

MIKROKOSMOS

Zeitschrift für angewandte Mikroskopie,
Mikrobiologie, Mikrochemie,
mikroskopische Technik

Herausgegeben von
DR. DIETER KRAUTER

Redaktion: Rainer Gerstle, Dr. Dieter Krauter

72. Jahrgang · 1983

Franckh'sche Verlagshandlung, W. Keller & Co., Stuttgart
Alle Rechte, besonders das Übersetzungsrecht, vorbehalten
Printed in Germany / Imprimé en Allemagne
Druck: Konrad Triltsch, Graphischer Betrieb, Würzburg

bevor sie Anschluß finden, und verschmälern so die primären Strahlen.

Als Ergebnis des sekundären Dickenwachstums entsteht im Fall a) ein durch breite Primärstrahlen aufgelockerter, im Falle b) ein kompakter Holzzylinder mit schmalen Strahlen.

2. Der *Tilia-Linum*-Typ

Von vornherein ist ein fast geschlossener Leitzyylinder vorhanden, der aus dicht zusammengelagerten Blattleithbündeln besteht. Ob, wie vorausgesetzt, auch das Kambium von Anfang an einen geschlossenen Zylinder bildet, sei dahingestellt.

Es scheint, als seien die Unterschiede zwischen den bisher genannten Typen mehr quantitativer als qualitativer Art. Anders verhält sich

3. Der *Ephedra*-Typ

Im Primärzustand sind nur Fascicularkambien vorhanden; bei Beginn des sekundären Dickenwachstums wird ein Interfascicularkambium gebildet, das Leitgewebe hervorbringt. Es entsteht

ein geschlossener Holzkörper mit schmalen Strahlen, an dessen Aufbau keine Blattleithbündel beteiligt sind. Ob jene von DE BARY angeführten beblätterten Arten hierher gehören, sollte untersucht werden.

Literaturhinweise:

BARY, A. DE: Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane der Phanerogamen und Farne. W. Engelmann, Leipzig 1877.

DENFFER, D. VON: Morphologie, in: Lehrbuch der Botanik für Hochschulen („Strasburger“), 31. Aufl. G. Fischer, Stuttgart, New York 1978.

SCHNETTKER, M.: Zum Dickenwachstum bei *Helianthus annuus* L. (Compositae). Bot. Jahrb. Syst. 98 (2), 250–265 (1977).

TROLL, W. u. K. HÖHN: Allgemeine Botanik, 4. Aufl. F. Enke, Stuttgart 1973.

Verfasser: Prof. Dr. Gerhard Jurzitza, Botanisches Institut I der Universität, Kaiserstr. 12, 7500 Karlsruhe

Winke fürs Labor

Walter Neubert

Bau einer Differential-Interferenzkontrast-Einrichtung

Einrichtungen zum Erzielen Differentiellen Interferenzkontrastes sind sehr teuer und deshalb bei Mikroskopikern viel seltener anzutreffen als etwa eine Phasenkontrasteinrichtung. Dabei handelt es sich hier um ein Verfahren zur Kontraststeigerung, das z. B. zur Untersuchung von Einzellern hervorragend geeignet ist. Walter Neubert beschreibt den Selbstbau einer Differential-Interferenzkontrast-Einrichtung; seine Fotografien beweisen überzeugend die erreichte Bildqualität.

Unter Interferenzmikroskopie versteht man ein mikroskopisches Abbildungsverfahren, bei dem eine vom Objekt unabhängige Aufspaltung und Wiedervereinigung des Strahlengangs erfolgt mit dem Ziel, Phasenobjekte kontrastreich darzustellen und die von ihnen hervorgerufenen Gangunterschiede genau zu messen. Diese Aufspaltung und Wiedervereinigung kann sehr unterschiedlich realisiert werden und führt demgemäß auch zu unterschiedlichen Ergebnissen. Hier soll nur

das sogenannte Shearing-Verfahren mit differentieller Bildaufspaltung, und zwar die Interferenzkontrast-Einrichtung nach NOMARSKI vorgestellt werden.

Dieses Verfahren wird als sehr empfindliche Kontrastmethode zur Erzeugung eines Relieffkontrastes verwendet. Die Bildaufspaltung wird sehr klein gewählt und liegt etwa in der Größenordnung der Auflösungsgrenze des Objektives.

Bild 1 zeigt die optische Anordnung. Zwischen den Polarisationsfiltern 1 und 9, deren Polarisationsrichtungen senkrecht aufeinanderstehen (Dunkelstellung), sind die beiden Wollaston-Prismen 2 und 8 angeordnet, wobei deren optische Achsen um 45° gegen die Polarisationsrichtungen der Polarisationsfilter gedreht sind. Das objektivseitige Wollastonprisma 8 ist transversal verstellbar. Dadurch ist es möglich, kontinuierlich zwischen Dunkelfeld, normalem und farbigem Interferenzkontrast einzustellen.

NOMARSKI hat durch eine bestimmte Orientie-

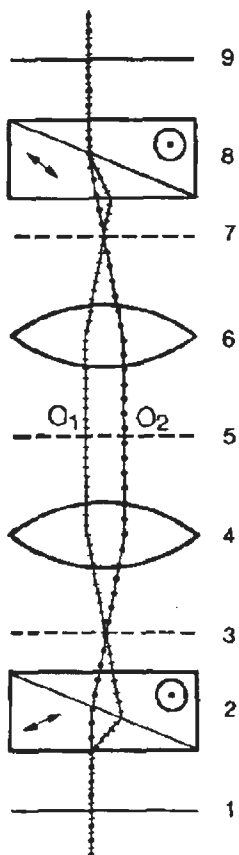


Bild 1: Optisches Schema des Interferenzmikroskopes nach NOMARSKI.
1 Polarisator, 2 und 8 Wollastonprismen, 3 Kondensorblendenebene, 4 Kondensor, 5 Objektebene, 6 Objektiv, 7 Objektivbrennebene, 9 Analysator, O_1 – O_2 Laterale Bildaufspaltung
Zeichnung M. Hamerli.

nung der kristalloptischen Achsen der Einzelprismen die Aufspaltung und Wiedervereinigung des ordentlichen und außerordentlichen Strahls virtuell in die Brennebene des Objektivs 6 gelegt. Es lassen sich daher normale Hellfeldobjektive verwenden. Man benötigt jedoch einen Spezialkondensor, in dem sich die beleuchtungsseitigen Wollastonprismen 2 befinden. Diese Prismen dienen dazu, den mit dem Einfallswinkel der Beleuchtungsapertur sich ändernden Gangunterschied zwischen dem im Wollastonprisma verlaufenden ordentlichen und außerordentlichen Strahl zu kompensieren. Da die Beleuchtungsapertur der Objektivapertur angepaßt sein soll, benötigt man für jedes Objektiv ein besonderes beleuchtungsseitiges Wollastonprisma.

Derartige Interferenzkontrasteinrichtungen sind teuer und übersteigen den Preis eines Kursmikroskopes bei weitem. Für den Amateur kommen daher diese Geräte nicht in Frage.

Dieser Umstand brachte mich auf den Gedanken, mit einem Wollastonprisma zu experimentieren, das an sich zu einer Auflicht-Interferenzkontrast-Einrichtung gehört, die von Olympus für metallurgische Mikroskope angeboten wird. Nach einigen Versuchen und Überlegungen ist es mir gelungen, durch eine einfache Maßnahme einen brauchbaren differentiellen Interferenzkontrast für die Durchlichtmikroskopie zu ver-

wirklichen: Ich ersetzte die beleuchtungsseitigen Wollastonprismen 2 durch exzentrisch angeordnete Spaltblenden, die ich in den Filterhalter des Kondensors einlegte (der ideale Ort für die Spaltblende ist die Blendenebene 3 des Kondensors). Die Bilder 2 und 3 zeigen die relative Zuordnung von Polarisationsrichtung, Spaltblende und Wollastonprisma.

Ordnet man also die Spaltblende so an, daß der Spalt parallel zu dem dunklen Streifen (Bild 3) verläuft, dann sind die Voraussetzungen für die Betrachtung im differentiellen Interferenzkontrast erfüllt. Die exzentrische Lage des Spaltes ist wichtig, denn sie verbessert die Darstellung, weil dadurch das Auflösungsvermögen des Objektivs besser ausgenutzt wird (wie bei schiefer Beleuchtung).

Praktische Ausführung: Das benutzte Wollastonprisma läßt sich mit Hilfe eines dazugehörigen Adapters am Objektivrevolver des Mikroskopes anbringen. Dazu wird der Adapter in das Objektivgewinde eingeschraubt und das Prisma mit der Klemmschraube so am Adapter befestigt, daß sich der Objektivrevolver ungehindert drehen läßt. Zum Schluß wird das Objektiv angeschraubt. Bild 4 zeigt das Prisma mit Adapter und Objektiv, Bild 5 die Montage an einem Kursmikroskop. Zunächst rüsten wir das Mikroskop nur mit dem Prisma für das 40fach vergrößernde Objektiv aus. Dieses Prisma eignet sich nämlich ebenso für die Objektive 10- und 100fach; und wer die Mühe des Objektivwechsels nicht scheut, kann mit einem Wollastonprisma gut auskommen. Auf Bild 5 ist zu sehen, daß der Kondensor mit 2 Filterhaltern ausgestattet ist. Während der untere Filterhalter den Polarisator aufnimmt, wird in den oberen die Spaltblende eingelegt.

Herstellung der Spaltblenden:

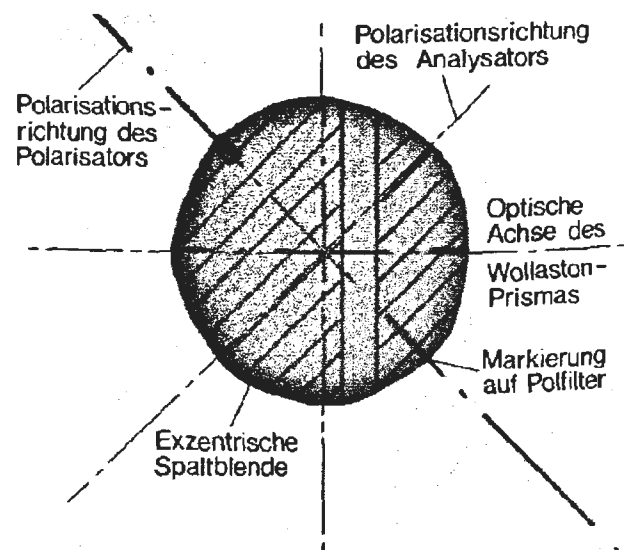


Bild 2: Polfilter mit Spaltblende. Anordnung der optischen Achsen von Wollastonprisma und den beiden Polfiltern.

Bild 3: Blick durch das Wollastonprisma bei richtiger Orientierung der beiden Polfilter gemäß Bild 2. 1 Stellschraube für das Wollastonprisma, 2 Klemmschraube.

Vom Optiker läßt man sich einige Glasscheiben, passend zum Einlegen in den Filterhalter, aus Dia-Gläsern ausschneiden. Die Herstellung der Spalte ist ganz einfach. Man klebt mit schwarzen Tesaflex-Isolierband die Glasscheiben so zu, wie das auf Bild 6 zu sehen ist. Da die Spaltbreite an die Objektivapertur angepaßt sein muß, ergeben sich für die verschiedenen Objektive folgende Spaltbreiten:

Objektiv	numerische Apertur	Spaltbreite
10×	0,25	1,5– 2 mm
40×	0,75	3 – 6 mm
100×	1,3	5 – 10 mm

Steht nur ein Filterhalter am Kondensor zur Verfügung, was der Normalfall sein dürfte, dann empfehle ich, den Spalt gleich auf der Polarisationsfolie anzubringen. Die Orientierung zur Polarisationsrichtung der Folie gemäß Bild 2 ist genau zu beachten. Natürlich braucht man dann drei Polarisatoren für die verschiedenen Spaltbreiten.

Herstellung der Polarisationsfilter:

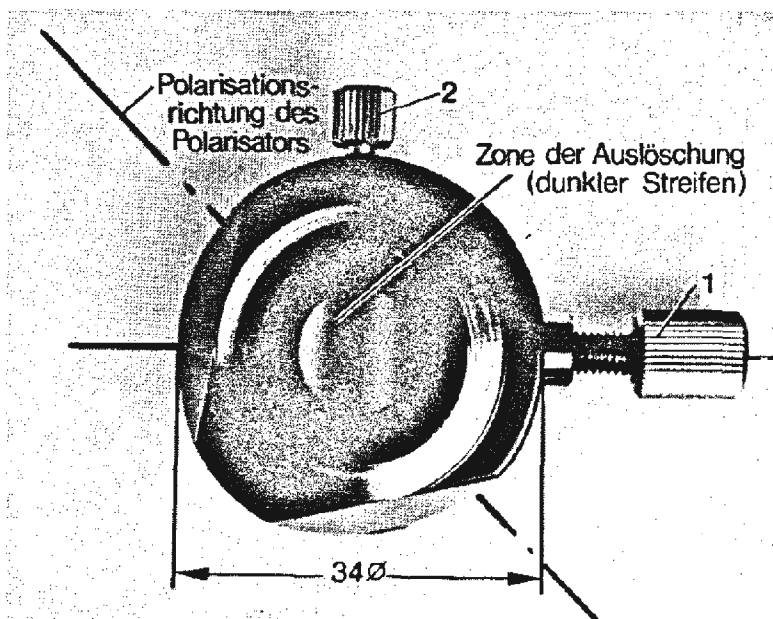
Die benötigten Filter werden preiswert aus Polfilterfolie selbst hergestellt. Am billigsten ist der Bezug im Rohzuschnitt (siehe Bezugsquellen-nachweis 2). Mit einer Schere lassen sich die Folien passend ausschneiden. Das beleuchtungsseitige Filter, Polarisator genannt, wird wie bereits erläutert, gegebenenfalls spaltförmig beklebt und im Filterhalter untergebracht.

Das zweite Polfilter (der Analysator) muß in den Strahlengang gemäß Bild hinter das Wollastonprisma eingesetzt werden. Um einen Eingriff in das Mikroskop zu vermeiden, bietet sich das Okular zur Aufnahme an. In Bild 7 ist dargestellt, an welchen Stellen im Okular das Filter angebracht werden kann.

Bestimmung der Polarisationsrichtung:

Bei käuflichen Filtern ist die Polarisationsrichtung markiert. Es ist leicht möglich, die Polarisationsrichtung selbst festzustellen.

Nach dem Brewstschens Gesetz ist der reflektierte Teil einer elektromagnetischen Welle, die unter einem bestimmten Winkel, dem Brewstschens Winkel, auf eine reflektierende Fläche trifft, total polarisiert. Bezogen auf Lichtwellen und einer Glasoberfläche als Reflektor tritt dieser Fall ein, wenn die von einer Lichtquelle ausgehenden Strahlen unter einem Winkel von 35° auf eine Glasscheibe treffen. Dann sind die unter dem gleichen Winkel reflektierten Strahlen total pola-



riert. Mit Hilfe dieser Anordnung, wie sie in Bild 8 dargestellt ist, ermitteln wir die Polarisationsrichtung unserer Filter.

Man hält das Filter in den Strahlengang und dreht es solange, bis Dunkelstellung erreicht ist. Dann bringt man am Filterrand eine Markierung so an, daß sie eine gedachte Mittelsenkrechte kennzeichnet (Bild 8). In der Dunkelstellung ist die Polarisationsrichtung des Filters also lotrecht zur Glasscheibe orientiert. Bild 9 zeigt die markierten Filter in Dunkelstellung.

Sorgfältiges Arbeiten lohnt sich! Besonders ist darauf zu achten, daß die Filterfolie keine Kratzer bekommt, die sich am oberen Polfilter nachteilig auswirken würden, weil sich das Filter im Strahlengang der Bildentstehung befindet.

Wer bereits über ein Mikroskop mit Polarisations-einrichtung verfügt, braucht nur noch auf die richtige Orientierung der Polarisationsrichtung relativ zum Wollastonprisma, wie bereits

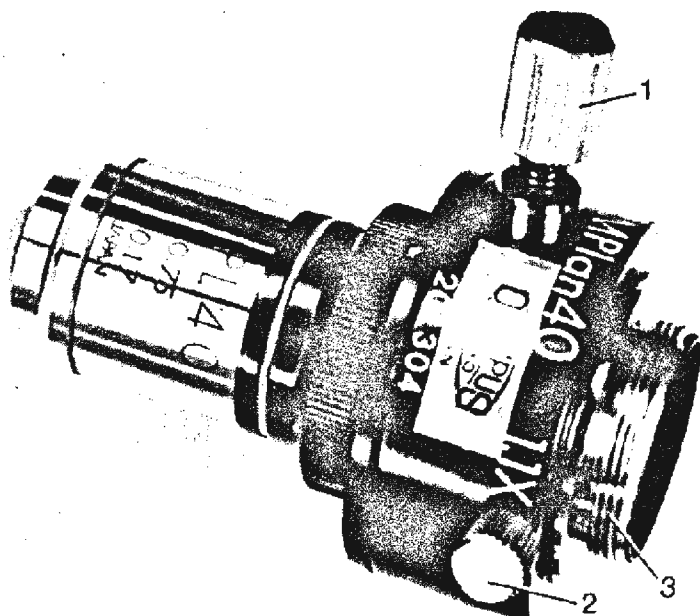


Bild 4: Wollastonprisma mit Gewindeadapter und Okular. 1 Stellschraube, 2 Klemmschraube, 3 Adapter.

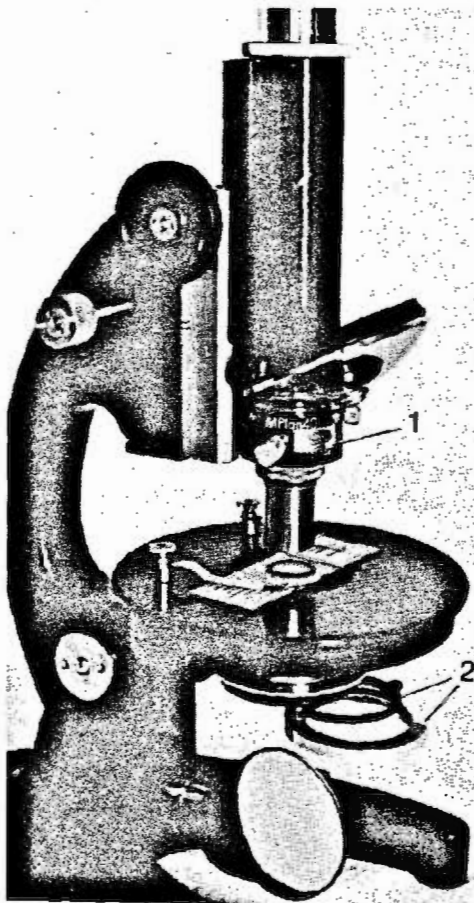


Bild 5: Kurzmikroskop mit montiertem Wollastonprisma und zwei Filterhaltern am Kondensor. 1 Wollastonprisma, 2 Filterhalter 2fach.

Bild 6: Exzentrische Spaltblenden. a für Objektiv 10 $\times$, n. A. 0,25, b für Objektiv 40 $\times$, n. A. 0,75, c für Objektiv 100 $\times$, n. A. 1,3.

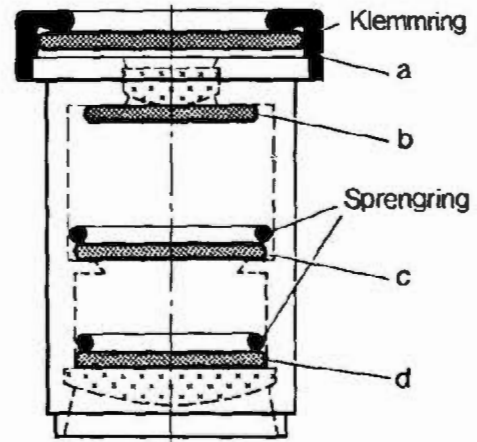
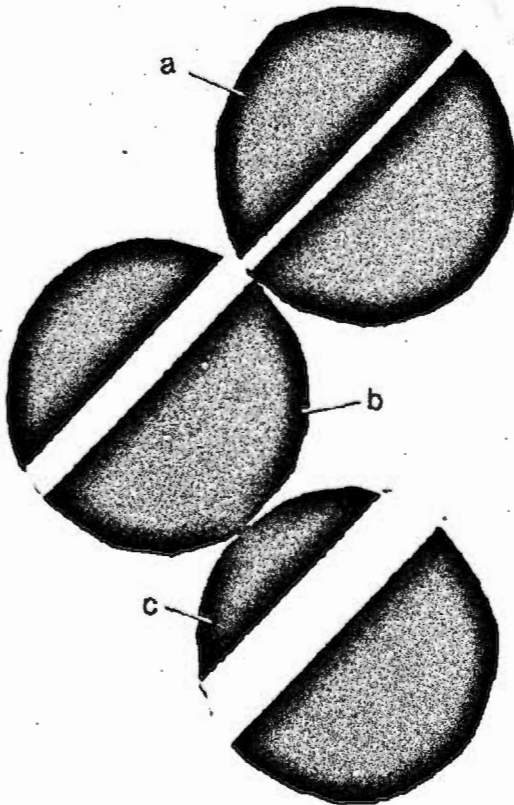


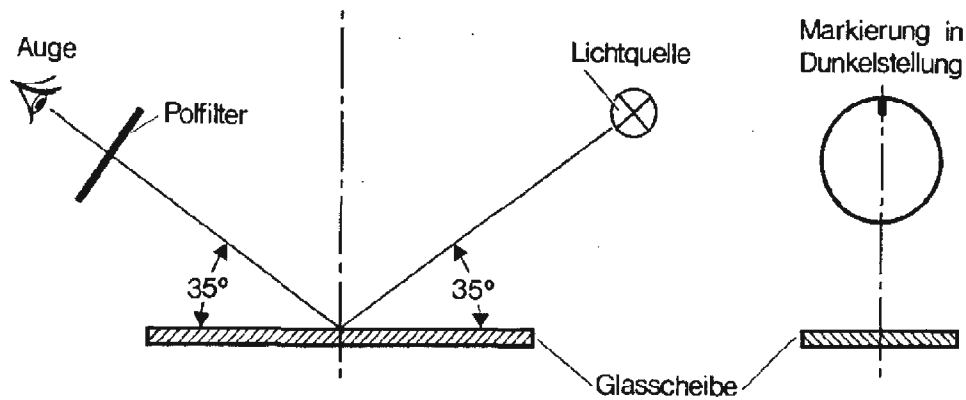
Bild 7: Möglichkeiten der Polfiltermontage am Huygens-Okular. a Außenmontage mit einem Klemmring; b Montage unmittelbar vor der Augenlinse, z. B. durch Ankleben oder mit Hilfe eines Sprenglings; c und d Einlegen des Polfilters auf die Bildblende oder Feldlinse des Okulars und Fixierung des Filters mit Hilfe eines Sprenglings, den man sich selber aus Draht zurechtbiegt. Achtung: Polarisationsrichtung außen am Okular markieren! Zeichnung M. Hamerli.

beschrieben, zu achten. Es kann vorkommen, daß aus mechanischen Gründen das Wollastonprisma in bestimmter Weise montiert werden muß und die richtige Zuordnung zu bereits vorhandenen Polfiltern nicht stimmt. In einem solchen Fall muß man versuchen, die Polfilter entsprechend zu verdrehen. Im Einzelfall sollte geprüft werden, ob sich das Mikroskop für den Einbau des Wollastonprismas eignet, bevor man das Geld dafür ausgibt. Aus den Bildern 3 und 4 sind Aufbau und Größe des verwendeten Wollastonprismas ersichtlich.

Optimale Einstellung der Einrichtung

Nach Zusammenbau und mechanischer Justierung der Spaltblende und der Polfilter wird das Mikroskop auf ein geeignetes Objekt scharf eingestellt. Wenn man Glück hat, sieht man bereits das Bild im differentiellen Interferenzkontrast. Nun entfernt man das Okular und betrachtet die Hinterlinse des Objektivs. Die Blende des Kondensors wird soweit geöffnet, bis die volle Öffnung des Objektivs ausgeleuchtet ist. Die Spaltblende muß so eingelegt sein, daß der Spalt beim Blick auf die Hinterlinse des Objektivs in deren linker Hälfte erscheint, wenn die Stellschraube des Wollastonprismas sich rechts befindet. Außerdem überzeugt man sich, ob der Spalt senkrecht zur Achse der Stellschraube ausgerichtet ist. Okular wieder einsetzen und darauf achten, daß das eingebaute Polfilter sich in der 90° Stellung zum unteren Filter befindet. Stellschraube am Wollastonprisma verdrehen, bis ein Dunkelfeld entsteht (Achtung: je schmaler der Spalt, um so besser ist das Dunkelfeld, aber um

Bild 8: Anordnung zur Bestimmung der Polarisationsrichtung der Polfilter. Zeichnung M. Hamerli.



so geringer ist die Auflösung in Spalttrichtung!). Durch Verdrehen des Okulars auf max. Dunkelstellung bringen. Beide Vorgänge wiederholen, bis optimale Dunkelstellung erreicht ist. Jetzt ist es zweckmäßig, diese Einstellung durch entsprechende Markierungen am Polfilter und Filterhalter sowie am Tubus und Okular zu fixieren, damit die optimale Einstellung schnell und sicher wiederhergestellt werden kann.

Verdreht man nun die Stellschraube im Uhrzeigersinn, dann erhält man die charakteristische kontrastreiche Darstellung, wie sie auf den Aufnahmen zu sehen ist. Beim Drehen der Stellschraube in entgegengesetzter Richtung erfolgt eine Umkehrung des Licht-Schatteneffektes.

Für die Interferenzmikroskopie sind nur Phasenstrukturen geeignet, denn reine Amplitudenob-

jekte löschen das auftreffende Licht entweder vollständig oder teilweise aus, dann ist entweder kein vom Objekt ausgehender Interferenzpartner vorhanden, oder es wird dem Licht kein relativer Gangunterschied erteilt. Differentieller Interferenzkontrast eignet sich daher gut, um Mikroorganismen im Frischpräparat kontrastreich darzustellen. Auf den Bildern 10–13 sind einige Beispiele zu sehen. Bild 14 zeigt ein anderes Objekt, Antheridien auf einem Farn-Vorkeim, in verschiedenen Beleuchtungen.

Mit der vorliegenden Anleitung sollte ein Weg aufgezeigt werden, wie man sich mit relativ einfachen Mitteln dieses Spezialgebiet der Mikroskopie erschließen kann. Die Möglichkeiten, die uns das Wollastonprisma eröffnet, sind damit aber noch nicht erschöpft. Wer einen Auflicht-Il-

Bild 9: Markierte Polfilter in 90 Grad-Stellung.

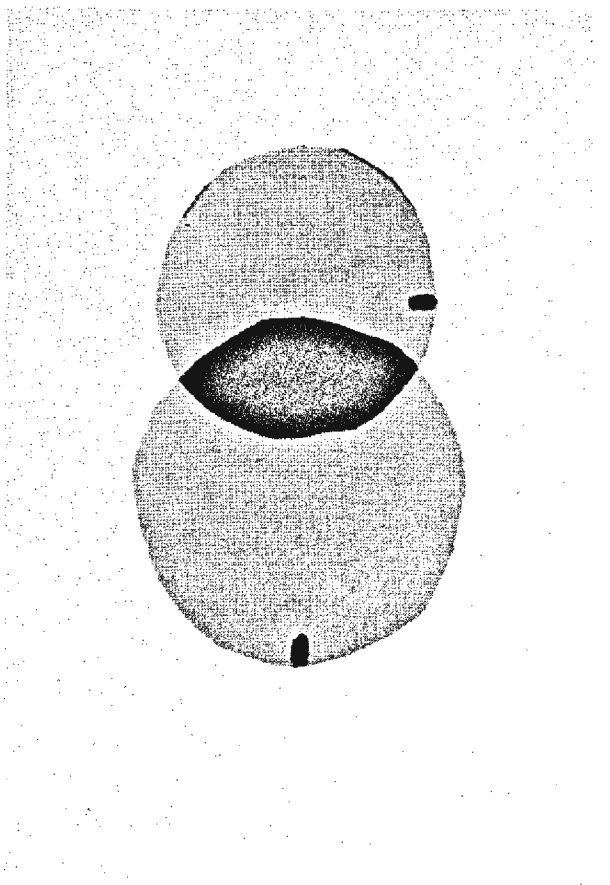
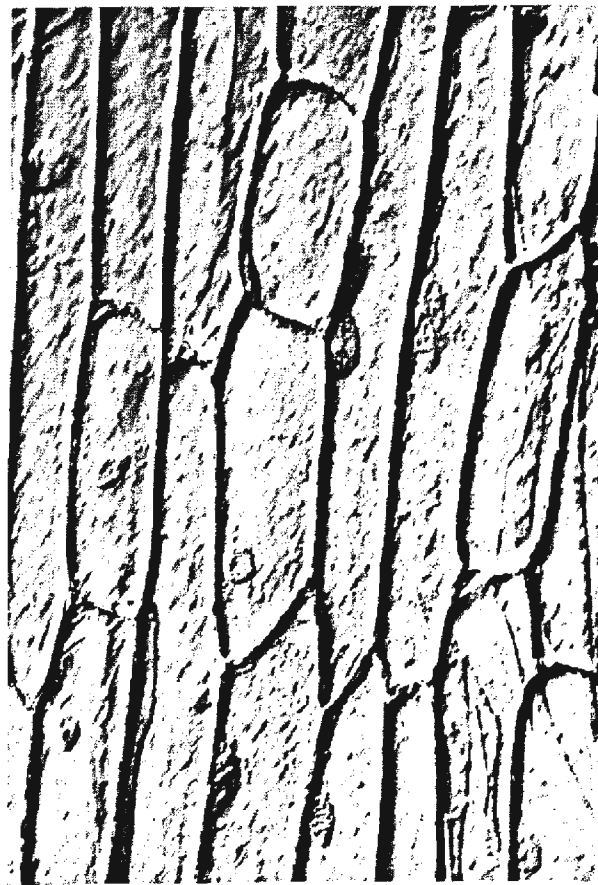


Bild 10: Epidermis der Küchenzwiebel. Planachromat 10×, Selbstbau-Interferenzkontrast. Vergr. 170 : 1.



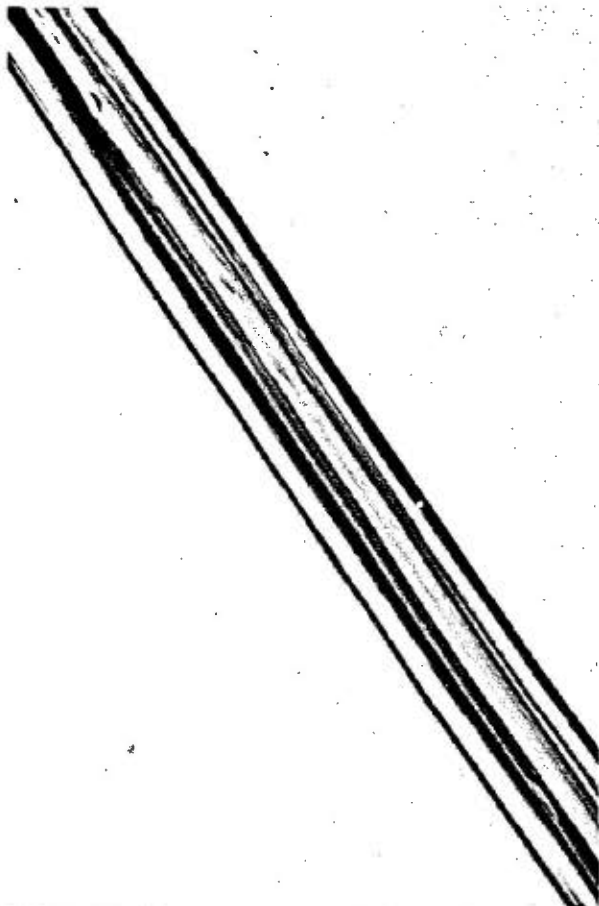
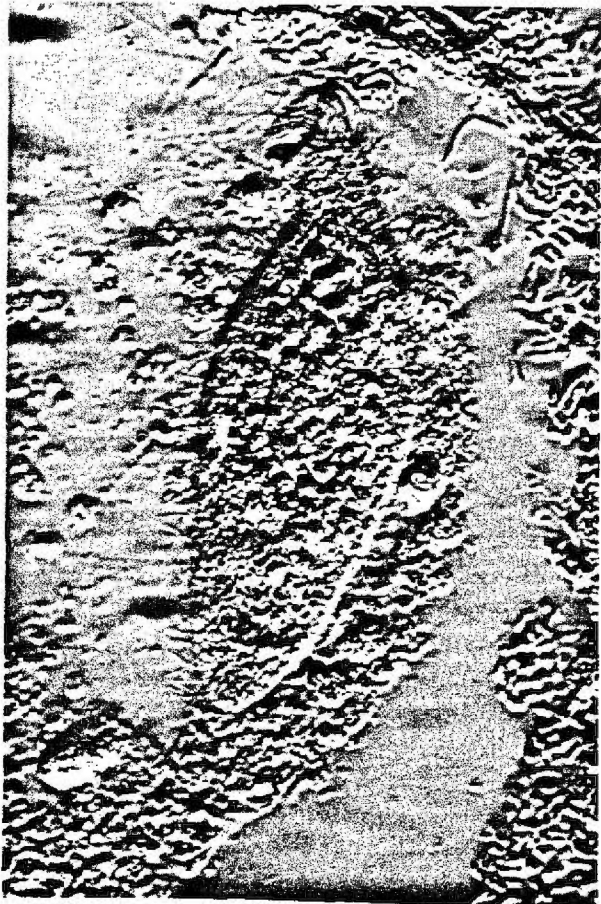


Bild 12: Textilfaser aus Polyamid. Phasenfluorit 40 $\times$, Selbstbau-Interferenzkontrast. Vergr. 700 : 1.

Bild 11: Das Zuckrüsseltierchen *Liontus lamella*, fixiert in Osmiumtetroxid. Phasenfluorit 40 $\times$, Selbstbau-Interferenzkontrast. Vergr. 500 : 1.



luminator besitzt, verfügt mit dem Erwerb des Prismas über eine vollwertige Auflicht-IK-Einrichtung. Das beleuchtungsseitig erforderliche Polfilter läßt sich in der beschriebenen Weise selbst herstellen und richtig einsetzen.

Freunde der Kristallografie können, soweit es sich um mikroskopische Untersuchungen handelt, das Wollastonprisma als Kompensator verwenden, Gangunterschiede messen und Brechzahl oder Dicke der betrachteten Kristallstrukturen bestimmen. Mehr darüber sei einer späteren Arbeit vorbehalten.

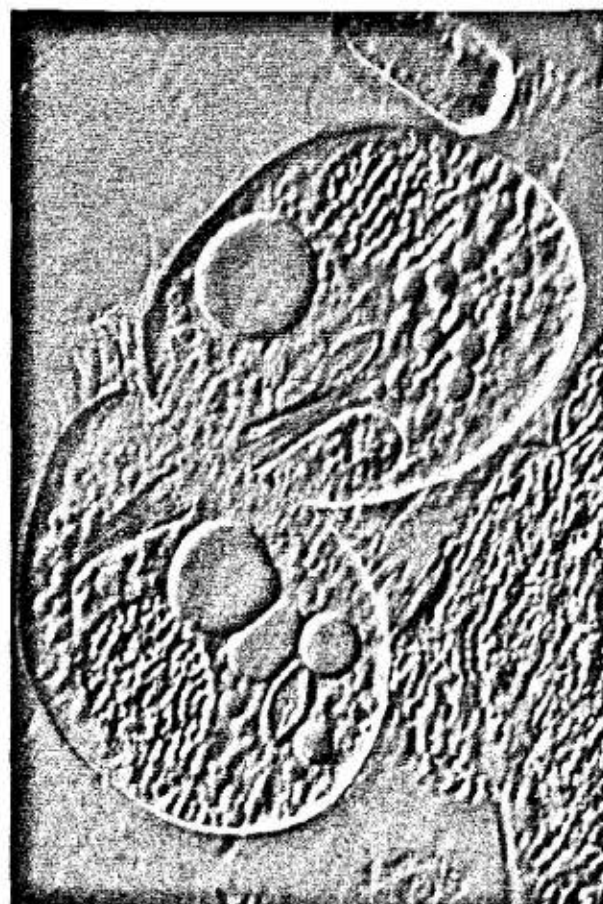
Bezugsquellennachweis:

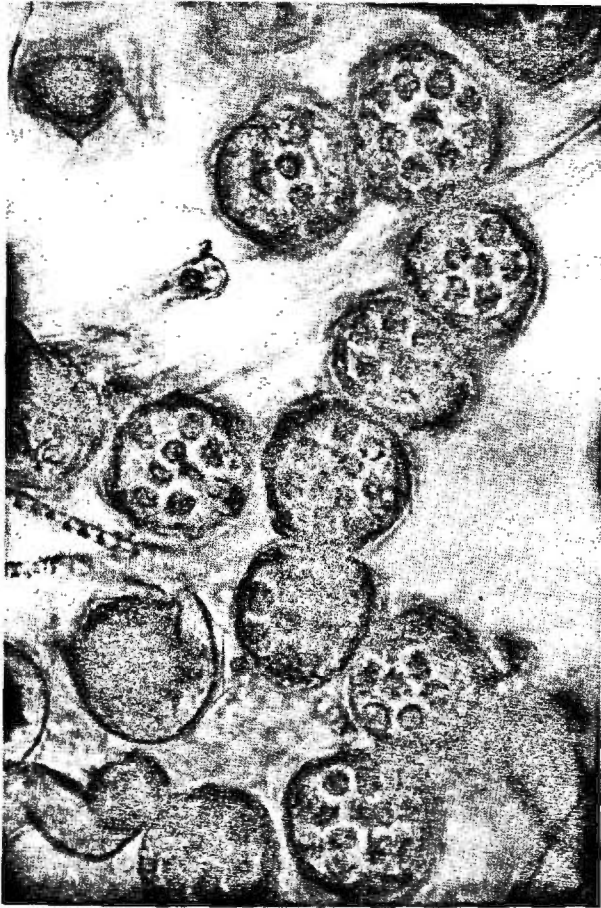
1. *Wollastonprisma*: Zwischenstück mit Wollastonprisma. NIC-M Plan 40 X, Best.-Nr. 32684 von Olympus, zu beziehen über Robra Optik, Bayerstr. 7 8000 München 2. Dazu NIC-HB Gewinde Adapter Best.-Nr. 32686
2. *Polarisationsfolie*: Folie PW 44 0,8 mm quadratischer Zuschnitt, ab 50 $\times$ 50 mm zu beziehen bei Erwin Käsemann, 8203 Oberaudorf. Bei der gleichen Firma können auch fertige Mikroskop-Polfilter bezogen werden.

Literaturhinweis:

BEYER, H.: Handbuch der Mikroskopie, VEB Verlag Technik Berlin

Bild 13: Wimpertier *Chilodonella curvidens* in Konjugation. 2. Kleinkernteilung. Groß- und Kleinkerne sind deutlich, die großen Vakuolen sind bereits Artefakte. Phasenfluorit 100 $\times$, Selbstbau-Interferenzkontrast. Vergr. 1200 : 1.





Verfasser: Walter Neubert, Tassilostr. 1, 8011 Kirchheim/Mü.

Bild 14: Farn-Vorkeim mit Antheridien. Phasenfluorid, 40 $\times$. Oben links: Hellfeld. – Oben rechts: Schieflicht. – Unten links: Phasenkontrast. Vergr. 350 : 1. – Unten rechts: Interferenzkontrast. Vergr. 400 : 1.

