuzüglich 4710 Titel- und Stichwort-eintragen. 9053 Teufen, AR/Schweiz, Mai 1988.**
- Follmann, G.: Flechten (Lichenes). ca. 70 . Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1968.
- Gams, H.: Flechten. Kleine Kryptogamenflora. Band III. 244 S. G. Fischer Verlag, Stuttgart 1967.
- Gäumann, E.: Die Pilze. Grundzüge ihrer Entwicklungsgeschichte und Morphologie. Zweite, um-gearb. und erweit. Aufl., 541 S., 610 Abbl i. T. Birkhäuser Verlag, Basel 1964.**
- Gäumann, E.: Die Rostpilze Mitteleuropas – mit besonderer Berücksichtigung der Schweiz. In: Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz. Band XII. 1408 S., 90 Tabellen und 1075 Abb. Kommissionsverlag Buchdruckerei Bächler & Co., Bern 1959. W
- Gäumann, E.: Pflanzliche Infektionslehre. Lehrbuch der allgemeinen Pflanzenpathologie für Biologen, Landwirte, Förster und Pflanzenzüchter. 2. umgearb. Aufl., 681 S., 467 Abbl und 107 Tabellen i. T. Verlag Birkhäuser, Basel 1951.
- Gruber, M.: Flechten-Praktikum. Sonderdruck aus: Mikroskopische Nachrichten der Mikroskopischen Gesellschaft Zürich 1987/2, 3. Broschüre. 36 S.
- Henssen, A.; Jahns, M.: Lichenes. Eine Einführung in die Flechtenkunde. 468 S. 142 Abb. 8 Tab. G. Thieme, Stuttgart 1974.
- Lindau, G.: Kryptogamenflora für Anfänger. Bd. III. Die Flechten. Zweite, durchgearbeitete Auflage. 252 S. mit 305 Figuren i. T. Verlag von Julius Springer, Berlin 1923. Reprint im Verlag Otto Koeltz, Königstein/Ts. 1971.
- Lindau, G.: Kryptogamenflora für Anfänger. Bd. 2.1. Die Mikroskopischen Pilze. Myxomyceten, Phycomyceten und Ascomyceten. 2. Aufl. 222 S., 400 Fig. i. T. Verlag von Julius Springer, Berlin 1922. Bd. 2.2. Die Mikroskopischen Pilze. (Ustilagineen, Uredineen, Fungi imperfecti). 2. Aufl. 302 S., 520 Fig. i. T. Verlag wie oben, Berlin 1922.
- Littlefield, L. J.; Heath, M. C.: Ultrastructure of Rust Fungi. 278 S. Academic Press, Inc. New York 1979.
- Mühle, E.: Brandpilze. Die Neue Brehm-Bücherei, 216. 52 S. 26 Abb. A. Ziemsen Verlag, Wittenberg Lutherstadt 1958.
- Mühle, E.; Breuel, K.: Das Mutterkorn. Die Neue Brehm-Bücherei, 2., erweit. Aufl. 103. 48 S. 28 Abb. A. Ziemsen Verlag, Wittenberg Lutherstadt 1977.

- Mühle, E.; Wetzel, T.; Frauenstein, K.; Fuchs, E.: Praktikum zur Biologie und Diagnostik der Krankheitserreger und Schädlinge unserer Kulturpflanzen. 3. erweit. Aufl., 224 S., 141 Abb. S. Hirzel Verlag, Leipzig 1983. \* A
- Müller, E.; Loeffler, W.: Mykologie. Grundriß für Naturwissenschaftler und Mediziner. 340 S. (Neueste Auflage). Teilweise veraltet. G. Thieme Verlag, Stuttgart. \*
- Nienhaus, F.: Phytopathologisches Praktikum. Versuchsanleitung und Laboratoriumsmethoden für Studium und Praxis. 168 S., 61 Abb. Paul Parey in Berlin und Hamburg 1969.
- Schöller, H. (Hrsg.): Flechten (Lichenes) – Geschichte, Biologie, Systematik, Ökologie, Naturschutz und kulturelle Bedeutung. Kleine Senckenberg-Reihe Nr. 27, 247 S., 166 überwiegend farb. Abb. W. Kramer, Frankfurt a. M. 1997, DM 24,– ---- In den Alpen gibt es sie noch, im übrigen Mitteleuropa sind sie fast rar geworden, zwei Drittel stehen auf der Roten Liste der gefährdeten Pflanzen Deutschlands. Es wird Zeit, daß man sich mit ihnen befaßt. Das interessante und schöne Buch ist im Rahmen einer Sonderausstellung im Naturmuseum Senckenberg entstanden. Verständliche Texte und hochwertige Zeichnungen und Farbfotos führen ein in die Ergebnisse moderner wissenschaftlicher Biologie und zeigen die Flechten als Schönheiten der Natur. Der Schwerpunkt liegt auf ökologischen Fragen und der Darstellung wichtiger Flechten-Lebensräume weltweit. Das Buch spricht jeden an Biologie Interessierten an und ist gleichzeitig eine schöne einführende Fachlektüre für Schüler, Studenten und Mikroskopiker! \* A
- Ullrich, J.: Die mitteleuropäischen Rostpilze der Futter- und Rasengräser. 73 S. Mitteilungen aus der Biolog. Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Heft 175, Juli 1977. Kommissionsverlag Paul Parey, Berlin und Hamburg 1977.

## 6..9 Technische Mikroskopie

**Eschrich, W.: Pulver-Atlas der Drogen des Deutschen Arzneibuches. 5., neubearb. u. erweit. Aufl. 336 S., 842 Abb. auf 164 Bildtafeln. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1988. \* A**

Gilg, E.: Lehrbuch der Pharmakognosie. 370 S. mit 344 Abb. Verlag von Julius Springer, Berlin 1905.

**Gassner, Hohmann, Deutschmann: Mikroskopische Untersuchung pflanzlicher Lebensmittel. 5. Aufl., 414 S., 832 Abb. G. Fischer Verlag, Stuttgart 1989. DM 118,00. ---- Der Titel der dritten Auflage lautete noch: Mikr. Untersuchung pflanzlicher Nahrungs- und Genußmittel. Viele Untersuchungsobjekte, die „der Gassner“ behandelt, lassen sich ohne Mühe im Haushalt beschaffen. Ihre Untersuchung kann zu einem reizvollen Hobby werden. Dabei kann man auch fündig werden: Nicht immer wo xyz draufsteht, ist auch (nur) xyz drin! Ein wertvolles Arbeitsbuch für alle, die sich nicht nur für Pantoffeltiere interessieren. \* A W**

**Haussner, W.: Faseratlas. Das Erkennen der textilen Faserstoffe. 5. Aufl. 86 S. Mit 80 Bildern und 1 Farbtafel. VEB Fachbuchverlag, Leipzig 1962.**

Karsten, G.; Oltmanns, F.: Lehrbuch der Pharmakognosie. 2. vollständig umgearb. Aufl. v. Karstens Lehrbuch. 358 S. mit 512 z. T. farb. Abb. i. T. Verlag von Gustav Fischer, Jena 1909.

Karsten, G.; Weber, U.: Lehrbuch der Pharmakognosie für Hochschulen. 428 S. mit 585 z. T. farb. Abb. i. T. Verlag von Gustav Fischer, Jena 1946.

Koch, L.: Einführung in die mikroskopische Analyse der Drogenpulver. Eine Anleitung zur Untersuchung von Pflanzenpulvern. Zum Selbststudium wie zum Gebrauche in praktischen Kursen der Hochschulen für Apotheker, Großdrogisten, Sanitätsbeamte, Studierende der Pharmacie usw. 176 S. mit 49 Abb. Verlag von Gebrüder Bornträger, Berlin 1906.

Loske, T.: Methoden der Textilmikroskopie. 220 S., Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1974

Massot, W.: Textiltechnische Untersuchungsmethoden. Die Mikroskopie von Textilmaterialien. 98 S. 1913.

Meyer, A.: Die Grundlagen und die Methoden für die mikroskopische Untersuchung von Pflanzenpulvern. Eine Einführung in die wissenschaftl. Methoden der mikroskopischen Untersuchung von Gewürzen, pflanzlichen Arzneimitteln, Futtermitteln, Papieren, Geweben u. s. w. Zum Gebrauche in den Laboratorien der Hochschulen und zum Selbstunterrichte. Für Nahrungsmittelchemiker, Apotheker, Techniker u. s. w. 258 S. mit 8 Tafeln und 18 Fig. im Texte. Verlag von Gustav Fischer, Jena 1901.

Pöschl, V.: Technische Mikroskopie. Ein Lehrbuch der mikroskopischen Warenprüfung. Für Studierende, Techniker, Kaufleute, Industrielle und Zollbeamte. 312 S. mit 296 Abb. i. T. Verlag von Ferdinand Enke, Stuttgart 1927.



## 6.10 Mikroskopische Technik

Becher, S.; Demoll, R.: Einführung in die Mikroskopische Technik für Naturwissenschaftler und Mediziner. 183 S. Verlag von Quelle & Meyer in Leipzig 1913.

**Darlington, C. D.; LaCour, L. F.: Methoden der Chromosomenuntersuchung. 162 S. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1963.**

Dick, J.; Franke, G.: Haarmikroskopie. VEB Fachbuchverlag, Leipzig 1974. A

Chroma-Gesellschaft Schmid & Co.: Ausgewählte Färbemethoden für Botanik, Parasitologie, Zoologie. 87 S. Stuttgart-Untertürkheim 1962.

Eckert, F.: Das Präparieren von Algen. Eine Gesamtdarstellung der Präparationstechnik für alle Süßwasser- und Meeresalgen. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co, Stuttgart 1939,

**Gerlach, D.: Botanische Mikrotechnik. Eine Einführung. 2. überarb. und erweit. Aufl., 312 S. 45 Abb. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1977. ----- Eine „Bibel“. Standardwerk. Sehr verlässlich. Gerlach hat alle Rezepte, die er nennt, selbst ausprobiert. \* A W**

**Göke, G.: Einführung in die Präparation der Diatomeen. 40 S, 9 Abb., Naturwiss. Vereinig. Hagen, 1993**

**Göke, G.: Einführung in das Studium der Radiolarien. 40 S, 18 Abb., Naturwiss. Vereinig. Hagen, 1994**

**Göke, G.: Einführung in das Studium der Foraminiferen. 48 S, 14 Abb., Naturwiss. Vereinig. Hagen, 1996 ----- Wo man sammelt und wann und wie und womit. Was man dann mit dem Material macht und wie und ... In diesen beiden Bändchen beschreibt ein ausgewiesener Fachmann seine eigenen, bewährten Rezepte, die er teilweise seit Jahrzehnten selbst anwendet. Auch wie man besonders schöne Exemplare zu besonders schönen Präparaten verarbeitet, lernt man bei Göke.**

**Gruber, M.: Flechten-Praktikum.** Sonderdruck der Mikroskopischen Nachrichten der Mikroskopischen Gesellschaft Zürich, 1987/2+3.

Günther, H. (W. de Haas) (Hrsg.): Mikroskopie für Jedermann. Hand- und Hilfsbuch für Anfänger und Fortgeschrittene. Mit zahlreichen Anleitungen zur Selbstanfertigung aller Behelfe. 2. vollst. umgearb. Aufl. des Elementarkurs der Mikrologie. 7.-13. Tsd. 240 S. mit 214 Bilder i. T. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1923.

Heckner, F.: Praktikum der mikroskopischen Hämatologie. 3. Aufl. Urban & Schwarzenberg, München 1975.

Heinrich, G.: Fibel der histologischen Technik. 3., überarb. Aufl. mit 15 Abb. i, T. und einer farbigen Tafel. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1962.

Herzog, A.: Mikroskopische Bilder für den Chemiker. Mikroskop-Sonderdruck 68. Carl Zeiss, Jena ca. 1931.

**Johansen, D. A.: Plant Microtechnique. First Edition, Fourth Impression. 524 S. McGraw-Hill Book Company, Inc., New York and London 1940.**

Knoche, H.: Leitfaden der histologischen Technik. 170 S., 39 Abb. und 5 Tafeln. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1979.

**Kremer, B. P.: Das große Kosmos-Buch der Mikroskopie. 320 Seiten, 451 Farbfotos, 17 Schwarzweiß-Fotos, 115 Farb- und SW-Zeichnungen. Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Co., Stuttgart 2002. 39,90 Euro. ISBN 3-440-08989-4. \* A W**

Loske, T.: Methoden der Textilmikroskopie. 220 S. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1964.

Meyer, P.: Einführung in die Mikroskopie. 206 S. mit 28 Textfiguren. Verlag von Julius Springer, Berlin 1914.

**Müller, J.; Melchinger, H.: Methoden der Mikrobiologie. 206 S. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1964.**

Otte, H.-J.: Leitfaden der Medizinischen Mikrobiologie – insbesondere für medizinisch-technische Assistentinnen. 3., neubearb. u. erweit. Aufl. 224 S. mit 32 Abb. i. T. u. 26 Abb. auf Tafeln. G. Fischer Verlag, Stuttgart 1965.

Pöschl, V.: Technische Mikroskopie. Ein Lehrbuch der mikroskopischen Warenprüfung. Für Studierende, Techniker, Kaufleute, Industrielle und Zollbeamte. 310 S. 296 Abb. i. Text. Verlag von Ferdinand Enke, Stuttgart 1927. A

Riech, F.: Mikrotomie. Ein Leitfaden für Arbeitsgemeinschaften und für den Selbstunterricht. Praxis-Schriftenreihe, Abteilung Biologie. Band 1. Aulis Verlag Deubner & Co KG, Köln 1959.

**Romeis, B.: Mikroskopische Technik. 16. neubearbeitete und verbesserte Auflage. R. Oldenbourg Verlag, München 1968. ----- Wo immer man diese Buch findet: sofort zugreifen! Es ist der 17. Aufl. Vorzuziehen. W**

Romeis, B.: Mikroskopische Technik. 17., neubearbeitete Auflage. Herausgegeben von P. Böck. Urban und Schwarzenberg, München 1989. \*

**Schlüter, W.: Mikroskopie. Eine Einführung in die biologische Arbeit mit dem Mikroskop.** Aulis – Deubner & Co, Köln 1976. ----- Präparationsanleitungen, Sammeltips und nützliche Hinweise für mikroskopische Untersuchungen unterschiedlichster Pflanzen und Tiere. Schlechte Papierqualität, schlechter Druck, besonders der Fotos, Darstellung der Technik einseitig (DDR), aber von einem Fachmann mit Liebe geschrieben und gestaltet. Wenn angeboten, sofort zugreifen! A

**Stehli, G., Krauter, D.: Mikroskopie für Jedermann. Methodische Einführung in die Mikroskopie mit praktischen Übungen. 22. Aufl., Kosmos-Franckh, Stuttgart 1973. ----- Manche Autoren der letzten zwanzig Jahre haben gemeint, es viel besser zu können als Stehli. Aber seine Einführung ist noch immer Spitze. A W**

Walter, F.: Das Mikrotom. Leitfaden der Präparationstechnik und des Mikrotomschneidens. 2. Aufl., neu- barb. v. W. Schmitt. Ernst Leitz Wetzlar GmbH, Liste 530-051, IX/81/Fy/B. Wetzlar 1981.

Zbären, D. und J.: Mikroskopieren. Hallwag Taschenbuch Hobby. Hallwag, Bern 1979. Kurz, präzise, anschaulich.

**Zimmermann, A.; Schneider, H.: Die botanische Mikrotechnik. Ein Handbuch der mikroskopischen Arbeitsverfahren.** (= 2., erweit. Aufl. von: Zimmermann, A.: Die botanische Mikrotechnik. Ein Handbuch der mikroskopischen Präparations-, Reaktions- und Tinktionsmethoden. 1892). 460 S. G. Fischer, Jena 1922.

## 6.11 Zeitschriften

MIKROKOSMOS, Urban & Fischer Verlag, Jena. W.

Im Mikrokosmos werden auch regelmäßig neue Bücher oder Neuauflagen besprochen, die für den Mikroskopiker interessant sind.

## 6.12 Benützte Literatur

Der Autor der Mikrofibel hat bei ihrer Zusammenstellung folgende Werke benützt.

- Beyer, H. (Hrsg.) et al.: Handbuch der Mikroskopie. 495 S., 2. Aufl., VEB Verlag Technik, Berlin 1977.
- Ehringhaus-Trapp: Das Mikroskop. Seine wissenschaftlichen Grundlagen und seine Anwendung. 5. Aufl. Neubearbeitet von Dr. Lothar Trapp. B. G. Teubner Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1958.
- Gerlach, D.: Das Lichtmikroskop. Eine Einführung in Funktion, Handhabung und Spezialverfahren für Mediziner und Biologen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1976.
- Gerlach, D.: Die Bildentstehung im Mikroskop. I. Das primäre Beugungsbild. II. Die Entstehung des Zwischenbildes. In: Mikrokosmos 60 (1971) 277-283; 372-379. Der Einfluß des Kondensors auf die mikroskopische Auflösung. In: Mikrokosmos 61 (1972) 212-218.
- Glück, F.: Leistungsfähigkeit und optischer Aufbau des Mikroskops. In: Grundlagen der Lichtmikroskopie im klinischen Labor. Hrsg. v. Jörg Schweizer. In: mta-journal, Extra. Nr. 3. Ohne Verlag und Datum.
- Göke, G.: Die Prüfung von Mikroskopobjektiven mit Test-Diatomeen. Beilage zur Preisliste 1978.
- Göke, G.: Die richtige Einstellung der förderlichen Beleuchtung. In: Mikroskopische Arbeitsgemeinschaft. Veröffentlichung der NWV-Hagen e. V., Heft M 16, Dez. 1997.
- Göke, G.: Prüfung der Bildübertragungsleistung von Mikroskopen. 1. Die chromatischen und monochromatischen Bildfehler. — 2. Das Auflösungsvermögen. In: Mikrokosmos 72 (1983) 182-188 und 247-252.
- Göke, G: Div. Technische Merkblätter und mündliche Mitteilungen.
- Göke, G: Mikroskopie. Broschüre. Selbstverlag, Hagen 1992.
- Göke, G: Moderne Methoden der Lichtmikroskopie. Franckh'sche Verlagshandlung W. Keller & Co., Stuttgart 1988.
- Gundlach, H.: Kontrastierungsverfahren der Durchlichtmikroskopie. In: Grundlagen der Lichtmikroskopie im klinischen Labor. Hrsg. v. Jörg Schweizer. In: mta-journal, Extra. Nr. 3. Ohne Verlag und Datum.
- Hieber, W.: Farberscheinungen an Kristallen und Kieselalgen und ihre Entstehung. In: Mikrokosmos 13 (1919/20), 22-25.
- Hillenkamp, E.: Homepage. Siehe Linksammlung.
- Hustedt, Fr.: Das Studium der Testdiatomeen als Einführung in die mikroskopische Praxis. In: Mikrokosmos 38 (1948/49) 265-269.
- Kapitza, H. G.: Mikroskopieren von Anfang an. Carl Zeiss, Oberkochen 1994.
- Krammer, K.: Kieselalgen. Biologie, Baupläne der Zellwand, Untersuchungsmethoden. 140 S., Stuttgart 1986.
- Lawson, Douglas: Photomicrography. Academic Press, London and New York 1972
- Linkenheld, C.: Homepage. Siehe Linksammlung.
- Michel, K: Die Grundzüge der Theorie des Mikroskops in elementarer Darstellung. 2. neu bearb. Aufl., Wiss. Verlagsges. mbH, Stuttgart 1964.
- Michel, Kurt: Die Mikrophotographie. Dritte Auflage, 736 S., (Band 10 von Wiss. u. angew. Photographie.) Springer-Verlag, Wien 1967.
- Michel, K: Grundzüge der Mikrophotographie. 3. verbess. Aufl., Kommissionsverlag Gustav Fischer, Jena 1949.
- Möllring, F. K.: Mikroskopieren von Anfang an. Carl Zeiss, Oberkochen 1980.
- Möllring, F. K.: Mikroskopbeleuchtung nach Köhler. Ein Beitrag zum Verständnis einer jetzt 100 Jahre alten Methode. In: Mikrokosmos 83 (1994) 109-115.
- Otto, L: Das Mikroskop. 2. erweit. Aufl., Urania-Verlag, Leipzig/Jena 1957.
- Peterfi, T.: Mikrophotographie. In der Reihe: Wissenschaftliche Anwendungen der Photographie. Zweiter Teil. Verlag von Julius Springer, Wien 1933.
- Schild, E: Praktische Mikroskopie. 3. neubearb. u. erweit. Aufl., Verlag f. medizinische Wissenschaften Wilhelm Maudrich, Wien-Bonn 1955.
- Skibbe, O.: Homepage. Siehe Linksammlung.

„μ“. Mitteilungen der Mikrobiologischen Vereinigung München e. V., Nummern 1 bis 25 (1996 bis 2001).