

Die Seite für den Pilzmikroskopiker

17. Folge: Die Ermittlung von Sporenmaßen mit dem Mikroskop

von Hans Dieter Zehfuß

Teil 1 Die Kalibrierung des Mikroskops*

Fügt man in die Bildebene eines Okulars ein Glasplättchen mit einer Skala (eine sog. Okularstrichplatte, oft auch Okularmikrometer genannt) ein, so erhält man ein Messokular. Dabei ist auf äußerste Sauberkeit zu achten. Die Strichplatte muss bei der Betrachtung durch die Augenlinse des Okulars gegen eine weiße Fläche scharf abgebildet werden. Beim Mikroskopieren damit erscheint im Sehfeld des Mikroskops das Bild des Objektes zusammen mit der Skalenteilung auf dem Plättchen. Eigentlich könnte man jetzt sofort die Größe eines mikroskopischen Objekts mit der Anzahl der von ihm unterlegten Skaleneinheiten angeben. Über die tatsächliche Größe des Objektes gibt das jedoch keine Aussage, weil die durch den Strichabstand der Okularstrichplatte festgelegte Länge nicht bekannt ist.

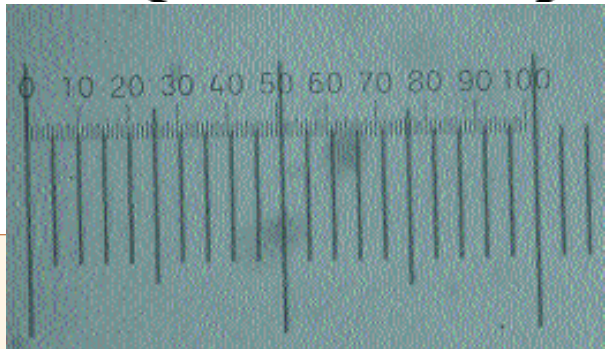
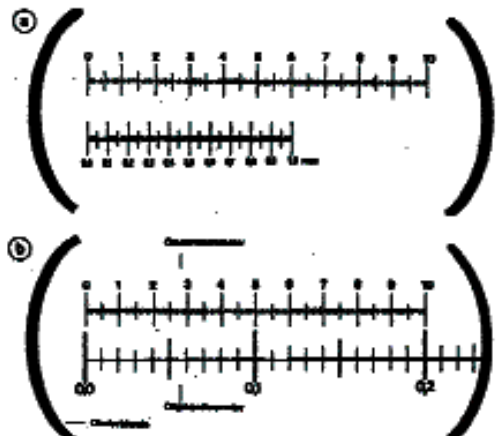
Dies hat seine Ursache darin, dass das mikroskopische Bild vom Objektiv, sofern vorhanden der Tubuslinse (bei binokularen Tuben teilweise auch von der Abstandseinstellung der Okulare), bestimmt wird. Es bedarf daher einer objektivbezogenen Kalibrierung, bei der festgelegt wird, welche Distanz im Objekt in μm oder Mikrometer gerade auf einem Intervall der Okularstrichplatte abgebildet wird. Dieser Wert wird als Mikrometerwert bezeichnet. Er muss für jede Objektiv-Okularkombination speziell ermittelt werden.

Als genau definierte Messstrecke hierfür benutzt man ein Objektmikrometer. Objektmikrometer sind exakte Skalenteilungen auf Glasplatten in der Größe von Objektträgern. In der Regel sind 1 Millimeter in 100 Teile unterteilt; der Abstand zwischen zwei Teilstrichen auf dem Objektmikrometer entspricht also einem hundertstel Millimeter ($10\ \mu\text{m}$).

Stellt man im Mikroskop die Skalen von Objektmikrometer und Okularstrichplatte in der Weise übereinander, dass sich die Anfangsstriche decken, kann man rasch ermitteln wie viele Teilstriche der Okularstrichplatte einem Teilstrich des Objektmikrometers entsprechen. Diese Kalibrierung wird um so genauer ausfallen, je größer die Teilungsabschnitte sind, die man miteinander in Beziehung setzt. Treffen x Teile des Objektmikrometers auf y Teile der Okularstrichplatte, so errechnet sich der Mikrometerwert für die benutzte optische Kombination aus der Rechnung $x : y$.

Zwei Beispiele sollen dies verdeutlichen:

Das Ablesebeispiel a (oben) zeigt, dass 60 Einheiten im Messokular 100 Teilstrichabständen des Objektmikrometers entsprechen. Mikro-



Übereinanderjustierung der Okularstrichplattenskala und der Objektmikrometer-Skala zwecks Festlegung des Mikrometerwertes (siehe Text).

meterwert $60 : 100 \times 10 = 6.0$

Das Ablesebeispiel b unten zeigt, dass 100 Einheiten im Messokular 20 Teilstrichabständen des Objektmikrometers entsprechen. Mikrometerwert $20 : 100 \times 10 = 2.0$

Das Okularmikrometer ist damit kalibriert. Alle im Mikroskop zu ermittelnden Längen werden mit Hilfe des Messokulars in relativen Einheiten gemessen und anschließend mit dem Mikrometerwert in metrische Einheiten umgerechnet. Der Mikrometerwert (auch Faktor genannt) pro Teilstrich ist im oberen Beispiel 6.0 und im unteren 2.0. Daraus geht auch hervor, dass die Objektiv-Messokular-Kombination a eine geringere Vergrößerung liefert wie die in Beispiel b.

Teil 2 Das Messen von Sporen

Zur Ermittlung der Größe einer Pilzspore bugsiert man diese zunächst unter Betätigung des Kreuztisches mit einem Ende unter einen markanten Teilstrich (10-er-Teilstrich) der Skala im Messokular und zählt die Teilstriche bis zu ihrem anderen Ende. Ragt die Spore über diesen noch etwas hinaus, schätze ich die Distanz ab (Viertel- und Drittelschätzungen sind leicht möglich). Der erfasste Wert wird mit dem Mikrometerwert auf die effektive Größe der Spore umgerechnet. Dabei leistet mir ein logarithmischer Rechenschieber gute Dienste.

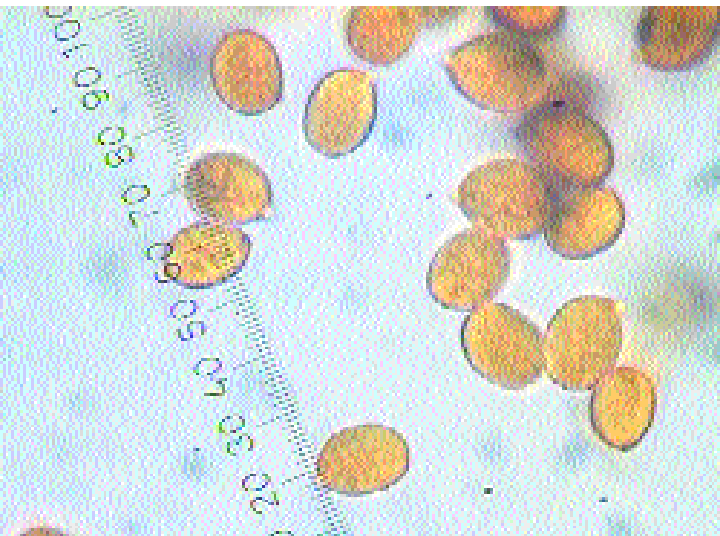
Darüber, wie viele solcher Messvorgänge notwendig sind, um die (exakten) Größenverhältnisse der Sporen einer Pilzart zu ermitteln, gehen die Auffassungen weit auseinander. Manche Mykologen empfehlen bis sechzig und mehr Messungen. Ich habe mich immer mit weit weniger begnügt, zumal man im mikroskopischen Bild

unter der Öl-Immersion sehr gut größere und kleinere Sporen unterscheiden kann. Um 15 Messungen sollten es aber schon sein und auch die Randmaße erfassen. Das (die) ermittelten Sporenmaß(e) notiert man sich so, dass die Randmaße nach unten und oben in Klammern den häufigeren Mittelmaßen beigegeben werden, etwa: (7.5) 8-9.5 (10.5) μm .

Statistischen Aussagen etwa der Art, welcher Prozentsatz der Sporen eines Pilzes in seinen Maßen im unteren Drittel des möglichen Größenspektrums liegt, vermag ich keine größere systematische resp. taxonomische Bedeutung zuzumessen.

Beim Messen von Pilzsporen haben sich bestimmte Gewohnheiten herausgebildet. Diese müssen beachtet werden. So zum Beispiel, dass bei den Schleierlingsarten die Ornamente auf den Sporen mitgemessen werden, bei Milchlingen und Täublingen aber nicht.

Messvorgänge von Sporen können sehr unbefriedigend verlaufen, etwa wenn „Sturm unter dem Deckglas“ herrscht. Dies kann leicht der Fall sein. Etwa wenn sich zu viel Flüssigkeit unter dem Deckglas befindet, wenn eine Luftblase vom Deckglasrand her in Ausbreitung begriffen ist oder wenn im Untersuchungsmedium Luftbläschen eingeschlossen sind, die sich ausdehnen. Gleichzeitig wirkt vom Rand des Deckglases her die Verdunstung, die ein Nachzug von Flüssigkeit nach dahin auslöst. Nimmt man „ziehende Sporenmassen“ wahr, kann man warten, bis etwas von der Untersuchungsflüssigkeit verdunstet ist und die Sporen durch den Druck des Deckglases besser festgehalten werden. Ist zu viel von der Flüssigkeit verdampft, kann die Hinzugabe eines Tropfens am Rand die Verhältnisse wieder stabilisieren, führt aber zunächst zu einem Sporenzug in die Gegenrichtung. Ein Absaug-Versuch mit einem Filterpapierstreifen bewirkt meistens, dass sich die Mehrzahl der Sporen am Deckglasrand anhäufen, wo



Pilz-Sporenpräparat des Gelben Faltenschirmlings (*Leucocoprinus birnbaumii*, metachromatisch) unter dem Messokular.

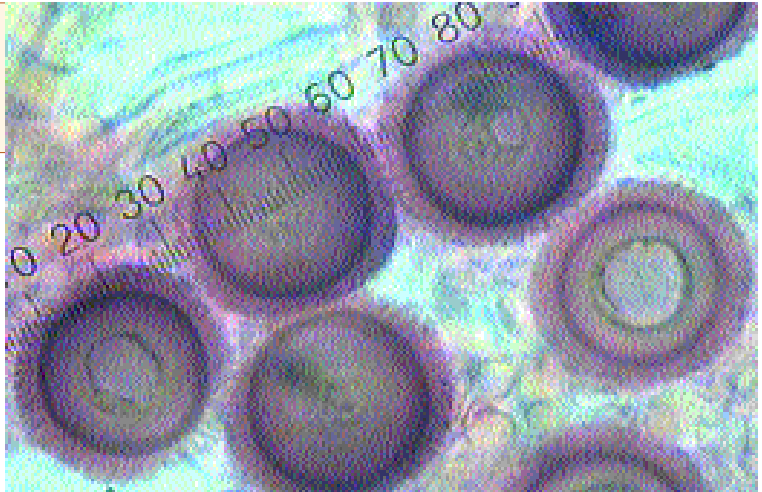
Pilz-Sporenpräparat
der Kleinwarzigen
Hirschtrüffel (*Elaphomyces granulatus*)
unter dem Messokular.

sie unter Ölimmersions-
bedingungen
schwer erreichbar sind.

Hinweis:

Sollten Sie feststellen,
dass die Messleiste oder
das Fadenkreuz im
Messokular unscharf ist
oder die Teilungsstriche
mehrfach erscheinen,
liegt dies an einer Fehl-
justierung der Frontlin-
se des Messokulars im
Verhältnis zum Auge. Messokulare verfügen
meistens über einen Rändelrand, mit welchem
beim Hindurchsehen durch drehen eine Scharf-
stellung der Messleiste o.ä. erfolgen kann.
Siehe hierzu auch ERB/MATHEIS: Pilzmikrosko-
pie, Seite 11-14.

*) Meistens liest man im Zusammenhang mit den
hier behandelten Dingen von einer Eichung des



Mikroskopes. Ein Eichvorgang ist jedoch eine
Handlung die in Deutschland den Staatlichen
Eichämtern vorbehalten ist.

Danksagung

Ich danke meinen Freunden ECKHARD AHNERT
und FRIEDER ENDT, Raschau/Erzgebirge für ihre
Unterstützung bei der Abfassung des Textes und
für die Bereitstellung der Bilder.
wird fortgesetzt